T.C.

YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

İKİ ADIMLI FERMANTASYON İLE ATIK PİRİNÇTEN BİYOBÜTANOL ÜRETİMİ VE EKONOMİK ANALİZİ

Abdullah Bilal ÖZTÜRK

DOKTORA TEZİ

Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı

Kimya Mühendisliği Programı

Danışman

Prof. Dr. Jale GÜLEN

Eş Danışman

Doç. Dr. Tülin ARASOĞLU

Haziran, 2021

T.C.

YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

İKİ ADIMLI FERMANTASYON İLE ATIK PİRİNÇTEN BİYOBÜTANOL ÜRETİMİ VE EKONOMİK ANALİZİ

Abdullah Bilal ÖZTÜRK tarafından hazırlanan tez çalışması 16.06.2021 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı, Kimya Mühendisliği Programı **DOKTORA TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Jale GÜLEN Yıldız Teknik Üniversitesi Danışman	Doç. Dr. Tülin ARASOĞLU Yıldız Teknik Üniversitesi Eş-Danışman

Jüri Üyeleri

Prof. Dr. Jale GÜLEN, Danışman
Yıldız Teknik Üniversitesi _____

Prof. Dr. Nilgün KARATEPE YAVUZ, Üye
İstanbul Teknik Üniversitesi _____

Doç. Dr. Nil ACARALI, Üye
Yıldız Teknik Üniversitesi _____

Prof. Dr. Mehmet MAHRAMANLIOĞLU, Üye
İstanbul Üniversitesi - Cerrahpaşa _____

Doç. Dr. Emel AKYOL, Üye
Yıldız Teknik Üniversitesi _____

Danışmanım Prof. Dr. Jale GÜLEN sorumluluğunda tarafımca hazırlanan İki Adımlı Fermantasyon ile Atık Pirinçten Biyobütanol Üretimi ve Ekonomik Analizi başlıklı çalışmada veri toplama ve veri kullanımında gerekli yasal izinleri aldığımı, diğer kaynaklardan aldığım bilgileri ana metin ve referanslarda eksiksiz gösterdiğimi, araştırma verilerine ve sonuçlarına ilişkin çarpıtma ve/veya sahtecilik yapmadığımı, çalışmam süresince bilimsel araştırma ve etik ilkelerine uygun davrandığımı beyan ederim. Beyanımın aksinin ispatı halinde her türlü yasal sonucu kabul ederim.

Abdullah Bilal ÖZTÜRK

İmza

Bu çalışma, Yıldız Teknik Üniversitesi Bilimsel Araştırma Proje Koordinatörlüğü' nün FBA-2020-3968 numaralı proje, TÜBİTAK 2228-B Yüksek Lisans Öğrencileri için Doktora Burs Programı, TÜBİTAK 2214-A Yurtdışı Doktora Sırası Araştırma Burs Programı ile desteklenmiştir.

TEŞEKKÜR

Öncelikle, lisansüstü eğitimim boyunca desteğini esirgemeyen çok değerli danışmanım Sayın Prof. Dr. Jale Gülen'e,

Bilgi, yönlendirme ve görüşleri ile tüm çalışmalarımda yanımda olan kıymetli eş danışmanım Doç. Dr. Tülin Arasoğlu'na,

Tecrübeleriyle bana her zaman yol gösteren ve her konuda motive eden Dr. Öğretim Üyesi Muhammed Enes Oruç'a,

Moleküler Biyoloji ve Genetik ve Kimya Mühendisliği Bölümlerindeki çok sevgili çalışma arkadaşlarıma ve dostlarıma,

Yüksek lisans ve doktora eğitimi süresince çalışmalarıma maddi destek sunan Öğretim Üyesi Yetiştirme Programı'na,

2228-B Yüksek Lisans Öğrencileri için Doktora Burs Programı ve 2214-A Yurtdışı Doktora Sırası Araştırma Burs Programı kapsamında doktora eğitimime katkıda bulunan TÜBİTAK'a,

Tez çalışmamın bir bölümünü FBA-2020-3968 numaralı proje ile destekleyen Yıldız Teknik Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü Birimi'ne,

Ve son olarak; bu günlere gelmemde bana maddi ve manevi destek olan ve her zaman yanımda olduklarını bildiğim canım anneme, babama ve kardeşlerime sonsuz teşekkür ve sevgilerimi sunarım.

Abdullah Bilal ÖZTÜRK

İÇİNDEKİLER

SİMGE LİSTESİ vii

KISALTMA LİSTESİ viii

ŞEKİL LİSTESİ x

TABLO LİSTESİ xii

ÖZET xv

ABSTRACT xvii

1 GİRİŞ 1

1.1 Literatür Özeti…..……..1

1.2 Tezin Amacı……...……... 3

1.3 Orijinal Katkı……..... 4

2 ASETON-BÜTANOL-ETANOL FERMANTASYONU 6

2.1 Bütanol……..... 6

2.2 Biyobütanol Üretiminin Tarihçesi ve Mevcut Durumu…….…....7

2.3 ABE Fermantasyonu ile Biyobütanol Üretimi……..…8

2.3.1 ABE Fermantasyonunda Kullanılan Mikroorganizmalar……..……12

2.3.2 ABE Fermantasyonunda Kullanılan Karbon Kaynakları……...13

2.3.3 ABE Fermantasyonunda Kullanılan Besiyerleri…….... 17

3 KATI-HAL FERMANTASYONU 19

3.1 Aspergillus oryzae……22

3.2 Katı-hal Fermantasyonunu Etkileyen Parametreler…….……...25

3.2.1 Biyolojik Faktörler……..……..26

3.2.2 Fiziksel Faktörler…….…… 29

3.2.3 Mekanik Faktörler……... 33

4 MATERYAL VE METOT 34

4.1 Mikroorganizmalar ve Ekipmanlar……34

4.1.1 Kültürlerin Çoğaltılması ve Muhafaza Edilmesi……..…34

4.1.2 Kullanılan Ekipmanlar…….....35

4.2 Katı-Hal Fermantasyonu……..36

4.2.1 Şekerlerin Sınıflandırılması ve DNS Yöntemi…….……...37

4.3 ABE Fermantasyonu…….. 38

4.3.1 ABE Fermantasyonu İçin Numunelerin Hazırlanması……39

4.3.2 ABE Fermantasyonu ile Solvent Üretimi……...39

4.3.3 Analiz……..……...40

5 BULGULAR VE TARTIŞMA 42

5.1 Katı-Hal Fermantasyonu…..42

5.2 ABE Fermantasyonu…… 45
5.2.1 Besiyerinin Solvent Üretimine Etkisi…….. 45
5.2.2 pH Değeri ve Karıştırma Hızının Solvent Üretimine Etkisi……..49
5.2.3 Aerobik Şartlar ve Sterilizasyonun Solvent Üretimine Etkisi…….. 51
5.2.4 Başlangıç Şeker Konsantrasyonunun Solvent Üretimine Etkisi…….. 54
5.2.5 Steril Olmayan Koşullarda Solvent Üretim Profili……... 58
5.2.6 Steril Koşullarda Solvent Üretim Profili…… 62

6 TEKNO-EKONOMİK ANALİZ 65

6.1 ABE Tesis Simülasyonu ve Ekonomik Analizi……65
6.1.1 Tüm Tesis Sermaye Maliyeti…… 66
6.1.2 Tüm Tesis Sermaye Maliyeti……...71
6.1.3 ABE Tesisi Gelir Kaynakları……... 72
6.1.4 ABE Üretim Prosesi…… 72

6.2 Ekipman Kullanım Oranının Prosese Etkisi……...76

6.3 Tesis Kapasitesinin Karlılık Analizine Etkileri……80
6.3.1 Senaryo 1…….. 81
6.3.2 Senaryo 2…….. 90
6.3.3 Senaryo 3……96
6.3.4 Senaryo 4…….. 103
6.3.5 Senaryo 5……... 110
6.3.6 Senaryo 6……....116

7 SONUÇ VE ÖNERİLER 129

KAYNAKÇA 139

TEZDEN ÜRETİLMİŞ YAYINLAR 157

SİMGE LİSTESİ

$	Amerikan Doları
dk	Dakika
rpm	Dakikadaki Devir Sayısı
°C	Derece Santigrat
g	Gram
kg	Kilogram
kPa	Kilopascal
kW	Kilowatt
L	Litre
MJ	Megajoule
m^2	Metrekare
m^3	Metreküp
µg	Mikrogram
µm	Mikrometre
mg	Miligram
ml	Mililitre
mm	Milimetre
mm^2	Milimetrekare
nm	Nanometre
OD	Optik Yoğunluk
s	Saniye
%	Yüzde

KISALTMA LİSTESİ

ABE	Aseton-Bütanol-Etanol
ADP	Adenozin Difosfat
ANOVA	Varyans Analizi
AnS	Anaerobik Şeker
ATP	Adenozin Trifosfat
B:A	Bütanol Aseton Oranı
BM	Birleşmiş Milletler
CDA	Czapak Dox Agar
CH_3COCH_3	Aseton
C_2H_5OH	Etanol
C_4H_9OH	Bütanol
$C_6H_{12}O_6$	Glikoz
$(C_6H_{10}O_5)_n$	Nişasta
CoA	Koenzim A
CF	Nakit Akışı
CO	Karbonmonoksit
CO_2	Karbondioksit
DCM	Diklorometan
DNS	Dinitrosalisilik Asit
FAVÖK	Faiz, Amortisman ve Vergi Öncesi Kar
FID	Alev İyonizasyon Dedektörü
FOB	Free on Board
GAP	Gliseraldehit-3-Fosfat
GC	Gaz Kromatografisi
H_2	Hidrojen
H_2O	Su
HCl	Hidroklorik Asit
IRR	İç Karlılık Oranı
KCl	Potasyum Klorür
KH_2PO_4	Mono Potasyum Fosfat

K_2HPO_4	Dipotasyum Fosfat
MBSF	Minimum Bütanol Satış Fiyatı
N	Proje Ömrü
n	Dönem Sayısı
NaCl	Sodyum Klorür
NAD^+	Nikotinamid Adenin Dinükleotit
$NaNO_3$	Sodyum Nitrat
NaOH	Sodyum Hidroksit
$Na_2S_2O_5$	Sodyum Metabisülfit
$(NH_4)_2SO_4$	Amonyum Sülfat
NPV	Net Bugünkü Değer
P	Fosfat
PB	Geri Ödeme Süresi
RCM	Reinforced Clostridial Medium
SSF	Katı-hal Fermantasyonu
TYA	Tryptone Yeast Extract Acetate
UV-Vis	Ultraviyole ve Görünür Işık

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 2.1 Bütanolün kimyasal yöntem ile üretimi....7
Şekil 2.2 ABE fermantasyon prosesi....9
Şekil 2.3 ABE fermantasyonunda faz dönüşümü ve solvent üretimi....9
Şekil 2.4 *Clostridium* için solvent üretim iz yolu....10
Şekil 2.5 ABE fermantasyonunda kullanılabilecek karbon kaynakları....14
Şekil 3.1 *Aspergillus oryzae*'nin katı besiyeri üzerinde büyülmesi ve konidiofor başlığı....24
Şekil 3.2 Katı-hal fermantasyonunu etkileyen parametreler....25
Şekil 4.1 İki adımlı fermantasyon ile atık pirinçten biyobütanol üretimi....34
Şekil 5.1 Katı-hal fermantasyonu ile nişastadan şeker üretim profili; pirincin zamana bağlı nem ve şeker miktarı değişimleri....42
Şekil 5.2 Katı-hal fermantasyonu sonucu şekere dönüştürülen pirinçten zamana bağlı olarak şeker geri kazanım profili....44
Şekil 5.3 Pirinç numunelerinin pirinç tozu ve *A. oryzae* sporları ile katı-hal fermantasyonunun gerçekleştirilmesi....45
Şekil 5.4 Numunelerin aerobik şartlar ve sterilizasyonunun ABE fermantasyonunda solvent üretimine etkileri....52
Şekil 5.5 ABE fermantasyonunda başlangıç indirgenmiş şeker konsantrasyonlarının solvent üretimine etkisi....55
Şekil 5.6 ABE fermantasyonunda indirgenmiş şeker tüketim ve solvent üretim profilleri....59
Şekil 5.7 ABE fermantasyonunda asit üretim ve tüketimi ile pH değişim profilleri....60
Şekil 5.8 ABE fermantasyonunda zamana bağlı olarak şeker tüketimi ve solvent üretkenlik profili....61
Şekil 5.9 ABE fermantasyonunda indirgenmiş şeker tüketim ve solvent üretim profilleri....63
Şekil 6.1 İki adımlı fermantasyon ile bütanol üretim tesisinin proses akım şeması....74
Şekil 6.2 ABE üretim tesisinde kesikli işlem olarak çalıştırılan ekipmanların kullanım grafiği....77
Şekil 6.3 ABE üretim tesisinde kesikli işlem olarak çalıştırılan ekipmanların kullanım grafiği (aşamalı mod)....78

Şekil 6.4 Saatlik 10 ton atık pirinç işleme kapasiteli ABE üretim tesisinin nakit akışları ve başa baş noktası 89

Şekil 6.5 Saatlik 20 ton atık pirinç işleme kapasiteli ABE üretim tesisinin nakit akışları ve başa baş noktası 96

Şekil 6.6 Saatlik 30 ton atık pirinç işleme kapasiteli ABE üretim tesisinin nakit akışları ve başa baş noktası 103

Şekil 6.7 Saatlik 40 ton atık pirinç işleme kapasiteli ABE üretim tesisinin nakit akışları ve başa baş noktası 109

Şekil 6.8 Saatlik 50 ton atık pirinç işleme kapasiteli ABE üretim tesisinin nakit akışları ve başa baş noktası 116

Şekil 6.9 Saatlik 10 ton atık pirinç işleme kapasiteli iyileştirilmiş ABE üretim tesisinin nakit akışları ve başa baş noktası 124

Şekil 6.10 Tesis kapasitesi ve ürün konsantrasyonlarına göre yıllık tesis gider miktarları ve bütanol üretim maliyetleri 124

Şekil 6.11 Birleşik hassaslık analizi ile değişen piyasa şartlarına karşılık minimum bütanol satış fiyatının belirlenmesi 126

Şekil 6.12 Tesis kapasitesine göre kümülatif nakit akışları ve başa baş noktası 127

TABLO LİSTESİ

Tablo 2.1 Bütanol, etanol ve benzinin yakıt karakteristikleri 6

Tablo 5.1 Katı-hal fermantasyonu süresince ölçülen nem ve indirgenmiş şeker miktarları.....43

Tablo 5.2 ABE fermantasyonu ile RCM besiyeri ortamında atık pirinçten solvent üretimi.....46

Tablo 5.3 Elde edilen sonuçların literatürdeki çalışmalar ile kıyaslanması.....47

Tablo 5.4 ABE fermantasyonu ile TYA besiyeri ortamında işlenmiş pirinçten solvent üretimi.....48

Tablo 5.5 Numunelerin başlangıç pH değerinin ve karıştırma hızlarının ABE fermantasyonunda solvent üretimine etkileri.....50

Tablo 5.6 Besiyeri sterilizasyonu ve aerobik şartların *C. acetobutylicum* YM1'in solvent üretim performansına etkisi.....53

Tablo 5.7 Farklı başlangıç indirgenmiş şeker konsantrasyonlarının ABE fermantasyonu sonuçlarına etkisi.....56

Tablo 5.8 Farklı koşullarda gerçekleştirilen ABE fermantasyonları ve solvent üretim miktarları 57

Tablo 5.9 Farklı fermantasyon şartlarında elde edilen genel solvent üretim verimleri 58

Tablo 6.1 Endüstriyel boyutta bütanol üretim tesisi için parametreler.....66

Tablo 6.2 Tesis maliyet kalemlerinin hesaplanması için SuperPro Designer'dan alınan katsayılar 67

Tablo 6.3 Katı-hal fermantasyonu ile nişastadan şeker üretim denkliği 73

Tablo 6.4 ABE fermantasyonu ile eş zamanlı ABE üretimi 75

Tablo 6.5 Saatlik 10 ton atık pirinç işleme kapasiteli ABE üretim tesisi için gerekli ekipman sayıları ve satın alma maliyetleri.....81

Tablo 6.6 Saatlik 10 ton atık pirinç işleme kapasiteli ABE üretim tesisi için toplam sermaye maliyetleri.....83

Tablo 6.7 Saatlik 10 ton atık pirinç işleme kapasiteli ABE üretim tesisi için yıllık tesis giderleri 84

Tablo 6.8 Saatlik 10 ton atık pirinç işleme kapasiteli ABE üretim tesisinin nakit akışı ve karlılık analizi 86

Tablo 6.9 Saatlik 20 ton atık pirinç işleme kapasiteli ABE üretim tesisi için gerekli ekipman sayıları ve satın alma maliyetleri.....90

Tablo 6.10 Saatlik 20 ton atık pirinç işleme kapasiteli ABE üretim tesisi için toplam sermaye maliyetleri.....92

Tablo 6.11 Saatlik 20 ton atık pirinç işleme kapasiteli ABE üretim tesisi için toplam sermaye maliyetleri.....93

Tablo 6.12 Saatlik 20 ton atık pirinç işleme kapasiteli ABE üretim tesisinin nakit akışı ve karlılık analizi 94

Tablo 6.13 Saatlik 30 ton atık pirinç işleme kapasiteli ABE üretim tesisi için gerekli ekipman sayıları ve satın alma maliyetleri.....97

Tablo 6.14 Saatlik 30 ton atık pirinç işleme kapasiteli ABE üretim tesisi için toplam sermaye maliyetleri.....98

Tablo 6.15 Saatlik 30 ton atık pirinç işleme kapasiteli ABE üretim tesisi için yıllık tesis giderleri 100

Tablo 6.16 Saatlik 30 ton atık pirinç işleme kapasiteli ABE üretim tesisinin nakit akışı ve karlılık analizi 101

Tablo 6.17 Saatlik 40 ton atık pirinç işleme kapasiteli ABE üretim tesisi için gerekli ekipman sayıları ve satın alma maliyetleri.....104

Tablo 6.18 Saatlik 40 ton atık pirinç işleme kapasiteli ABE üretim tesisi için toplam sermaye maliyetleri.....105

Tablo 6.19 Saatlik 40 ton atık pirinç işleme kapasiteli ABE üretim tesisi için yıllık tesis giderleri 107

Tablo 6.20 Saatlik 40 ton atık pirinç işleme kapasiteli ABE üretim tesisinin nakit akışı ve karlılık analizi 108

Tablo 6.21 Saatlik 50 ton atık pirinç işleme kapasiteli ABE üretim tesisi için gerekli ekipman sayıları ve satın alma maliyetleri.....110

Tablo 6.22 Saatlik 50 ton atık pirinç işleme kapasiteli ABE üretim tesisi için toplam sermaye maliyetleri.....111

Tablo 6.23 Saatlik 50 ton atık pirinç işleme kapasiteli ABE üretim tesisi için yıllık tesis giderleri 113

Tablo 6.24 Saatlik 50 ton atık pirinç işleme kapasiteli ABE üretim tesisinin nakit akışı ve karlılık analizi 114

Tablo 6.25 Saatlik 10 ton atık pirinç işleme kapasiteli iyileştirilmiş ABE üretim tesisi için gerekli ekipman sayıları ve satın alma maliyetleri 118

Tablo 6.26 Saatlik 10 ton atık pirinç işleme kapasiteli iyileştirilmiş ABE üretim tesisi için toplam sermaye maliyetleri 119

Tablo 6.27 Saatlik 10 ton atık pirinç işleme kapasiteli iyileştirilmiş ABE üretim tesisi için yıllık tesis giderleri 120

Tablo 6.28 Saatlik 10 ton atık pirinç işleme kapasiteli iyileştirilmiş ABE üretim tesisinin nakit akışı ve karlılık analizi.....122

Tablo 6.29 Endüstriyel boyutta tasarlanmış bütanol üretim tesislerinin ham madde birim maliyeti ve bütanol üretim maliyetleri 127

ÖZET

İki Adımlı Fermantasyon ile Atık Pirinçten Biyobütanol Üretimi ve Ekonomik Analizi

Abdullah Bilal ÖZTÜRK

Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı

Doktora Tezi

Danışman: Prof. Dr. Jale GÜLEN

Eş-Danışman: Doç. Dr. Tülin ARASOĞLU

Gıda atıklarından biyoyakıt üretimi, Birleşmiş Milletler (BM) tarafından hedef gösterilen 2050 yılına kadar net sıfır karbon salınımı amacıyla CO_2 emisyonlarını azaltarak gelecekteki düşük karbon toplumuna katkıda bulunmak için umut verici yaklaşımlardan biridir. Biyobütanol üretimi biyolojik yöntem olan aseton-bütanol-etanol (ABE) fermantasyonu ile gerçekleştirilmektedir, *Clostridium*'un anaerobik doğası ve kullanılan ham maddelerin ihtiyaç duyduğu ön işlemler sebebiyle enzim ve anaerobik ortam oluşturma gibi ekstra operasyonel maliyetler ortaya çıkmaktadır.

Bu çalışmada, atık pirinçten iki adımlı fermantasyon ile biyobütanol üretilmiştir. ABE fermantasyonundan önce pirincin sakkarifikasyonu, yukarıda belirtilen enzim maliyeti sınırlamalarını aşmak için katı-hal fermantasyonu ile *Aspergillus oryzae* kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Ayrıca, literatürde ilk kez aerotolerant özellikli yabani tip *C. acetobutylicum* YM1 suşu ile aerobik ve steril olmayan şartlarda ABE fermantasyonu gerçekleştirilmiş ve operasyonel maliyetler düşürülmüştür.

Fermantasyon sonuçları ve temel varsayımlar, iki adımlı biyolojik süreçlerle endüstriyel ölçekli bir ABE üretim tesisi için SuperPro Designer®'a uyarlanmıştır. Enzim ve azot maliyetini ortadan kaldırmanın yanı sıra, bütanol üretim maliyetinin daha da düşürülmesi için proses artıklarından buhar, güç üretimi ve ısı entegrasyonu gibi diğer stratejiler uygulanmıştır. Hem deneysel fermantasyon hem de yazılım simülasyonu sonuçları, enzimatik sakkarifikasyon yerine katı-hal fermantasyonunun uygulanması ve aerobik koşullar altında ABE fermantasyonunun gerçekleştirilmesinin, bütanolün birim fiyatında umut verici bir düşüşle sonuçlandığını göstermektedir. Ayrıca, net bugünkü değer, geri ödeme süresi, iç karlılık oranı gibi bir işletmenin karlılık analizi için gerekli temel ekonomik kavramlar hesaplanmıştır. Son olarak, ABE tesisinin dalgalı biyoyakıt piyasa fiyatları ve çevresel koşullara karşı karlılığını göstermek için hammadde fiyatına, iskonto oranına ve kredi faiz oranına karşılık birleşik duyarlılık analizi gerçekleştirilmiştir. Sonuçlar, endüstriyel ölçekte iki adımlı bir fermantasyon tesisinin nişasta bazlı atıkların bütanol üretiminde verimli bir şekilde değerlendirilmesi için umut verici bir yaklaşım olduğunu göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: Biyobütanol, aseton-bütanol-etanol fermantasyonu, katı-hal fermantasyonu, gıda atığı, tekno-ekonomik değerlendirme

ABSTRACT

Biobutanol Production via Two-Step Fermentation from Waste Rice and Economic Analysis

Abdullah Bilal ÖZTÜRK

Department of Chemical Engineering

Doctor of Philosophy Thesis

Advisor: Prof. Dr. Jale GÜLEN

Co-advisor: Assoc. Prof. Dr. Tülin ARASOĞLU

The production of biofuels from food wastes by aiming the net-zero carbon emission by 2050 pointed by the United Nations (UN) is one of the promising approaches for contributing to the future low-carbon society, mitigating CO_2 emissions. Biobutanol production is carried out by a biological process, called acetone-butanol-ethanol (ABE) fermentation. Due to the anaerobic nature of *Clostridium* and the pretreatment processes required by the raw materials used, some extra operational costs arise such as creating an enzyme and providing the anaerobic environment.

In this study, biobutanol was produced from waste rice by two-step fermentation. Prior to ABE fermentation, the saccharification of rice was performed by *Aspergillus oryzae* via solid-state fermentation (SSF) for circumventing the cost limitations mentioned above. Also, as a first study in the literature, ABE fermentation was performed with aerotolerant wild type *C. acetobutylicum* YM1 strain under aerobic and non-sterile conditions and operational costs were

reduced. Fermentation results and key assumptions were adapted to SuperPro Designer® for an industrial-scale ABE production plant by two-step biological processes. Besides the savings from eliminating enzyme and nitrogen cost, other strategies, steam, power generation from process residue, and heat integration were applied for further reduction in the butanol production cost. Both the experimental fermentation and software simulation results showed that performing SSF instead of enzymatic saccharification and conducting ABE fermentation under aerobic conditions resulted in a promising reduction in the unit price of butanol. In addition, fundamental economic notions required for a company's profitability analysis such as Net Present Value (NPV), Payback Period (PB), Internal Rate of Return (IRR) were calculated. Finally, the conjoint sensitivity analysis was applied to feedstock price, discount rate, and loan interest rate to demonstrate the profitability of the ABE plant against the fluctuated biofuel market prices and environmental conditions. The results showed that an industrial-scale two-step fermentation plant for butanol production from starch-based wastes is promising for eco-efficient evaluation of substrates.

Keywords: Biobutanol, acetone-butanol-ethanol fermentation, solid-state fermentation, food waste, techno-economic evaluation.

1
GİRİŞ

1.1 Literatür Özeti

Artan nüfus ve gelişmekte olan teknoloji ile birlikte geleneksel enerji kaynaklarının kullanımının çevreye olan olumsuz etkileri sebebiyle sürdürülebilir ve çevre dostu enerji kaynaklarının yaygınlaşması konusunda çalışmalar hız kazanmaktadır [1], [2], [3], [4]. Ayrıca sera gazı etkileri ile oluşan küresel ısınmanın önlenmesi, mevcut karbon emisyonlarının baskılanması amacıyla ve Birleşmiş Milletler'in 2050 yılı için hedef gösterdiği "net sıfır karbon salınımı" doğrultusunda biyoyakıt üretimi ve kullanımı endüstrileşmiş devletler için birincil hedef haline gelmektedir [5]. Bu anlamda, fiziksel ve yanma karakteristiklerindeki benzerliği sayesinde günümüzde benzin için çevre dostu bir alternatif olma konusunda en büyük aday olarak gösterilen bütanol, diğer alkol bazlı biyoyakıtlara göre daha üstün özelliklerine sahip olmasının yanı sıra hem kimyasal hem de biyolojik prosesler ile üretilebilmektedir [6], [7], [8].

Bütanolün biyolojik proses ile üretimi fermentatif *Clostridium* türleri tarafından anaerobik bir fermantasyon yöntemi olarak bilinen aseton-bütanol-etanol (ABE) fermantasyonu ile gerçekleşmekte ve diğer yakıtlara kıyasla sahip olduğu üstün özelliklerin bazıları yüksek enerji içeriği, benzine benzer oktan sayısı, düşük korozif özellik ve mevcut motorlarda herhangi bir değişim gereksinimi olmadan benzinle daha yüksek fraksiyonlarda karıştırılabilmesi ya da doğrudan kullanılabilmesi olarak listelenebilmektedir [9], [10]. Fermantasyon yoluyla bütanol üretiminden sorumlu *Clostridium*'un ise zorunlu anaerob olmasının yanı sıra diğer karakteristik özellikleri ise endospor oluşturabilme, Gram pozitif, çubuk morfolojisi, mezofilik yapı ve gaz üretebilmesi olarak bilinmektedir [11]. ABE fermantasyonunda kullanılan başlıca karbon kaynakları ise odunsu ya da lignoselülozik maddeler, nişasta ve şeker içeren endüstri ya da tarım ürünleri atıklarından oluşmaktadır. Ayrıca fermantasyon için kullanılabilecek potansiyel

ham maddeler arasında tarım endüstrisi atıklarına ek olarak gıda atıkları da yer almaktadır [12], [13].

Gıda atıkları; üretim ya da taşıma sırasında yenilebilir gıda miktarında gerçekleşen istemsiz kayıplar ve tüketicinin kasıtlı olarak neden olduğu gıda miktarındaki azalmaların toplamı olarak tanımlanırken, biyoyakıt üretimi için alternatif bir kaynak olarak görülmekte ve atıkların etkin bir biçimde değerlendirilmesi için en uygun yaklaşımlardan biri olarak kabul edilmektedir. Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü (FAO) tarafından sunulan raporda, yenilebilir atıkların toplam gıda miktarındaki payının yaklaşık %30 olduğu ve böylece israf edilen yıllık toplam miktarın 1,3 milyar tona eriştiği belirtilmektedir. Verilen yıllık gıda israfı miktarlarındaki en büyük pay %34 ile tahıllara aitken, bu sayı yalnızca pirinç için yıllık 149,7 milyon tona ulaşmaktadır [14], [15]. Son olarak küresel ölçekte yaşanan salgının da israfı tetiklemesi sebebiyle ve bu miktarların yakın gelecekte artış göstermesi beklenmektedir [16]. Bu anlamda, ulusal hükümetler ve belediyeler yayınladıkları mevzuatlar ile gıda atıklarının azaltılmasını teşvik etmekte ve işleyiciden hanelere kadar her basamakta teşvik ve yaptırımlar ile atıkların gübre, biyoyakıt üretimi ya da daha farklı alanlarda değerlendirilmesini önermektedir [17], [18].

Nişasta bazlı ham maddeler uygun maliyet ve kolay erişilebilirlik sayesinde biyoyakıt üretiminde yaygın şekilde kullanılmaktadır [19]. Ancak, ABE fermantasyonda mevcut sorunlardan olan düşük fermantasyon verimi, ham madde ön işlemi için enzim maliyeti, bütanolün mikroorganizmalara karşı toksik etkisi ve ham madde maliyetine ek olarak; nişastalı atıklardan biyobütanol üretim süreçlerinde karşılaşılan temel sorun *Clostridium*'un nişastayı şekere parçalayacak enzim aktivitelerinde yetersiz seviyede olması sebebiyle düşük solvent konsantrasyonu ile fermantasyonun tamamlanmasıdır [20], [21], [22]. Var olan bu engelin aşılması amacıyla, ticari enzim ile nişastanın ABE fermantasyonu öncesi şekere parçalanması [23], eş kültür yardımı ile eş zamanlı sakkarifikasyon ve solvent üretim işlemi [24] ya da mikroorganizmanın nişastadan verimli şekilde bütanol üretimi için genetik modifikasyon işlemleri üzerinde çalışılan konulardan olmaktadır [25]. Ancak, ticari enzim kullanımının bütanol üretim maliyetini

yaklaşık %6 arttırdığı belirtilmektedir [12]. Bir diğer çalışmada ise saatlik 10 ton gıda atığı işleme kapasiteli şeker şurubu üretim tesisinin glikoamilaz ve sükraz enzim maliyetleri yıllık toplam 5,5 milyon $'a erişmektedir [26]. Diğer taraftan, *Bacillus subtilis* ve *Clostridium butylicum*'un eş kültür olarak kullanıldığı ABE fermantasyonunda elde edilen düşük solvent konsantrasyonunun düşük şeker salınımından kaynaklandığı belirtilmiştir [24]. Ancak, bakteri kültürlerine kıyasla, mantarlar enzim salgılama konusunda daha güçlüdür ve özellikle gıda endüstrisinde nişastanın verimli bir şekilde şekere parçalanması amacıyla katı-hal fermantasyonu ve küfler sıklıkla kullanılmaktadır [27].

Katı-hal fermantasyonu katı yüzeyler üzerinde ve hareketli sıvı fazın olmadığı ortamda gerçekleşen, genellikle nişastayı şekere hidrolize etmek için filamentli mantarların yani küflerin sıklıkla kullanıldığı biyolojik proseslerdendir [28], [29]. Özellikle Asya kıtasında fermente gıda ve içecek üretiminde yaygın şekilde kullanılmakta ve *Aspergillus oryzae* tarafından salgılanan güçlü amilaz ve glikoamilaz enzimleri sayesinde nişasta bazlı besinlerden farklı ürünler üretilmektedir [30], [31]. Bu yönüyle katı-hal fermantasyonu düşük maliyet ve yüksek verimle nişastadan şeker üretimi konusunda önem arz etmektedir.

1.2 Tezin Amacı

Yürütülen tez çalışmasının amacı küresel ölçekte gıda atık miktarlarında önemli bir paya sahip olan atık pirinçten ABE fermantasyonu ile düşük maliyetli biyobütanol üretiminin gerçekleştirilmesidir. Bu amaçla yoğun nişasta içeriğine sahip olan pirinçten verimli şekilde bütanol üretimi için ABE fermantasyonu öncesinde *A. oryzae* eşliğinde katı-hal fermantasyonuyla nişastanın parçalanması ve fermente edilebilir şeker salınımı gerçekleştirilmiştir. İki adımlı fermantasyon işleminin ilk adımı olan bu katı-hal fermantasyonu ardından ABE fermantasyonu ile sakkarifiye edilmiş pirinçten bütanol üretimi gerçekleştirilmiştir. Yürütülen çalışmanın amaçlarını daha özelde incelersek; katı-hal fermantasyonunun prosese dahil edilmesi ile enzim maliyetlerinin ortadan kaldırılması amaçlanmıştır. Ayrıca, ABE fermantasyonunda kullanılan aerotolerant suş *C. acetobutylicum* YM1 ile literatürdeki anaerobik ABE fermantasyonlarından farklı olarak aerobik ortamda

bütanol üretimi gerçekleştirilerek operasyonel maliyetlerde azalma hedeflenmiştir. Ek olarak, proses maliyetlerinde daha da düşüş sağlayabilmek amacıyla steril olmayan şartlarda fermantasyon tamamlanmış ve elde edilen sonuçlar steril numuneler ile kıyaslanmıştır. Önerilen iki adımlı fermantasyon ile bütanol üretiminin laboratuvar ölçekli deney sonuçları prosesin ekonomik yönden incelenmesi, düşük maliyetin teyidi amacıyla SuperPro Designer® kullanılarak endüstriyel boyutta tesis olarak simülasyonu gerçekleştirilmiştir. Elde edilen tesis akım değerleri, birim maliyetler ve ürün satış fiyatları göz önüne alınarak tesis için net bugünkü değer, iç karlılık oranı, geri ödeme süresi, başa baş noktası ve minimum bütanol satış fiyatı gibi temel ekonomik kavramların belirlenmesi, literatürdeki sonuçlar ile kıyaslanması amaçlanmıştır.

1.3 Orijinal Katkı

Bu tez çalışmasında katı-hal fermantasyonu ve ABE fermantasyonundan oluşan iki adımlı fermantasyon sistemi ile atık pirinçten biyobütanol üretimi gerçekleştirilmiştir. Literatürde mevcut nişasta bazlı ham maddelerden bütanol üretim çalışmalarında, nişastanın daha küçük yapıdaki şeker moleküllerine dönüşmesi için enzimatik ön işlem uygulanmaktadır. Gerçekleştirilen bir diğer yaklaşım ise eş zamanlı sakkarifikasyon ve fermantasyon işlemidir. Ancak ilk yöntemde ticari enzimlerin yüksek maliyetleri sebebiyle bütanol üretim maliyetlerinde artışa sebep olmakta, ikinci yöntemde ise sakkarifikasyon aşamasında yeterli miktarda fermente edilebilir şeker üretimi sağlanamadığı için bütanol konsantrasyonları istenilen seviyelere erişememektedir. Yürütülen tez çalışması kapsamında, literatürdeki çalışmalardan farklı olarak ek bir biyoteknolojik proses uygulaması ve küflerin kullanımı ile nişastanın şekere dönüşümü düşük maliyet ve yüksek verimde gerçekleştirilmiştir. Ayrıca, ABE fermantasyonunda kullanılan aerotolerant *C. acetobutylicum* YM1 suşu ile literatürde steril olmayan ve aerobik şartlar altında biyobütanol üretiminin gerçekleştirildiği ilk çalışma olmaktadır. Endüstriyel boyutta üretim maliyetinin düşürülmesi amacıyla yapılan tüm önerilerin ve tesis içi tasarruf tedbirlerinin ekonomik etkilerinin incelenmesi amacıyla endüstriyel boyutta sistem tasarımı

deneysel verilerin kullanımı ile SuperPro Designer®'da gerçekleştirilmiş ve literatürdeki çalışmalar ile kıyaslanmıştır. Tüm bu yönleri ile sunulan tez çalışması özgün bir çalışma olmaktadır.

2
ASETON-BÜTANOL-ETANOL FERMANTASYONU

2.1 Bütanol

Bütanol (n-bütanol), C_4H_9OH formülüne ve 74,12 g/mol molekül ağırlığına sahip, muz benzeri kokusu olan, renksiz, alevlenebilir ve oda sıcaklığında sıvı formda bulunan dört karbonlu bir alkoldür [9], [32], [33], [34]. Kaynama noktası 117,7 °C olan bütanol, alternatif bir biyoyakıt olmasının yanı sıra deterjan, polimer, ilaç, kozmetik ve boya sektörlerinde yaygın şekilde kullanılmaktadır [35], [36].

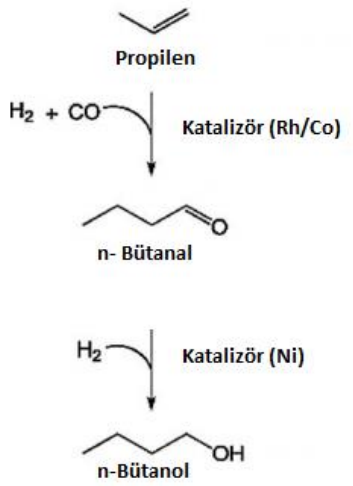
Tablo 2.1 Bütanol, etanol ve benzinin yakıt karakteristikleri

Özellik	**Bütanol**	**Etanol**	**Benzin**
Kimyasal formül	C_4H_9OH	C_2H_5OH	C_4-C_{12}
Enerji yoğunluğu (MJ/L)	26,9	21,4	30-33
Alt ısıl değer (MJ/kg)	33,2	26,8	41-44
Araştırma oktan sayısı	96	110	88-98
Motor oktan sayısı	84	90	80-88
Buharlaşma ısısı (MJ/kg)	0,71	0,92	0,36
Kaynama noktası (°C)	2,2	16	54-103
Reid buhar basıncı (kPa)	117,7	78	27-225
Kinematik viskozite @20 °C (mm^2/s)	3,6	1,5	0,37-0,44
Düşük yanıcılık sınır kons. (%hacim)	1,4	3,3	1,4
Yüksek yanıcılık sınır kons. (%hacim)	11,3	19	7,6
Parlama noktası (°C)	37	13	-43
Tutuşma noktası (°C)	340	363	250-300

Bütanol, biyoyakıt olarak kullanım yönünden etanole kıyasla daha yüksek enerji içeriğine sahip ve benzinin enerji içeriğine daha yakındır. Bu durum mevcut motorların herhangi bir modifikasyona gerek olmadan daha yüksek karışım oranlarında bütanol kullanımına olanak sağlamaktadır [11], [36]. Dört veya daha fazla karbondan oluşan alkoller, düşük karbonlu alkollere kıyasla biyoyakıt olarak kullanım anlamında daha elverişli alternatif oldukları görülmektedir. Bu anlamda bütanol, yüksek oktan ve setan sayılarının yanı sıra, düşük higroskopik özellik sayesinde taşıma ve depolama esnasında herhangi bir olumsuzluğa sebep olmaması yönüyle etanole kıyasla daha uygun bir biyoyakıttır [1], [37]. Tablo 2.1'de bütanol, etanol ve benzinin yakıt karakteristiklerini belirleyen özellikler listelenmiştir [38].

2.2 Biyobütanol Üretiminin Tarihçesi ve Mevcut Durumu

Bütanol geleneksel olarak kimyasal proses ile uygun katalizör ortamında propilenin CO ve H_2 ile reaksiyonu ile üretilmektedir (Şekil 2.1) [2].



Şekil 2.1 Bütanolün kimyasal yöntem ile üretimi

Kimyasal sentez yollarının yanı sıra, bütanol mikrobiyolojik bir proses olan aseton-bütanol-etanol (ABE) fermantasyonu yoluyla da üretilmektedir [10], [39], [40], [41], [42]. Mikroorganizmalar ile biyobütanol üretimi ilk olarak 1861 yılında Fransız mikrobiyolog ve kimyager Louis Pasteur tarafından gerçekleştirilmiştir. 1912 yılında ise Chaim Weizmann nişastadan aseton, bütanol ve etanol üretebilen

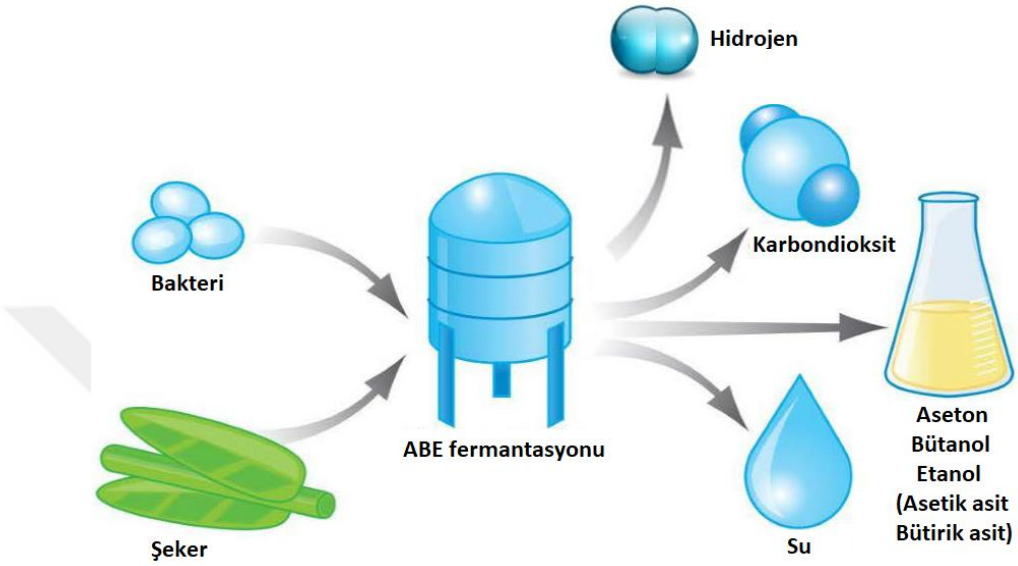
Clostridium acetobutylicum isimli mikroorganizmayı bulmuştur. Birinci Dünya Savaşı döneminde ise bu fermantasyon yolu ile üretilen bütanolden ziyade aseton ile ilgilenilmiş ve bu yolla üretilen aseton kordit (dumansız barut) yapımında kullanılmıştır [3], [4], [43]. Savaş döneminde önemli miktarlarda aseton üretimini başarması ve yaptığı üstün hizmetlere karşılık İsrail'in ilk cumhurbaşkanı olmuştur [44].

Dünya savaşları sırasında önce İngiltere ve Amerika Birleşik Devletleri, daha sonra da Japonya tarafından solvent üretimi için endüstriyel boyutta uygulanan ABE fermantasyonunun 1950'lerden sonra petrokimya endüstrisi ile ekonomik yönden rekabet edememesi üzerine uzun yıllar askıda kalmıştır. Özellikle Avrupa'da, fermantasyon verimi proses ile alakalı güvenirlik sorunları ve gelişen şeker endüstrisinden kaynaklanan atık melasların düşük şeker içeriğine sahip olmasından dolayı düşmüş ve ABE üretim kapasiteleri azalmıştır [45], [46]. Ancak son yıllarda fosil yakıtlara alternatif enerji kaynağı arayışı, sera gazı salınımlarının azaltılması gibi çevreci yaklaşımlar ile uygun kaynaklardan ABE fermantasyonu ile aseton, bütanol ve etanol üretimi tekrar gündeme gelmiştir [3], [4], [43], [47]. Günümüzde, endüstride özellikle kimyasal yöntem ile yıllık 5-6 milyon ton bütanol üretimi gerçekleştiği tahmin edilmekte ve piyasa değeri yaklaşık 8 milyar $'ı bulmaktadır [44]. Üretilen bütanolün yarısı bütil akrilat ve metakrilat esterleri formunda olup bunlar yüzey kaplama, emaye ve vernik gibi işlemlerde kullanılmaktadır [48].

2.3 ABE Fermantasyonu ile Biyobütanol Üretimi

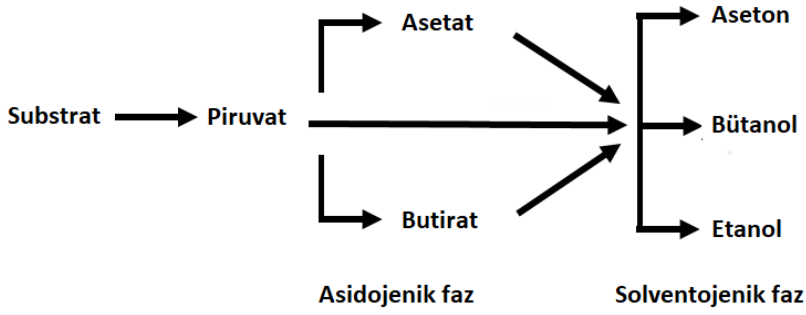
ABE fermantasyonu fermente edebilir *Clostridium* türlerinin selüloz, nişasta ve şeker içerikli atıklardan aseton, bütanol ve etanol ürettiği biyoteknolojik prosestir. Solventler kütlece sırasıyla 3-6-1 oranında üretilmektedir. Günümüze kadar birçok farklı kültür ile ABE fermantasyonu denenmiş ve ürün dağılımı, kullanılan karbon kaynakları, büyüme için kullanılan besi yerleri *Clostridium*'lara göre farklılık göstermiştir [49]. Şekil 2.2'de ABE fermantasyonunun ham madde, kültür ve ürünleri gösterilmektedir [35].

ABE fermantasyonu ile solvent üretimi iki aşamada gerçekleşmektedir. İlk aşama olan asidojenik fazda, yani asit üretim fazında, karbon kaynakları *Clostridium* tarafından parçalanarak asetik asit ve bütirik asit üretimi gerçekleşmektedir. Bu evrede mikroorganizmaların çoğalması logaritmik olarak artmakta ve asit üretimi ile ortam pH'ı düşmektedir.



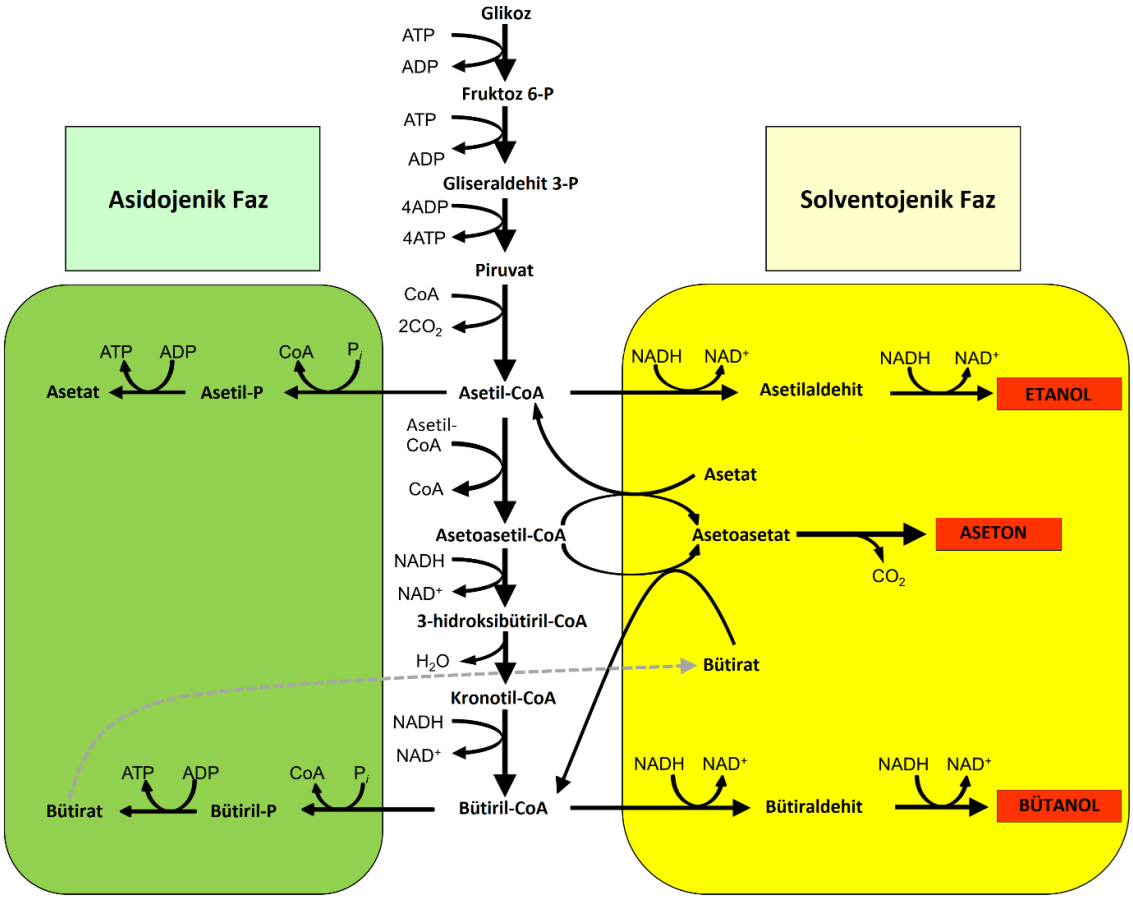
Şekil 2.2 ABE fermantasyon prosesi

Ortamda yeterli miktarda asit üretimi gerçekleştiğinde (pH yaklaşık 4,5 seviyelerine eriştiğinde) mikroorganizmalar sayıca artışları yavaşlamakta ya da durmaktadır. Bu evre bakteriler için durağan faza geçiş aşamasıdır ve ABE fermantasyonu için ikinci aşama olan solventojenik fazın başlamasına sebep olmaktadır [50].



Şekil 2.3 ABE fermantasyonunda faz dönüşümü ve solvent üretimi

İkinci faz olan solvent üretim fazında ise, bakteriler ortamdaki asitleri de ek karbon kaynağı olarak kullanmakta ve aseton-bütanol-etanol üretimi gerçekleşmektedir. Bu aşamada pH tekrar 5 seviyelerine ulaşmaktadır [6], [51]. ABE fermantasyonunda gerçekleşen faz geçişleri ve solvent üretimi Şekil 2.3'te gösterilmektedir [4]. Şekil 2.4'te ABE fermantasyonu ile solvent üretiminin iz yolu gösterilmiştir [36], [54] . Fermentatif *Clostridium* türleri birçok beş ve altı karbonlu monosakkaritleri kullanarak solvent üretme kapasitesine sahiptirler. İçlerinden en verimli kullanılan şeker türü ise glikoz olduğu bilinmektedir [52].



Şekil 2.4 *Clostridium* için solvent üretim iz yolu

ABE fermantasyonunun ilk evresinde kültürler glikoliz evresine başlar ve bir mol glikozdan iki mol piruvat üretmektedirler. Glikoliz işleminin başlatılması için iki mol adenozin trifosfata (ATP) ihtiyaç duyulur ve birer fosfatını vererek adenozin difosfata (ADP) dönüşürler. Glikozun früktoza dönüşümü hekzokinaz ve fosfogliko izomeraz enzimleri ile gerçekleşir ve aktif früktoz bifosfat oluşur. Altı

karbon ve altı fosfatlı molekülden 2 adet gliseraldehit-3-fosfat (GAP) oluşur ve bu esnada fosfofruktokinaz ve fruktobifosfataldolaz enzimleri kullanılmaktadır. GAP ile Nikotin amid dinükleotid (NAD) reaksiyonu sonucunda $NADH_2$ oluşmakta ve GAP içerisinde oluşan bağ boşlukları ise ortamdaki fosfatlar ile bağlanarak üç karbonlu ve iki fosfatlı molekül oluşturmaktadır. Bu esnada toplam 4 ATP ve piruvat açığa çıkmaktadır [53]. Glikoliz sonucu oluşan piruvattan, piruvat ferredoksin oksidoredüktaz enzimi ile CoA varlığında CO_2 ve asetil-CoA oluşmaktadır. Clostridium'lar içerisinde bulunan bu enzim oksijen varlığından oldukça etkilenmekte ve enzim aktivitesinin %50'sini yaklaşık bir saatte kaybetmektedir [54]. Bu yüzden *Clostridium* türleri zorunlu anaerob olarak tanımlanmaktadırlar. Bir sonraki basamakta ise tiyolaz enzimi ile bütirik asit ve bütanolün başlatıcısı olan asetoasetil-CoA iki mol asetil-CoA'dan üretilmektedir [55]. Bu adım, asidojenik fazda üretilen asetat üretim yolu ve solventojenik fazda üretilen etanol üretim yolu ile eş zamanlı gerçekleşmekte ve bu enzim diğer enzimler ile yarışmaktadır. Birçok anaerobik bakteride olduğu gibi *Clostridium* türü de hidrojen üretebilmekte ve bu iyonlar fermantasyon süresince indirgenme yükseltgenme dengesini sağlamaktadır [53].

Asetil-CoA'dan asetik asit üretim yolu bütirik asit üretimine kıyasla iki kat ATP üretebilmekte ve bu durum tiyolaz enziminin ATP üretimindeki önemini göstermektedir. Aynı zamanda tiyolaz enzimi, teorik olarak kütlece 3-6-1 olan aseton-bütanol-etanol üretim oranını da etkilemektedir. Asetil-CoA'dan üretilen asetoasetil-CoA, önce β-hidroksibütiril-CoA dehidrojenaz ile 3-hidroksibütiril-CoA'ya, daha sonra ise enoil-CoA hidrataz enzimi ile kronotil-CoA'ya dönüşmektedir. Son olarak bütirik asit ve bütanol ayrımına gelmeden önce bütiril-CoA dehidrojenaz enzimi ile bütiril-CoA oluşmaktadır [49].

Şekil 2.4'te gösterilen solvent üretim iz yoluna göre aseton üretimi için de başlatıcı asetoasetil-CoA olduğu görülmektedir. Burada CoA transferaz enzimi asetoasetil-CoA'da bulunan CoA'yı ya asetata ya da bütirata taşımaktadır. Oluşan asetoasetat, asetoasetat dekarboksilaz enzimi ile yapısından CO_2 ayrımı gerçekleştirerek aseton üretimini sağlamaktadır. Benzer yollarla oluşan asetil-P ve bütiril-P, asetil-CoA ve bütiril-CoA'dan oluşmaktadır. Bu aşamada kullanılan enzimler ise

fosfotransasetilaz ve fosfotransbütirilaz enzimleridir [35]. Daha sonra oluşan bu asetil-P ve bütiril-P yapıları asetat kinaz ve bütirat kinaz enzimleri ile parçalanarak hem ATP hem de yollarında son ürün olan asetat ve bütiratı oluşturmaktadır. Ayrıca, asetat konsantrasyonu arttıkça asetat kinaz enziminin aktivitesinin azaldığı fakat yüksek miktarlarda bütirat üretimi ile toksik ortam oluşmadıkça bütirat kinaz enzim aktivitesinin sabit kaldığı belirtilmektedir [56].

Diğer taraftan, fermantasyon süresince ortamda bulunan enzimler gözlemlendiğinde ise bu enzimlerin bazı özellikleri dikkat çekmektedir. Fosfotransbütirilaz enziminin aktif olduğu pH aralığı 6-8'dir ve asit üretimleri ile tamamlanmış asidojenik faz sonunda, faz geçişi ile solventojenik fazın başlaması için asitlerin geri alımına ihtiyaç duyulmaktadır. Fakat ikinci fazın başladığı anda ortamda bulunan enzimlerin azaldığı gözlemlenmiştir ve bu da asit tüketiminde sentez boyunca izledikleri yoldan daha farklı yol ile ikinci faza geçiş yaptıklarını göstermektedir [57].

Fermantasyon ortamında birikmiş asit miktarı artıp pH düşmesi ile birlikte ikinci faz olan solventojenik faz başlamaktadır ve bu fazda asetaldehit dehidrojenaz enzimi asetil-CoA'yı, bütiraldehit dehidrojenaz enzimi ise bütiril-CoA'yı parçalayarak asetaldehit ve bütiraldehit oluşturmaktadır. Gerçekte ise tek bir enzim proteininin her iki parçalanma aktivitesinden de sorumlu olduğu düşünülmektedir [58]. Son olarak etanol dehidrojenaz ve bütanol dehidrojenaz enzimleri ile etanol ve bütanol üretimleri gerçekleşmektedir. ABE fermantasyonunda birçok farklı ürünün birbirleri ile eş zamanlı ya da sıralı şekilde üretilmesi sebebiyle basit bir eşitlik ile reaksiyonların listelenmesi güçleşmekte ve fazların ayrı ayrı incelenmesi bu konuda kolaylık sağlamaktadır [36], [59].

2.3.1 ABE Fermantasyonunda Kullanılan Mikroorganizmalar

ABE fermantasyonu ile biyobütanol ve diğer solventlerin üretimi birçok fermentatif *Clostridia* türü ile gerçekleşmektedir [7], [60], [61]. Bunların bazıları ise *C. acetobutylicum*, *C. beijerinckii*, *C. madisonii*, *C. saccharoperbutylacetonicum* ve *C. saccharoacetobutylicum* olarak listelenebilmektedir. Sakkarolitik ve amilolitik özellikleri bulunan ve toprak

bakterisi olan *Clostridium*'lar zorunlu anaerob sınıfındadır ve inert ortamda büyüyüp fermantasyon gerçekleştirmektedirler [62]. Ancak literatürde aerotolerant kültür ile oksijen ortamında bütanol üretiminin gerçekleştiği de gösterilmiştir [11], [63]. Zorunlu anaerob olmasının yanı sıra *Clostridium*'ların diğer karakteristik özellikleri ise Gram pozitif, spor oluşturabilen, çubuk şekle sahip, hareketli ve katalaz negatif olmalarıdır [4], [64], [65].

Solventojenik *Clostridia* türleri birçok şeker kaynağını dönüştürerek solvent üretme kapasitesine sahiptirler. Kültürlerin fermantasyon performansları bakteri suşuna, karbon kaynağına, kullanılan besiyerine ve fermantasyon içi parametrelere (fermantasyon sıcaklığı, başlangıç pH, karıştırma hızı, fermantasyon süresi, inokülasyon oranı, inokülasyon yaşı vb.) bağlı olarak değişmektedir [66], [67], [68], [69].

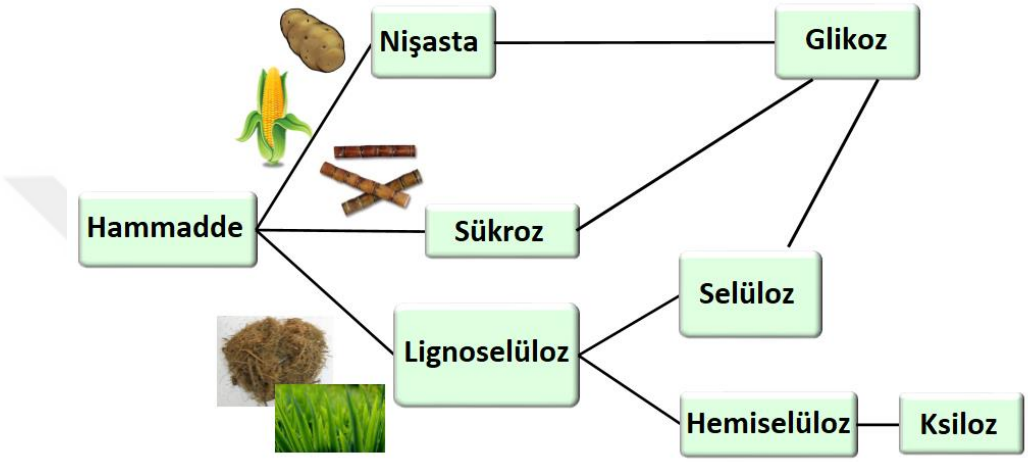
Listelenen *Clostridium* türlerine ek olarak birçok *Clostridium* türünün de solvent üretme kapasitesine sahip olduğu belirtilmiş ancak diğer suşlar kadar etkin olmadığı bilinmektedir [70]. Fermantasyon ortamında bütanol seviyesi bakteri kültürü için toksik seviyelere ulaştığı durumda (%2, ağırlıkça), *Clostridium*'lar stresli ortam şartlarına uyum sağlamak amacıyla spor üretimine başladığı ve mikroorganizmalarda oluşan endospor yapıları sonucu solvent üretiminin sonlandığı belirtilmektedir [71].

2.3.2 ABE Fermantasyonunda Kullanılan Karbon Kaynakları

ABE fermantasyonu ile solvent üretim kapasitesine sahip *Clostridium* türleri salgıladığı enzimler ile basit şekerlerden bütanol üretimi yapabilmektedir. Ayrıca fermantasyon için ham madde kaynağı olarak, fermente edilebilir şekere dönüşebilecek olan tüm maddeler kullanılabilmektedir [48].

Basit şeker yapısında olan, herhangi bir ön işleme gerek duyulmadan bakteriler tarafından solvent üretimi gerçekleştirilebilen ham maddeler melas, şeker pancarı, meyve posaları ve şeker kamışı olarak sıralanabilmektedir [44]. Ancak nişasta ve selüloz içerikli ham maddeler ise fermente edilebilir şeker miktarlarının artması ve fermantasyon veriminin arttırılabilmesi için ön işlemlere gereksinim

duymaktadır [72], [73], [74], [75]. Fermantasyon için kullanılabilecek ham maddeler genel olarak tarımsal atıklar (mısır silajı, buğday ve arpa sapları), meyve posaları ve kabukları, şehir atıkları, gıda endüstrisi atıkları (melas, şilempe), tarım ürünleri (şeker pancarı, şeker kamışı, buğday, mısır, patates) ve odunsu bitkiler olarak listelenebilmektedir. Şekil 2.5'te ABE fermantasyonunda kullanılabilecek olan nişasta, şeker ve selüloz içerikli substratların dönüşüm şeması verilmektedir [35].



Şekil 2.5 ABE fermantasyonunda kullanılabilecek karbon kaynakları

2.3.2.1 Lignoselülozik Ham Maddeler

Selülozik ya da lignoselülozik ham maddeler fermantasyon için kullanılabilecek substratların büyük çoğunluğunu oluşturmaktadır. Lignoselülozik maddeler, biyoyakıt üretiminde sıklıkla kullanılan lignin, selüloz ve hemiselüloz içerikli tarımsal ya da bitkisel atıklardır. Kabuklar, ağaç yaprakları, buğday ve arpa sapları, mısır silajı gibi maddeler lignoselülozik substratlar sınıfında listelenebilmektedir [76], [77], [78]. Lignoselülozik maddelerin bileşiminin büyük bir kısmını oluşturan lignin (yaklaşık %25) doğadaki en karmaşık yapılı polimerdir [79]. Yüksek molekül ağırlığına sahip olan lignin amorf yapıda olması ve suda çözünmemesine karşın, bulunduğu substrata yapısal dayanıklılık, mikrobiyal bozunmaya karşı direnç ve geçirmezlik özellikleri katmaktadır. Kompleks yapısı sayesinde mikrobiyal ve kimyasal bozunmaya karşı oldukça dirençli olan lignin, enzimlerin polisakkaritlere erişimini ve fermente edilebilir

şeker oluşumunu engelleyen bir bariyer görevi görmektedir. Bazı mantarlar dışında çoğu mikroorganizma ligninleri parçalayabilecek enzimlere sahip değildir ve lignin uzaklaştırması için ön işleme ihtiyaç duyulmaktadır [80]. Lignin yapısının parçalanması ve uzaklaştırılması için yapılan başlıca işlemler ise kimyasal ön işlem (asidik ya da bazik muamele), buhar ile patlatma ya da vakum uygulamalarıdır [80]. Ayrıca, protik iyonik sıvılar ile seçici lignin uzaklaştırma işlemleri de üzerinde çalışılan konulardandır [81]. Yapılan bu ön işlemlerin lignini parçalama ya da selülozik yapının zarar görerek daha verimli hidrolizi ile fermente edilebilir şeker üretiminin arttırılmasını sağlama gibi olumlu etkileri olmasına karşılık, ön işlem sonucunda mikroorganizmaların büyümesini ya da fermantasyon verimini düşürecek birçok toksik bileşik ya da fermantasyon inhibitörü meydana gelmektedir [80].

Selüloz direkt olarak kısıtlı sayıda bakteri ve mantar tarafından tüketilebilmekte, fakat geri kalan çoğunluk mikroorganizmada ise selülozu parçalayarak heksoz ve pentoz oluşturabilecek bir enzim mevcut olmamaktadır. Bu engeli aşmak için, lignoselülozik maddelerin önce fiziksel işlem ile partikül boyutu düşürülerek yüzey alanlarının artması sağlanmakta ve bu sayede enzimlerin ya da kimyasalların penetrasyon kabiliyeti artmaktadır. Daha sonra ise fermente edilebilir şeker üretimi için kimyasal ya da biyolojik (uygun mikroorganizmalar yardımı ile) dönüşüm gerçekleşmektedir. Bu süreçte seçilen yol, ön işlem maliyeti, gerekli enerji ya da inhibitör oluşturma ihtimallerine göre belirlenmektedir [79], [80], [81], [82]. *C. acetobutylicum*'un selüloz parçalayan enzimlerden olan selülozom enzimine sahip olduğu fakat aktivitesinin çok düşük olduğu için son ürün konsantrasyonunun düşük olduğu belirtilmektedir [83]. *C. cellulolyticum*'un ise selülozu parçalayabilen bir bakteri olduğu bilinmekte ve selülozik ham maddelerden herhangi bir ön işleme gerek duyulmadan ABE fermantasyonu ile solvent üretiminin gerçekleştirilmesi amacıyla metabolik kültür modifikasyonları çalışmaları sürdürülmekte fakat elde edilen son bütanol konsantrasyonu istenilen seviyelere ulaşamamaktadır [84].

Lignoselülozik maddelerin ön işlem sonucunda lignin uzaklaştırılması ile birlikte selülozun glikoza, hemiselülozun ise ksiloza (odun şekeri) dönüşme işlemleri de

gerçekleşmektedir. Selüloz ve hemiselülozun substrat yapısına göre değişkenlik göstermekle birlikte, yapının sırasıyla yaklaşık %25-55 ve %25-50'sini oluşturmaktadır [82]. Selüloz, susuz D-glikoz yapılarının lineer şekilde birbirlerine β-(1 4)-glikozidik bağ ile bağlanmasıyla oluşmakta ve parçalandıktan sonra su ile birleşerek D-glikoz oluşturmaktadır. Benzer şekilde hemiselüloz da ksilozu oluşturmaktadır. Bu yüzden selüloz ve hemiselülozun oluşturabileceği potansiyel şeker miktarları selüloz için 1,11'le, hemiselüloz için ise 1,14 katsayıları ile çarpılarak hesaplanmaktadır [85].

2.3.2.2 Nişasta İçerikli Ham Maddeler

ABE fermantasyonu ile bütanol üretiminde birim ürün maliyetinin büyük çoğunluğunu ham madde maliyeti oluşturmaktadır [12]. Bu yüzden nişasta içerikli ham maddeler kolay ulaşılabilirlik, düşük maliyet ve yüksek miktar sayesinde ABE fermantasyonu için uygun bir ham madde olarak öne çıkmaktadır [19]. Bu ham maddeler mısır, buğday, patates, pirinç gibi tarım ürünleri olabileceği gibi yiyecek artıkları ya da katı atıklar da olabilmektedir. Nişasta uzun zincirli yapıya sahip olduğu için kimyasal formül olarak $(C_6H_{10}O_5)_n$ ile gösterilmekte ve genel olarak amiloz ve amilopektinlerin birbirine bağlanması ile oluşan kompleks yapıdaki karbonhidrattır [19], [86].

Fermentatif *Clostridium*'ların nişasta parçalayabilecek amilaz enzimlere sahip olduğu için ABE fermantasyonu öncesi herhangi bir ön işleme gerek olmadığı belirtilmektedir [87]. Fakat amilaz aktivitesinin yetersiz seviyelerde olduğu durumlarda ise bakterilerin çoğalmasının ve fermantasyon ürün konsantrasyonlarının istenilen seviyelere erişemediği bilinmektedir. Bu amaçla fermantasyon öncesinde enzimatik hidroliz ile fermantasyon işlemine geçilmesi [22], [73], [88], iki ayrı bakteri kültürü ile eş zamanlı olarak nişastanın parçalanmasıyla ABE üretimi [24] ve son olarak da eş zamanlı sakkarifikasyonla ABE üretimi [72], [89], [90] çalışmaları da gerçekleştirilmektedir. Elde edilen sonuçlara göre enzim kullanımının, düşük amilaz aktiviteli *Clostridium* ile sakkarifikasyon işleminin gerçekleştirilmesine göre daha verimli olduğu, bütanol

konsantrasyonunun daha yüksek seviyelere eriştiği ve kullanılması gereken ham madde miktarının azaldığı görülmüştür.

2.3.2.3 Şeker İçerikli Ham Maddeler

Fermentatif *Clostridium* türleri heksoz ve pentoz şekerleri herhangi bir ön işleme ihtiyaç duymadan doğrudan aseton, bütanol ve etanole dönüştürme kapasitesine sahiptirler. ABE fermantasyonu için kullanılan ya da kullanılabilecek başlıca şeker kaynakları ise şeker kamışı, şeker pancarı, melas, şilempe ve tatlı sorgum (şeker sorgumu) gibi bitkisel kaynaklar ve onların atıklarıdır. Bunlara ek olarak ise meyve posaları, şeker içerikli yemek artıkları da potansiyel bütanol üretim kaynağı olarak listelenebilmektedir [33], [34], [35], [36].

Yapılan çalışmalarda, asidojenik ve solventojenik fazlardan oluşan ABE fermantasyonunda, kültürlerin solvent üretimine başlayabilmesi için 10 g/L glikozdan daha fazla ihtiyaç duyulduğu belirtilmekte, aksi durumda faz geçişi için gerekli asit miktarına ulaşılamadığı için solvent üretimi gerçekleşememektedir [91]. Şeker konsantrasyonunun optimum değerden yüksek değerlere çıktığında ise fermantasyon veriminin düştüğü, bütanol konsantrasyonunun azaldığı görülmektedir [91]. Kültürler için optimum başlangıç şeker konsantrasyonu suşlara, besi yerlerine ve ham madde kaynağına bağlı olarak değişmektedir. Yapılan bir çalışmada karbon kaynağı 40 g/L'den 50 g/L'ye yükseldiğinde üretilen bütanol konsantrasyonunun %10 azaldığı belirtilmektedir [24]. Literatürdeki çalışmalar optimum başlangıç şeker miktarının 50-60 g/L seviyelerinde olduğu sonucuna varmaktayken, optimum şeker konsantrasyonunun 70 g/L olarak belirlendiği bir diğer çalışmada ise 8,17 g/L bütanol 13,68 g/L toplam ABE üretildiği belirtilmiştir [92]. Bu durum, suşlar için şeker kaynağı ve fermantasyon şartlarına göre substrat miktarının değişkenlik gösterdiğini açıkça ortaya koymaktadır.

2.3.3 ABE Fermantasyonunda Kullanılan Besiyerleri

ABE fermantasyonu ile bütanol üretimi çalışmalarında fermantasyonun yeterince çoğalmış ve aktif yapıdaki kültürler ile gerçekleştirilmesi için ihtiyaç duyulan besin

maddelerini içeren besi yerleri kullanılmaktadır. Bunlar genel olarak gerekli azot ve karbon kaynaklarını içermekte, bunlara ilaveten pH düzenlenmesinde, fermantasyon faz geçişlerinde etkin olan tuzlar, vitamin ve mineralleri içermektedir. Reinforced Clostridial Medium (RCM) besiyeri *Clostridium* ile bütanol üretimi çalışmalarında en çok kullanılan besiyeridir. RCM, 10 g/L pepton, 10 g/L et ekstraktı, 3 g/L maya ekstraktı, 5 g/L sodyum klorür, 0,5 g/L sistein HCl, 3 g/l sodyum asetat ve 0,5 g/L agardan oluşmaktadır [7], [60], [93]. RCM ile yapılan çalışmalarda *C. acetobutylicum* ve *C. beijerinckii* suşları yaygın şekilde kullanılmakta ve fermantasyon 37 °C'de gerçekleştirilmektedir.

Solvent üretim araştırmalarında kullanılan bir diğer besiyeri ise tryptone yeast extract acetate (TYA) besiyeridir. Çoğunlukla 30 °C'de gerçekleştirilen ve *C. acetobutylicum* türlerinde kullanılan TYA besiyeri 6 g/L tripton, 2 g/L maya ekstraktı, 3 g/L $C_2H_7NO_2$, 0,5 g/L KH_2PO_4, 0,3 g/L $MgSO_4.7H_2O$ ve 0,01 g/L $FeSO_4.7H_2O$ kimyasallarından oluşmaktadır [11], [63], [64]. Benzer şekilde *C. acetobutylicum* suşlarında kullanılan Anaerobik şeker (AnS) besiyeri 10 g/L pepton, 5 g/L maya ekstraktı, 3 g/L K_2HPO_4, 1 g/L NaCl, 1 g/L $(NH_4)_2SO_4$, 0,2 g/L $MgCl_2.6H_2O$, 0,2 g/L $CaCl.2H_2O$ ve 1 g/L Na_2CO_3'dan hazırlanmaktadır. P2 besiyeri ise 80 μg/L biotin ve 1 mL'lik 4-aminobenzoik asit (1 mg/L) çözeltisinin 1 litreye tamamlanması ile hazırlanmaktadır [94].

3
KATI-HAL FERMANTASYONU

Katı-hal fermantasyonu bu alanda çalışan araştırmacılar tarafından farklı şekillerde tanımlanmasına karşılık genel olarak, mikroorganizmaların serbest suyun bulunmadığı, katı yüzeyler ya da çözünmeyen inert ortamlara tutunarak büyütüldüğü ve karbon kaynağı olarak da katı partiküllerin kullanıldığı üretim ortamları olarak ifade edilebilmektedir [95]. Bu yöntem ile gerçekleştirilen fermantasyon işleminde, ortamda yeterli metabolik aktivitenin ve mikrobiyal büyümenin sağlanabilmesi için sıvı formda serbest halde hareket eden moleküller yerine yeterli miktarda nem ortamı olması gerekmekte ve kültürler de katı destek üzerinde ya da direkt olarak katı halde kullanılan karbon kaynağı üzerinde büyütülmektedir [28]. Önerilen birçok farklı ifadeden yola çıkarak, katı-hal fermantasyonu serbest suyun neredeyse olmadığı mikrobiyal bir fermantasyon işlemidir ve özellikle küfler olmak üzere spesifik mikroorganizmalara özgü bir üretim yöntemidir [27], [96], [97].

Katı-hal fermantasyonu özellikle gıda endüstrisinde yüzlerce yıldır kullanılan bir yöntem olmasına karşılık, son yıllarda artan gıda ve katı atıklar sayesinde araştırmacılar ve endüstri tarafından tekrar dikkat toplamaktadır. Katı atıkların işlenmesinin yanı sıra, katı-hal fermantasyonu enzim, birincil ve ikincil metabolitler gibi düşük hacimli olmasına karşılık yüksek değere sahip ürünlerin üretilmesinde oldukça önemli yer tutmaktadır ve bu konuda biyomolekül üretiminde kullanılan diğer fermantasyon yöntemlerinden olan derin kültür fermantasyonuna karşı üstün özellikler göstermektedir [96]. Derin kültür fermantasyonunda mantar kültürleri sulu ortama maruz kalarak büyümeyi ve substrat dönüşümünü gerçekleştirirken, katı-hal fermantasyonunda büyüme yalnızca katı yüzeylerle sınırlı kalmaktadır. Mevcut çalışmalara dayanarak derin kültür fermantasyonuna kıyasla sunulan bazı üstün özellikler ise fermantasyon sonunda yüksek enzim miktarı eldesi, birim zamanda daha yüksek ürün üretimi,

enzim stabilitiesi, düşük katabolit baskı seviyesi ve kısa fermantasyon süresi olarak listelenebilmektedir [98]. Tarım endüstrisi atıkları ve gıdaların katı-hal fermantasyonu yoluyla işlenmesi sayesinde besin yönünden iyileşme ya da atıkların etkin şekilde değerlendirilmesi sağlanmaktadır. Bu anlamda ülkeler temelinde yaygın olarak kullanılan ve bu sayede yüksek miktarlarda açığa çıkan gıda atıkları da katı-hal fermantasyonu için elverişli ham madde olabilmektedir. Nişasta bazlı gıdalardan olan ekmek ülkemizde yaygın olarak tüketilirken, Asya ülkelerinde ise bu konumda pirinç bulunmaktadır ve Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü'nün raporlarına göre bu ülkelerde en fazla israf edilen besin olarak öne çıkmaktadır [14], [15]. Literatürde karbonhidratça zengin ve yüksek miktarlarda ortaya çıkan katı formdaki bu ham maddelerden katı-hal fermantasyonu yoluyla birçok değerli ürün üretilmektedir. Bunların bazıları laktik asit [99], sitrik asit [100], [101], gallik asit [98], nigerloksin [102], meroparamisin [103], ksilanaz [104], mantar önleyici antibiyotik iturin [105], fitik asit [106], lovastatin [107], çeşitli şeker molekülleri ve enzimler olarak öne çıkmaktadır.

Mikroorganizmaların hızla kullanabileceği karbon kaynaklarına öncelik vermesi ve metabolizma aktivitelerinin bu enerji kaynağına adapte etmesi ile diğer alternatif karbon kaynaklarının kullanımı için gerekli enzimlerin sentezlerinin engellenmesi olarak tanımlanan katabolit baskı seviyesi, derin kültür fermantasyonuna göre katı-hal fermantasyonunda daha az görülmektedir [108]. Bu durum, üretimin yüksek karbon kaynağı ortamında olumsuz etkilenmesini engellemektedir. Yani, yüksek substrat konsantrasyonu ile enzim üretimi katı-hal fermantasyonunda üretim verimini arttırmaktayken, derin kültür fermantasyonunda uygulanan yüksek substrat konsantrasyonu üretimi engellemektedir [109]. Ham madde miktarı ile ürün konsantrasyonunun indüklenebilmesi sayesinde katı-hal fermantasyonu yıllık işletme maliyetleri yönünden oldukça ekonomik bir proses haline gelmektedir. Diğer taraftan gerçekleştirilen tekno-ekonomik çalışmalarında sunulan verilere göre derin kültür fermantasyonu, katı-hal fermantasyonuna göre yaklaşık %78 daha yüksek yatırım maliyetine ihtiyaç duyduğu belirtilmektedir [98].

Bu yöntem ile elde edilen avantajları biyolojik, proses, çevre ve ekonomik olarak dört ana başlıkta toplayacak olursak, yukarıda da bahsedildiği gibi yüksek enzim kararlılığı, düşük katabolit baskılanma (yüksek ham madde konsantrasyonuna karşı tolerans) ve yüksek üretkenlik olarak sıralanabilmektedir. Ayrıca, katı-hal fermantasyonu çoğunlukla küfler (filamentli mantarlar) için uygun olan bir yöntem olması ve bu mantarların bakterilere kıyasla daha güçlü enzimlere sahip olması sayesinde fermantasyon etkinliği de diğer yöntemlere karşı daha güçlü olmaktadır. Sunduğu proses avantajları ise fermantasyon sürecinin sıkı kontrollere gereksinim duymaması, kolay havalanma, düşük reaktör hacimleri ve düşük miktarda sıvı bileşen içerdiği için ürün saflaştırılmasının nispeten daha kolay olması olarak sıralanabilmektedir. Çevresel yönden elde edilen avantajlar ise düşük miktarda sıvı atık ya da zararlı madde oluşumu, atık problemlerinin ise biyolojik detoksifikasyon yolu ile çözülmesi olarak ifade edilebilmektedir. Son olarak prosesin getirdiği bazı ekonomik avantajlar ise ham maddelerin çoğunlukla doğal madde, tarım atığı ya da atık yiyecek oluşu sayesinde oldukça uygun maliyetlerde elde edilmesi, kullanılan reaktörlerin diğer proseslere göre daha uygun maliyette oluşu ve son ürünün yüksek konsantrasyonlarda elde edilmesi sayesinde ürün kazanım giderlerinin oldukça düşük olması olarak listelenebilmektedir [27], [29], [95], [98].

Gıda ve tarım atıklarının etkin dönüşümü konusunda aktif olarak kullanılan katı-hal fermantasyonu yıllardır araştırılan bir süreç olmasına, biyobozunma ve değerli enzim üretimleri için gelecek vadeden bir yöntem olmasına karşılık, uygulanan diğer biyolojik prosesler gibi sunduğu avantajların yanında getirdiği olumsuz durumlar da mevcuttur. Katı-hal fermantasyonu kullanımının dezavantajlarından en önemlisi; laboratuvar boyutunda gerçekleştirilen çalışmalarda oldukça önemli ilerlemeler kaydedilmiş ve endüstriyel boyutta üretim için çok önemli potansiyele sahip olsa da, hala endüstriyel boyutta üretime geçiş aşamalarında bazı sorunlar yaşanması olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu tezin amaçlarından birisi olarak da ifade edebileceğimiz, endüstriyel boyuta geçiş öncesi ekonomik incelemeler, yöntem gereksinimlerin substrat ve kültür temelinde belirlenmesi gibi ekstra çalışmalara da ihtiyaç duyulmaktadır. Katı-hal fermantasyonunun dezavantajları

ve geliştirilmesi gereken yönleri daha özelde inceleyecek olursak; sıcaklık, pH, oksijen transferi ve katı partiküller yüzeyinde gerçekleşen ısı ve kütle transferlerinin tüm yüzeyler boyunca eş olmaması ve etkin olarak incelenememesi, yani bölgesel olarak nem ve substrat değerlerinde dalgalanmalarının oluşmasıdır. Ayrıca, fermantasyon ortamı içerisinde homojen olmayan mikroorganizma, besin, sıcaklık, pH ve nem dağılımları gözlemlenmektedir. Bu fermantasyon yönteminde, havalandırma ve fiziksel karışım yöntemlerinin nispeten kolay olmasına karşılık işlemin katı yüzeyler üzerinde sıvı faz yokluğunda gerçekleşmesi sebebiyle her bir bölgenin sabit hava akışına maruz bırakılması güç olmaktadır. Metabolik aktiviteler gerçekleştikçe ve mikroorganizmalar çoğaldıkça fermantasyon ortamında oluşan ısı değişimleri ya da artışları hız kazanmakta ve bu durumdan kaynaklı olarak nem miktarlarında dalgalanmalar gözlemlenmektedir, bu da fermantasyon verimini, enzim aktivitelerini etkilemektedir. Tüm katı yüzeyler boyunca dağılmış mikroorganizmaların miktarlarının tayini, sıvı ortamda gerçekleştirilen fermantasyonlara göre oldukça zor olmaktadır, bu da prosesin mikrobiyal büyüme yönünden takibini, kinetik çalışmaların yapılmasını zorlaştırmaktadır. Tüm bu olumsuz durumların üstesinden gelebilmek için fermantasyon sistemlerinin geliştirilmesi, zorlanmış ve kontrollü havalandırma ile nem, sıcaklık kontrollerinin sağlanabilmesi ya da stabil havalandırmanın sağlanabilmesi, matematiksel yöntemlerin geliştirilerek o modellere kinetik verilerin uyarlanabilmesi, sensör uygulamalarının daha etkin kullanımı ile sistemin daha üstün şekilde kontrolü gerekmektedir [28], [29], [98], [110], [111].

3.1 Aspergillus oryzae

Aspergillus oryzae filamentli bir mantar ya da küf olarak tanımlanabilmekte ve özellikle Çin ve Japonya başta olmak üzere Asya bölgesi gıda endüstrisinde kullanılmaktadır [30]. Soya sosu, mirin, sake ve miso gibi fermente edilmiş geleneksel yiyecek ve içeceklerin hazırlanmasında kullanılmaktadır [112]. *A. oryzae* güçlü enzim salgılama kapasitesi sayesinde çok zincirli nişasta ve protein moleküllerini parçalayarak daha küçük yapıdaki şeker ve amino asitlerin

üretilmesini sağlamaktadır. Bu yönüyle *A. oryzae*, katı-hal fermantasyonunda sorumlu küf olarak yaygın şekilde kullanılmaktadır [113], [114].

Aspergillus cinsi küflerin üyeleri genel olarak hem birincil hem de ikincil bir metabolik sistem kullanımları sayesinde diğer mikroorganizmalara karşı üstünlük göstermektedir. Bu metabolik aktivitenin işlevselliği kompleks yağ asidi sentez enzimleri ile yağ asitlerine parçalanan karboksilik asit yapılarına bağlıdır. Zincir yapıları, *Aspergillus* hücre zarının ve enzim depolama keseciklerinin gelişmesine ortam sağlamaktadır. Filamentli küflerin birincil metabolik aktivitesi tahıl gibi tanecikli yapılar veya nişasta gibi enerji kaynaklarından ihtiyaç duyduğu enerjinin temin edilmesidir. Uygun kaynak ile temas ettiği esnada, ortamda bulunan nişasta protein ve peptit yapılarını bozmak, bunları daha küçük yapılar olan amino asit ve şekerlere dönüştürmek için enzim salgılamaktadır. İkincil metabolik aktiviteleri ise, asit bileşiklerinin kullanımı ile mevcut metabolik yolların baskılanması ve ikincil metabolitlerin üretilmesini kapsamaktadır. İkincil metabolitler, *A. oryzae*'yi ortama adapte olmayı sağlamakla birlikte optimum metabolik verimlilik için bu uygunluğu arttırma veya azaltma kapasitesine de sahiptirler. Böylelikle birçok farklı ortama kolaylıkla uyum sağlayan küfler, metabolik aktivitelerini benzer etkinlik seviyelerinde sürdürebilmektedirler [98], [109], [112], [113], [114].

Büyütüldüğü katı besiyeri üzerinde beyaz ve kabarık halde ipliksi yapıda görünen *A. oryzae* genişleyen kesecik halindeki konidiyal zincirlere sahiptir ve besiyeri üzerindeki yapısı Şekil 3.1'de gösterilmektedir. Konidiumlar farklı şekillerde görülebilmekle beraber genellikle, oval, yuvarlak ya da armut biçiminde, değişken boyutlarda olabilmektedirler. Bu konidiosporların boyutları, yapıları, şekilleri veya diğer karakteristik özellikleri sayesinde konidioforlar mantar türlerinin ayırt edilmesinde işe yarayan en önemli kriterler arasındadır. Bu şekildeki morfolojik yapılar özellikle *Aspergillus*, *Penicillium* ve *Hormodendrum* cinslerinde sıklıkla görülmektedir [115], [116], [117].

Şekil 3.1'de gösterildiği gibi, *A. oryzae* diğer *Aspergillus* ailesinin üyelerine benzer şekilde yuvarlak halde bir kesecik ile sonlanan konidiyofora sahiptir (ölçek çubuğu 20 μm). Vezikül ya da kesecik olarak tanımlanan katmandan substrat yüzeyine

konodial zincir adı verilen uzun filamentler uzanmaktadır. Spor oluşturan hücreler ise askokarp adı verilen mantarın meyve veren gövdesinde üretilmektedir. Bu filamentli mantarlardan salgılanan başlıca enzim ise amilaz enzimidir ve nişastanın parçalanarak şekere dönüşümünden sorumludur. Etkin salgılama ortamı ise 35-40 °C'lerde sağlanabilmekte, mikroorganizma bünyesindeki diğer enzim salgıları ise çoğunlukla 30-35 °C'lerde gerçekleşmektedir.



Şekil 3.1 *Aspergillus oryzae*'nin katı besiyeri üzerinde büyülmesi ve konidiofor başlığı

Özellikle nemli Doğu Asya ülkelerinin yerlisi olarak kabul edilen ve yaygın şekilde kullanılan *A. oryzae*, üstün enzim salgılama potansiyeline sahip olması sebebiyle endüstriyel boyutta enzim üretimi konusunda önemli potansiyele sahiptir. Japon kültüründe önemli yer tutan tarihi ve geleneksel içeceklerinden olan sakenin üretilmesinde kullanılmaktadır. Bu amaçla *A. oryzae* sporları, buhar ortamında pişirilmiş ve 45 °C'den daha düşük seviyelere soğutulmuş pirinç üzerine serpilmekte, nem ortamında büyütülmekte ve geleneksel içeceklerinin ilk aşaması olan *koji* hazırlığı tamamlanmaktadır [119]. Bu yönüyle *A. oryzae* sporları Japon kültüründe *koji* tohumu ya da *koji* küfü olarak da isimlendirilmektedir [112]. Ancak, *koji*'nin hazırlık süreci, diğer önemli proses detayları ise her bir *koji* üretim firması tarafından gizli tutulmaktadır.

Son olarak filamentli küf olarak tanımlanan *Aspergillus*'u sağlık ve güvenlik konularında inceleyecek olursak, pirinç ve ekmek gibi karbonca zengin gıdaların

kolaylıkla kontaminasyonlarına sebep olduğu için patojenik bir mikroorganizma olarak kabul edilmektedir. Buna ek olarak, *A. oryzae* ve ona yakın akraba grupları ürettiği kojik asit gibi mikotoksinler ile karakterize edilirken, *A. flavus*'a da yakınlığı sayesinde maltorisin, 3-nitropropiyonik asit ve siklopiazonik asit gibi toksinler de üretebilmektedir. Yine de *A. oryzae*'nin, toksik üretim yolunu kodlayan proteinlerin inaktivasyonu ile yabani tip akrabaları olan *A. flavus* ve *A. niger*'den evcilleştirilmesi ve evrimi sayesinde gıda endüstrisi uygulamalarında kullanım için nispeten güvenli olduğu belirtilmektedir. Suşa ve ortam şartlarına bağlı olan toksik kojik asit üretimi, yeterli seviyede önlem alınmış ve kontrollü ortamlarda gerçekleştirilen endüstriyel işlemler süresince engellenmekte ve bu sayede mantar güvenli bir biçimde kullanılmaktadır. Katı-hal fermantasyonunda *A. oryzae*'nin kullanımı ile ortaya çıkabilecek en önemli risk ise sporların hava yolu ile kolaylıkla taşınabilmesi ve fermantasyondan sorumlu kişiler tarafından solunma ihtimali olarak ifade edilmektedir [120].

3.2 Katı-hal Fermantasyonunu Etkileyen Parametreler

Katı-hal fermantasyonu, derin kültür fermantasyonuna göre düşük su aktivitesi, düşük ham madde maliyeti, basit fermantasyon sistemi ve yüksek ürün verimi gibi açık farklılıklar ve üstünlükler göstermektedir.



Şekil 3.2 Katı-hal fermantasyonunu etkileyen parametreler

Çoğunlukla sıvı fazın yokluğunda ve yalnızca nem ortamında gerçekleşen katı-hal fermantasyonu, bu yönü ile basit proses biçimi ve mikroorganizmaların doğal yaşam şartlarına yakınlığı ile büyük avantajlar sağlamaktadır. Yine de gelişen

teknoloji ile birlikte proses veriminin iyileştirilmesi, endüstriyel boyutta üretim için hazırlanan sistemlere mikroorganizmaların adapte edilmesi amacıyla çalışmalar sürdürülmektedir. Tamamlanan bu çalışmalardan elde edilen sonuçlara göre katı-hal fermantasyonunun performansını etkileyen parametreler biyolojik, fizikokimya ve mekanik olarak üç ana başlıkta sunulabilmektedir (Şekil 3.2) [121], [122].

3.2.1 Biyolojik Faktörler

Katı-hal fermantasyonunu etkileyen faktörlerden mikroorganizma tipi, inokülasyon ve substratlar biyolojik faktörler sınıfında listelenmektedir.

3.2.1.1 Mikroorganizma Tipi

Tüm mikrobiyolojik proseslerde olduğu gibi, katı-hal fermantasyonunun verimini de en çok etkileyen parametrelerden birisi kullanılan katı ham maddeyi en etkin şekilde fermente edebilecek yani nişasta-şeker dönüşümü yapabilecek uygun mikroorganizmanın seçimidir. Katı-hal fermantasyonu genellikle mantarların tek tür olarak, bakterilerin tek tür olarak ya da mantar, bakteri ve mayanın eş kültür halinde kullanımı ile gerçekleştirilen proseslerdir. Seçilen mikroorganizma, kullanılan ham maddeye, fermantasyon ortamına, büyüme için gerekli koşullara ve son ürün hedeflerine bağlı olarak belirlenmektedir [123]. Filamentli mantarlar bakterilere kıyasla güçlü enzim salgılama kapasiteleri, fizyolojik yetenekleri sayesinde katı-hal fermantasyonunda sıklıkla kullanılan tür olmaktadır. Farklı türlerin eş kültür şeklinde kullanımından ziyade, tek bir türün katı-hal fermantasyonuna uygulanması substratın etkin kullanımına, yan ürün oluşumlarının engellenmesine, ekstra saflaştırma işlemlerine gerek duyulmamasına olanak sağlamaktadır [124]. Eş kültür olarak büyüme işlemlerine ise doğal yaşamda sıklıkla karşılaşılan ve simbiyotik davranışa yani mutualist büyümeye örnek olarak kompostlama işlemi verilebilmektedir. Çünkü bu ve bunun gibi katı yüzeylerde ve kendiliğinden gerçekleşen mikrobiyolojik prosesler farklı kültürlerin eş zamanlı büyüme ve mikrobiyal aktivitelerini gerçekleştirmelerine olanak sağlamaktadır. Bu yönüyle oluşan ürünler farklılık göstermektedir [98].

3.2.1.2 İnokülasyon

İnokülasyon bir besiyerine ya da fermente edilecek substrata eklenen canlı mikroorganizmayı, yani başlatıcı kültür ya da yüksek sayıda canlı hücre içeren aşıyı ifade etmektedir. İnokülümün yaşı yani toplam inkübasyon saati, büyütme için kullanılan besiyeri bileşimi ve mikroorganizmanın anlık fizyolojik durumu gibi birçok parametre fermantasyon verimini önemli ölçüde etkilemektedir. Yani fermantasyonda kullanılacak mantar kültürünün birincil veya ikincil metabolit üretme evresinde olup olmaması, hedeflenen ürünün eldesini etkilemekte ve istenmeyen yan ürünler üretilme ihtimaline sebep olmaktadır. Bu durumun temel sebebi de, fermantasyonun ilk saatlerinin ya da büyütme ortamının kültürlerin birincil ya da ikincil metabolit üretim yoluna evrilmesine, ortama adaptasyon sağlama eğilimlerine sebep olmakta ve tüm fermantasyonun yönünü büyük ölçüde belirlemektedir. Bu konuda da geçmiş yıllarda yapılmış çalışmalar inoküle edilen kültür farklılığının, inkübasyon süresinin fermantasyon sonucunu etkilediğini kanıtlamaktadır [125], [126]. Ek olarak, inokülasyon miktarı da fermantasyon etkinliğini etkilemektedir, yani düşük yoğunluklarda gerçekleştirilen inokülasyon işlemi ile katı-hal fermantasyonunda kontaminasyon riski artmakta ve diğer fırsatçı mikroorganizmaların katı yüzeyler üzerinde büyümeleri gerçekleşmektedir. Bunun önlenmesi amacıyla, yeterli seviyede aktif kültürün aşılanması gerekmektedir, bu da diğer mikroorganizmaların büyümesini baskılamakla kalmayıp, fermantasyon süresinin de kısalmasına yardımcı olmaktadır. Özetle, inokülasyon işleminde kültürün ekim miktarı, kültürün inkübasyon süresi ve metabolizma aktiviteleri fermantasyonu doğrudan etkilemekte, fermantasyon süresini ve elde edilen ürün dağılımını belirlemektedir [98], [127].

3.2.1.3 Substratlar

Mikroorganizmaların aktif olarak çoğalabilmesi, fermantasyon süreçlerinin verimli şekilde sürdürülebilmesi için bir diğer önemli unsur ise substratlar, yani mikroorganizmaların yaşamsal faaliyetlerini sürdürebilmek için ihtiyaç duyduğu enerji ve besini sağladığı karbon kaynaklarıdır. Bu substratlar genel olarak

karbonhidrat, protein, lipit, nükleik asitleri içermekte ve oksidasyon yoluyla bakteri ya da mantarlara enerji sağlamaktadır [128]. Substratlar enerji sağlamanın yanı sıra, katı-hal fermantasyonu için mikroorganizmalara büyüme yüzeyleri oluşturmakta ve su tutma kabiliyetlerine göre ortam neminin belirlenmesinde önemli rol üstlenmektedir [123]. Katı-hal fermantasyonunda kullanılan karbon kaynakları çoğunlukla gıda ya da tarım endüstrisinden geriye kalan ürünler ya da işlenmemiş yapıdaki gıdalar olmaktadır. İşlenmemiş olmalarından dolayı ise substratlar farklı boyutlarda, kalitede ya da kısmi olarak farklı bileşimlerde olabilmekte ve bu durum da yapılan kesikli fermantasyon işlemlerinin her birinin aynı performans ile sonuçlanmamasına sebep olmaktadır [123], [129]. Bu yüzden tek tip fermantasyon ortamı oluşturabilmek adına, katı yüzeylerin uygun şekilde karıştırılması, homojen yapının sağlanması gerekmektedir.

Katı-hal fermantasyonunda kullanılan substratlar nişasta bazlı, şeker bazlı ve selülozik ya da lignoselülozik olarak sınıflandırılabilmektedir. Nişasta bazlı ham maddeler çoğunlukla tahıl grubunda olan maddeleri içermekte ve özetle pirinç, arpa, buğday, mısır, manyok, tatlı patates, yulaf gibi gıdaları içermektedir. Yapısındaki zengin karbonhidrat sayesinde katı-hal fermantasyonunda sıklıkla kullanılmakta ve mikroorganizmalar tarafından uzun zincirli nişasta yapısı parçalanarak basit yapıdaki şeker moleküllerine dönüşmektedir [130]. Diğer taraftan, karbon kaynakları gibi mikroorganizmaların büyümesinde önemli yer tutan nitrojen kaynakları da fermantasyonda katı bileşen olarak kullanılmaktadır. Bu kapsamda nitrojen kaynağını da içeren protein bakımından zengin gıdalardan olan susam, ayçiçek, hindistan cevizi, balkabağı, kanola, palm çekirdeği yağlarından oluşan yağ kekleri de katı-hal fermantasyonunda sıklıkla kullanılan substratlardandır [131], [132], [133], [134]. Selülozik ya da lignoselülozik yapıdaki substratlar ise çoğunlukta tarım endüstrisi atıklarından oluşmakta ve karbon kaynağı olarak yüksek miktarda selüloz, hemiselüloz ve lignin içermektedir. Selüloz parçalayabilme kabiliyetine sahip olan başta *Clostridium cellulolyticum*, *Aspergillus niger*, *Trichoderma reesei* ve *Trichoderma viride* olmak üzere, uygun mikroorganizmalar kullanılarak buğday ve şeker pancarı küspeleri,

pirinç kabuğu, mısır koçanı, buğday ve arpa samanları ve diğer odunsu yapıdaki ham maddeler katı-hal fermantasyonu gerçekleştirilmektedir. Son olarak ise şeker içerikli substratlar sınıfında, bileşiminde yüksek miktarlarda şeker bulunan çoğunlukla meyve posaları, şeker kamışı ya da şeker pancarı melası, şilempe ve tatlı sorgum bulunmaktadır [98]. Nişasta, selüloz ve şeker içerikli katı substratlardan farklı olarak inert katı yüzeyler de katı-hal fermantasyonunda sıklıkla kullanılmaktadır. Bu alanda perlit, amberlit, poliüretan köpük ve kil taneleri gibi katı malzemeler kullanılmakta ve kimyasal olarak mikroorganizmaların büyümesi için hazırlanmış besiyerini taşımaktadır. Fermantasyonun inert ortamda gerçekleştirilmesi; ortam kontrolü ve takip kolaylığı, havalandırma şartlarında homojenliğin sağlanması, fiziksel yapısının fermantasyon boyunca stabil kalması, ısı ve kütle transferlerinin kontrol altında tutulabilmesi, ortam sıcaklığı ve nem aktivitelerinin etkin kontrolü, fermantasyon ortamı boyunca fiziksel heterojen yapının (kanal oluşumu ya da büzülme) engellenmesi, katı yüzeyin inert olması sebebiyle son ürünün daha kolay saflaştırılması, inert katı yüzeyin tekrar kullanım imkanı, mikroorganizma kütlesinin kolaylıkla takibi ve her türlü mikroorganizma için uygun büyüme ortamının ve besin bileşiminin hazırlanabilmesi gibi avantajlar sağlamaktadır. Yukarıda bahsedilen ve uygulanacak fermantasyona özgü hedefler ile kullanılan inert maddelere ek olarak pirinç kabuğu, şeker kamışı küspesi ve bunun gibi doğal maddeler sahip olduğu gözenekli yapı, düşük besin değeri özellikleri sayesinde katı-hal fermantasyonunda inert madde olarak kullanılabilmektedir [135], [136].

3.2.2 Fiziksel Faktörler

Katı-hal fermantasyonunun gerçekleştiği ortamın fiziksel durumu ile ilgili faktörler genel olarak nem, pH, sıcaklık, havalandırma ve parçacık boyutu olarak sınıflandırılabilmektedir.

3.2.2.1 Nem

Mikroorganizmaların büyümelerinin tamamlanması, mikrobiyal aktivitelerinin sürdürülebilmesi için gerekli olan su miktarı, büyüme ortamında bulunan su aktivitesi ile doğrudan ilişki göstermektedir. Fermantasyonda kullanılan

mikroorganizma türüne göre gerekli su miktarı değişkenlik göstermekle birlikte, genel olarak mantarın misel yapısının substrat yüzeyindeki katı partikülleri parçalamadan büyümesine yetecek miktarda olması beklenmektedir [27]. Geçmiş çalışmalar, bakterilerin maya ve mantarlara göre daha yüksek su aktivitelerinde büyüme gösterdiğini belirtmekte ve fermantasyonun düşük nem ortamında başlama durumunda kültürlerin kuruduğu ve büyümelerinin tamamlanamaması sebebiyle fermantasyonun erken sonlandığını göstermektedir [127], [129]. Bu durumun üstesinden gelinmesi ve fermantasyon veriminin arttırılması için, ortam neminin uygun seviyelerde kontrol altında tutulması gerekmektedir [27]. Alınabilecek bir diğer önlem ise fermantasyon ortamının doymuş hava ile beslenmesidir. Bu yaklaşım ile hem kültürün kuruması önlenmekte, hem de misel oluşumu, enzim salgılanması ihtiyaç duyulan miktarlarda nem oluşturulmaktadır. Diğer taraftan, kontrolsüz doygun hava beslenmesi ile ortamın nem miktarı artmakta ve katı substratların birbirine yapışma ihtimali oluşmaktadır, bu durum da birbirine yapışan katılarda partikül hacminin artmasına, hava ile temas eden yüzeyin düşmesine dolayısıyla mikroorganizmaların salgıladığı enzimin ulaşabileceği yüzey miktarının azalmasına sebep olmaktadır. Bu da yine fermantasyon veriminde düşüş ile sonuçlanmaktadır. Bu konudaki çalışmalar, yüksek nem ortamında katı-hal fermantasyonunda kullanılan substratlarda aglomerasyon yani topaklanma oluştuğu, yeterli enzim ve hava transferinin gerçekleşmediği ve bu yüzden de hem mikroorganizma büyümelerinin etkilendiği hem de mikrobiyal metabolitlerin miktarında önemli miktarda azalmalar olduğunu göstermektedir [95].

3.2.2.2 pH

Katı-hal fermantasyonunun gerçekleştiği ortamda serbest suyun neredeyse olmaması, bölgesel olarak heterojen yapının gözlenmesi ve katı ortam için kontrollü pH ölçüm metodu olmaması sebebiyle bu fermantasyon işleminde pH takibi oldukça güç olmaktadır. Ancak yine de ortam pH'ının mikroorganizmaların büyümesinde oldukça önemli olduğu bilinmekte ve mikroorganizma türüne göre optimum pH değeri değişkenlik göstermektedir. Bakteriler genellikle nötr (pH=7) ortamlarda etkin aktivite sergilerken, mantar ve mayalar zayıf asit bölgesinde ve

aktinomisetler pH'ın 7'den yüksek olduğu ortamlarda fermantasyon gerçekleştirmektedir. Geçmiş çalışmalarda da pH ölçümü için potansiyometrik elektrot kullanımı ya da fermantasyon ortamına su ilave ederek pH probları ile izleme yapılabileceği önerilmektedir [137].

3.2.2.3 Sıcaklık

Ortam sıcaklığı ortam nemini ve mikrobiyal aktiviteleri doğrudan etkilediği için katı-hal fermantasyonu üzerinde en büyük etkiye sahip parametrelerden bir tanesidir. Mikroorganizmaların gerçekleştirdiği enzimatik aktiviteler, ortaya çıkan metabolitler ile katı-hal fermantasyonunun gerçekleştiği ortamda ısı birikmekte ve fermantasyon verimi etkilenmektedir [111], [123]. Reaksiyon esnasında ortaya çıkan ısı kaynaklı sıcaklık artışları sebebiyle ortamın nem miktarları değişkenlik göstermekte ve ortam boyunca heterojenlik seviyesi artmaktadır. Bu durumun önüne geçmek için ise, açığa çıkan ısının hava akışları ile dengelenmesi, sıcaklık kontrollerinin yapılması ve ekstra hava akışı ile oluşabilecek olası nem kayıplarının ortadan kaldırılması için eş zamanlı nem kontrollerinin de yapılması gerekmektedir. Bu yüzden fermantasyon bileşiminin belirli sürelerde karıştırılarak hava almasının sağlanması ve homojenliğin korunması gerekmektedir [29], [98], [124].

3.2.2.4 Havalandırma

Aerobik fermantasyon sınıfında değerlendirilen katı-hal fermantasyonunda oksijen seviyesi, oksijenin mikroorganizmalara erişmesi fermantasyon verimini etkileyen bir diğer önemli unsurdur. Aerobik şartların fermantasyon süresince sağlanabilmesi için, oksijenin katı partiküller arasına penetre edebilmesi ve metabolik aktivite ile ortaya çıkan karbondioksitin de ortamı anaerobik ortama dönüştürmeden uzaklaştırılması gerekmektedir. Bu durum ancak uygun şekilde karıştırma işlemleri ile sağlanabilmektedir. Katı-hal fermantasyonunun gerçekleştiği substratlar geniş yüzeylere yayılmaktan ziyade, yığın halde derinlemesine yerleştirildiğinde alt tabakalarda oksijen seviyesi ihtiyaç duyulan miktardan az olabilir ve bu durum da fermantasyon ortamının bölgesel olarak aerobik ya da anaerobik olmasına sebep olarak mikrobiyal aktiviteyi

etkilemektedir [95], [124]. Benzer şekilde, geçmiş çalışmalar farklı mikroorganizmaların farklı seviyelerde oksijene ihtiyaç duyduğunu göstermekte, bu durumun da ortama oksijen ya da hava beslenmesi ile sağlandığını ifade etmektedir. Aerobik fermantasyondaki oksijen ihtiyaçlarının yeterli seviyelerde karşılanabilmesi için gönderilen hava, aynı zamanda bölgesel olarak farklılık gösteren ısı ve kütle transferinin homojen yapıya dönüşmesine yardımcı olmaktadır. Yine de havalandırma debisi ile substratların ve mikroorganizmaların kurumasının, fermantasyonun sonlanmasının önlenebilmesi amacıyla kuru hava yerine doymuş hava gönderilmekte, bu sayede mikrobiyal büyüme, ürün dönüşümü için gerekli ortam sağlanmış olmaktadır [138], [139].

3.2.2.5 Parçacık Boyutu

Katı-hal fermantasyonu ile mikrobiyal dönüşümü gerçekleştirilen katı substratların parçacık boyutları yüzey alanları ile doğrudan ilişkili olduğu için fermantasyon verimi açısından önem kazanmaktadır. Yani daha küçük parçacık boyutuna sahip maddelerin birim yüzey alanları daha geniş olacağı için yeterli havalandırma imkanına sahip olacak ve mikroorganizmalar tarafından salgılanan enzimlerin tüm yüzeylere erişimi kolaylaşacaktır. Bu yönüyle, fermantasyonu etkileyen en önemli fiziksel etkenin yüzey/hacim oranını belirleyen parçacık boyutu olduğu kabul edilmektedir [123]. Yüksek nem ortamında katı substratların topaklanması ile parçacık boyutunun artması ile fiziksel ön işlem görmeden büyük parçacık boyutuna sahip halde fermantasyona başlanan katı substratlarda benzer olumsuz sonuçlar görülmektedir. Bunun sebebi ise büyük partikül boyutundan kaynaklı salgılanan enzimin parçacık iç yüzeylerine ulaşamaması, yetersiz dönüşüm ve sıcaklık ile nemde yoğun şekilde gözlenen bölgesel farklılıklar olarak ifade edilmektedir [140], [141]. Ayrıca fermantasyon boyunca da parçalanma ya da topaklanma yüzünden parçacık boyutlarında artma ya da azalma yönünde değişkenlik gözlenebilmekte ve ortam gözenekliliği etkilenmektedir. Bu da başta mikroorganizmaların büyümesinin etkilenmesi olmak üzere, ısı dağılımları, hava akışları, enzimatik dönüşüm verimini ve sistemin kontrollerini etkilemektedir [123].

3.2.3 Mekanik Faktörler

Fermantasyon verimini doğrudan etkileyen mekanik faktörler ise karıştırma ya da çalkalama etkisi ile biyoreaktör tasarımı olarak verilmektedir.

3.2.3.1 Karıştırma/Çalkalama

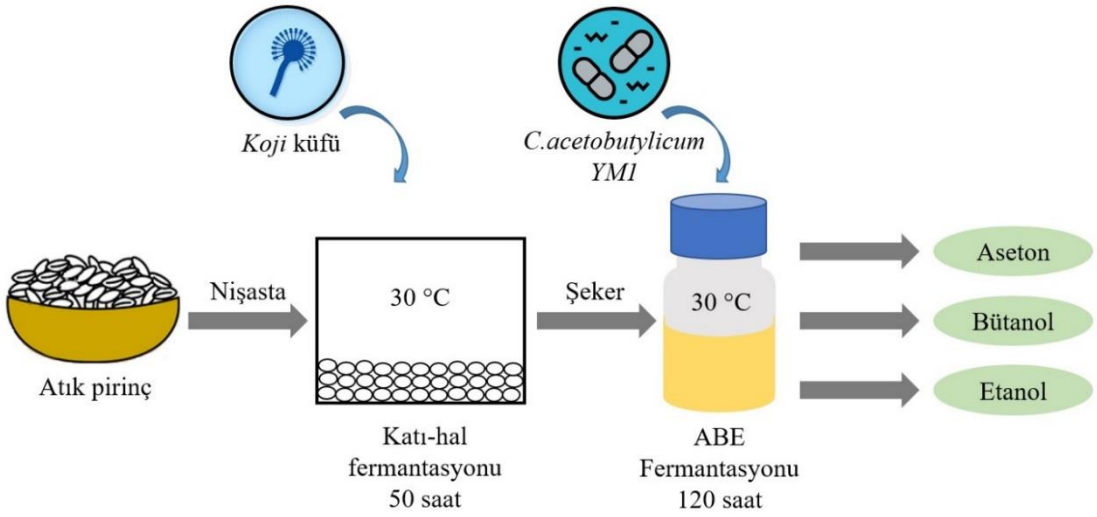
Fermantasyon ortamının homojenliğinin sağlanması için belirli aralıklarla çalkalama ya da karıştırma işlemine ihtiyaç duyulmaktadır. Bu parametre de havalandırma prosesi ile benzer amaç içermekte ve dip bölgelerde olan kültürlerin oksijen ihtiyaçlarının karşılanması, bölgesel besin farklarının giderilmesi, metabolik aktivite sonucu üretilen CO_2'nin birikmesinin önlenmesi için önem kazanmakta ve bu sayede daha homojen yapıda bir karışım elde edilerek fermantasyon veriminin artmasına yardımcı olmaktadır [69], [127]. Ancak, özellikle mantarlarda büyümenin önemli bir adımı olan miselyum oluşumunun karıştırma esnasında sekteye uğraması ve daha önceden oluşmuş miselyumların da tahribat görmesi ihtimali de mevcuttur. Bununla birlikte, çalkalama nedeniyle oluşan kesme kuvvetleri miselyumu tahrip edebileceğinden çalkalama miselyum oluşumunu etkilemektedir. Bu yüzden organizma hasarları oluşturmadan belirli aralıklarla gerçekleştirilecek etkin karıştırma işlemleri ile fermantasyon veriminin artması beklenmektedir [31], [98], [142].

3.2.3.2 Biyoreaktör Tasarımı

Katı-hal fermantasyonu için tasarlanmış uygun bir biyoreaktör mikroorganizmaların fermantasyon süresince etkileneceği durumların oluşmaması açısından önem arz etmektedir. Oksijen harici madde giriş çıkışı olmayan ve kapalı sistem olarak kabul edilebilecek reaktör içerisinde besiyeri bileşimi, kültür kütlesi ve metabolit miktarları zamanla fermantasyonun ilerlemesi ile birlikte değişim göstermektedir. Heterojen yapıya rağmen, katı-hal fermantasyonunu doğrudan etkileyen ve reaktör tasarımına bağlı olan diğer parametreler ise nem miktarı, sıcaklık, havalandırma ve karıştırma olarak sıralanabilmektedir. Ayrıca kullanılacak biyoreaktörlerin kullanılacak kültüre ve gerçekleştirilecek fermantasyon tipine göre de uygun şekilde tasarlanması önerilmektedir [98].

4
MATERYAL VE METOT

Atık pirinçten iki adımlı fermantasyon işlemi ile biyobütanol üretim prosesi Şekil 4.1'de gösterilmektedir. Buna göre ilk adımda pirinç içerisindeki yüksek miktardaki nişasta *koji* küfü *A. oryzae* tarafından salgılanan α-amilaz ve glikoamilaz enzimleri ile şekere dönüşmekte ve daha sonra *C. acetobutylicum* YM1 ile şekerden solvent üretimi gerçekleşmektedir.



Şekil 4.1 İki adımlı fermantasyon ile atık pirinçten biyobütanol üretimi

4.1 Mikroorganizmalar ve Ekipmanlar

Deneysel çalışmalar süresince kullanılan mikroorganizmalar, muhafaza koşulları ve tez çalışması süresince kullanılan ekipmanlar aşağıda listelenmektedir.

4.1.1 Kültürlerin Çoğaltılması ve Muhafaza Edilmesi

Biyobütanol üretim çalışmalarında FAO tarafından raporlanan ve özellikle Asya kıtasında en gıda atığı olarak en çok israf edilen ve içerdiği yüksek miktardaki nişasta sayesinde biyoyakıt üretimi için uygun bir karbon kaynağı olarak tercih edilen pirinç yerel marketlerden alınarak işlenmiştir. Katı-hal fermantasyonu

yoluyla nişastanın şekere dönüşüm işleminde kullanılan *A. oryzae* (*koji* küfü, mikrobiyal sakkarifikasyon işlemi) kültürleri Japonya'nın Tokyo şehrinde bulunan Nihon Jyozo Kogyo Ltd. şirketi tarafından gönderilmiş ve +4 °C'de saklanmıştır. Diğer taraftan, ABE fermantasyonunda kullanılan ve aerotolerant bir yabani kültür olan *C. acetobutylicum* YM1 ise Malezya Ulusal Üniversitesi'nden temin edilerek -80 °C'de tryptone yeast extract acetate (TYA) sıvı besiyeri ile %50 gliserol çözeltisinde saklanmıştır. Her iki mikroorganizma da uygun kültür büyütme işlemleri ardından fermantasyon çalışmalarında kullanılmıştır. *A. oryzae*'nin büyütme ve spor elde etme işlemlerinde Czapak Dox agar (CDA) besiyerinde 30 °C'de 5 gün süreyle büyütülmüş, daha sonra kullanılmak üzere 4 °C'de saklanmıştır. CDA besiyeri bileşimi, 30 g/L sükroz, 3 g/L $NaNO_3$, 0,5 g/L $MgSO_4.7H_2O$, 0,5 g/L KCl, 0,01 g/L $FeSO_4.7H_2O$, 1 g/L K_2HPO_4 ve 15 g/L agardan oluşmaktadır. *C. acetobutylicum* YM1 (GenBank erişim numarası: KC969670, aerotolerant ve fermentatif kültür) ise TYA besiyeri ile stoklanmış ve kültür aktivasyonu yine hazırlanıp steril edilen TYA besiyeri içerisinde gerçekleştirilmiştir. Bakterilerin endosporlarının parçalanması ve solvent üretimi için aktif faz geçişi stok kültürün vida kapaklı cam tüpte bulunan steril TYA besiyerine transfer edildikten sonra (%10, hacimce) bir dakika boyunca kaynayan su içerisinde ısıl şoka maruz bırakılmıştır. Daha sonra tüp buzlu su içerisinde aniden oda sıcaklığına soğutulmuş ve gaz üretimi gözlenene kadar 30 °C'de inkübe edilmiştir. Kültür aktivasyonunda kullanılan TYA besiyeri 20 g/L glikoz, 6 g/L tripton, 2 g/L maya ekstraktı, 3 g/L $C_2H_7NO_2$, 0,5 g/L KH_2PO_4, 0,3 g/L $MgSO_4.7H_2O$ ve 0,01 g/L $FeSO_4.7H_2O$ kimyasallarından oluşmaktadır. Ek olarak fermantasyon ortamının bütanol üretim performansına etkilerinin incelenmesi amacıyla deneysel çalışmalarda RCM de kullanılmıştır. Hazırlanan RCM besiyeri 10 g/L pepton, 10 g/L et ekstraktı, 3 g/L maya ekstraktı, 5 g/L NaCl, 0,5 g/L sistein HCl, 3 g/L sodyum asetat ve 0,5 g/L agardan oluşmaktadır.

4.1.2 Kullanılan Ekipmanlar

Deneysel çalışmalar süresince kullanılan ekipmanlar ve kullanım amaçları ile ilgili temel bilgiler aşağıda listelenmiştir.

- UV-Vis spektrofotometre (Shimadzu UV mini-1240 & Spectrum SP-2000UV): İndirgenmiş şeker miktarının belirlenmesi (540 nm) ve bakterilerin optik yoğunluklarının ölçümü (optical density, OD_{600}) için kullanılmıştır.

- Gaz kromatografisi (Shimadzu GC-2010 & Agilent Technologies 5975-GC System) ve alev iyonizasyon dedektör (FID) sistemi: ABE fermantasyonu sonunda üretilen asit ve solvent miktarlarının tayini için kullanılmıştır.

- Soğutmalı mikrosantrifüj (Tomy MX-105): Bakterilerin çöktürülerek fermantasyon ortamından ayrılması işleminde kullanılmıştır.

- Yüksek hızlı ve soğutmalı santrifüj (Himac CR2OG & Beckman Coulter Allegra X-30R): Katı-hal fermantasyonu ürünlerinin kurutma, öğütme ve çözdürme sonrası ABE fermantasyonuna hazırlığı için ve ABE fermantasyonu ürünlerinin ise GC analizine hazırlığı için kullanılmıştır.

- İnkübatör (Memmert UN55): Kültür büyütme işlemleri için kullanılmıştır.

- Bilyeli öğütücü (Retsch MM400): Sakkarifikasyon işlemi tamamlanmış ve kurutulmuş pirincin öğütülmesi için kullanılmıştır.

- Otoklav (Hirayama HVE-50 & Hirayama HMC): Besiyeri ve fermantasyon ortamlarının sterilizasyon işlemlerinde kullanılmıştır.

- Kurutma fırını (Yamato DN83): Sakkarifikasyon işlemi tamamlanmış pirincin neminin uzaklaştırılması işlemi için kullanılmıştır.

- Çalkalamalı inkübatör (JSR JSSI-200): Çalkalamalı ortamda ABE fermantasyonunun gerçekleştirilmesi amacıyla kullanılmıştır.

- Güvenlik kabini (Bio Clean Bench – Sanyo & ESCO Class II BSC): Tüm kültür ekimleri, büyütme ve fermantasyon başlatma işlemleri güvenlik kabini içerisinde gerçekleştirilmiştir.

4.2 Katı-Hal Fermantasyonu

Katı-hal fermantasyonu, *koji* küfü olarak tanımlanan *Aspergillus oryzae* tarafından pirinç nişastasını şekere dönüştürmek için kullanılan bir işlem olup, ABE fermantasyonu öncesi solvent üretim verimi arttırması amacıyla uygulanmıştır.

Buna göre, sakkarifikasyon işlemi 50 saat boyunca sıcaklık ve nem kontrollü hazne içerisinde gerçekleştirilmiştir. Numune hazırlık aşaması olarak yaklaşık 500 g pirinç 1 saat kadar kaynamış su buharına maruz bırakılmış daha sonra pirinç sıcaklığı 40 °C civarına gelene kadar soğutulmuştur. Soğuyan ve nemli halde bulunan pirinç üzerine yaklaşık 2,5 g pirinç tozu ve *A. oryzae* spor (α-amilaz: 2547 U/g ve glikoamilaz: 566 U/g) karışımı eklenmiştir (7/1, ağırlıkça). Homojen bir karışım elde edildikten sonra, fermantasyon sabit sıcaklık (30-32 °C) ve bağıl nemde (bağıl nem %90-92) 50 saat boyunca devam etmiş ve belirli aralıklarla numune alınarak nem ve indirgenmiş şeker analizleri gerçekleştirilmiştir. Sabit sıcaklık ve neme ek olarak, yeterli seviyede aerobik ortamın oluşması ve homojenliğin korunması amacıyla belirli aralıklarda fermantasyon ortamı karıştırılmıştır [27], [143], [144]. Numuneler belirli zaman aralıklarında toplanarak enzimatik aktivitenin durması için -20 °C'de muhafaza edilmiş ve ABE fermantasyonuna hazırlanarak solvent üretiminde kullanılmıştır. Pirinçteki nem miktarı kurutma işleminin öncesi ve sonrasında yapılan tartımlar ile belirlenmiş, şeker miktarı ise kurutma, öğütme ve distile su içerisinde çözdürme işlemleri ardından DNS yöntemi uygulanarak belirlenmiştir [145]. Son olarak, pirinç numunesi içerisindeki nişasta içeriği ise GMMAY 88 standartlarına göre belirlenmiştir.

4.2.1 Şekerlerin Sınıflandırılması ve DNS Yöntemi

Katı-hal fermantasyonu ile pirinç içerisindeki nişastanın şekere dönüşümü tamamlanmış ve indirgeyici şeker miktarları dinitrosalisilik asit (DNS) yöntemi kullanılarak belirlenmiştir.

4.2.1.1 Şekerlerin Sınıflandırılması

Şekerlerin sınıflandırılması konusunda ortaya çıkan temel kavramlar toplam serbest şeker, indirgeyici şeker ve indirgeyici olmayan şeker olarak listelenebilmektedir. Mono, di ve oligosakkaritler toplam serbest şekerleri oluştururken, bir indirgeme ajanı olarak hareket edebilen toplam indirgeyici şeker, tüm monosakkaritlerden, maltozdan ve onun oligosakaritlerinden oluşmaktadır. Yani, indirgeyici şeker olarak sınıflandırılan bu ajanlar glikoz,

früktoz, laktoz gibi şekerlerden oluşmakta ve Maillard ya da Benedict reaksiyonlarında indirgeyici olarak davranmaktadır. Toplam serbest şekerlerden indirgeyici şeker gruplarını ayırdığımızda geriye kalan grup ise indirgeyici olmayan şekerler olarak tanımlanmaktadır. İndirgeyici şeker miktarı genel olarak 3,5-dinitrosalisilik asit kullanılarak uygulanan dinitrosalisilik asit (DNS) yöntemi ile belirlenmektedir [145], [146].

4.2.1.2 DNS Yöntemi

Birçok reaktif, kantitatif analiz yöntemi ile şeker tayini işleminde kullanılmakta ve toplam indirgeyici şeker miktarını vermektedir. DNS yönteminde, ajan olarak 3,5-dinitrosalisilik asit kullanılmakta ve gerçekleşen reaksiyon esnasında indirgeyici şeker kimyasal olarak form değiştirdiğinde bir elektronunu vermektedir. Bu durumda 3,5-dinitrosalisilik asit 3-amino-5-nitrosalisilik asite dönüşür ve bu da 540 nm dalga boyundaki ışığı absorblamaktadır. Bu sayede Ultraviyole ve görünür ışık (UV-Vis) absorbsiyon spektroskopisi ile absorblanan ışık miktarı 540 nm'de ölçülmekte ve bu değer de 3-amino-5-nitrosalisilik asit miktarını yani indirgeyici şeker miktarını vermektedir [145].

DNS ajanının hazırlanması: 500 ml distile su içerisine 3,73 g 3,5-dinitrosalisilik asit ve 7,39 g NaOH eklenmiş ve çözünme işlemi gerçekleştikten sonra 108 g $KNaC_4H_4O_6.4H_2O$, 2,68 g fenol (eritilmiş halde, 50-60 °C) ve 2,93 g $Na_2S_2O_5$ eklenerek karışım homojen hale getirilmiştir. Hazırlanan çözelti karanlık ortamda muhafaza edilerek, uygun seyreltme işlemleri ardından kullanılmaktadır [91], [145].

4.3 ABE Fermantasyonu

ABE fermantasyonu farklı parametrelerin fermantasyon verimine etkilerinin incelenmesi amacıyla farklı şartlarda hazırlanmış numuneler ile gerçekleştirilmiş ve belirli zaman aralıklarında alınan numunelerin bileşimleri kullanılan ekipmanlar ile tayin edilmiştir.

4.3.1 ABE Fermantasyonu İçin Numunelerin Hazırlanması

ABE fermantasyonu yoluyla bütanol üretim işlemlerinde karbon kaynağı olarak yalnızca sakkarifiyasyon işlemi tamamlanmış pirinç kullanılmıştır. Diğer taraftan, karbon kaynağının fermantasyon ürün konsantrasyonuna etkilerini incelemek için deneylerin bir kısmı ön muamele görmüş pirinç yerine glikoz kullanılarak yürütülmüştür. Katı-hal fermantasyonu sonucu şeker dönüşümü tamamlanmış pirinç numuneleri 60°C'de 4 saat boyunca kurutulmakta ve bilyeli öğütücü yardımıyla partikül boyutu düşürülmektedir. Kurutma işlemi esnasında gerçekleşen ağırlık kayıplarından pirincin nem miktarı hesaplanmıştır. Daha sonra, öğütülmüş pirinç distile su ile (%7,5 ağırlıkça) 4 saat karıştırılmış (75 °C, 800 rpm) ve santrifüj işlemi (10000 rpm, 5 dakika) ile çözünmeyen katı partikül ayrılmıştır. Sıvı fazın şeker içeriğinin belirlenmesi için yapılan ölçümler tamamlandıktan sonra, gerçekleştirilecek fermantasyon işlemine göre uygun oranlarda şekersiz besiyeri ile seyreltilmiş ve ABE fermantasyonunda kullanılmıştır. Benzer şekilde, pH ayarlamaları ve sterilizasyon (121 °C, 20 dk otoklav) işlemleri de numuneye göre farklılık göstermekte ve deneysel aşamalarda belirtilmektedir.

4.3.2 ABE Fermantasyonu ile Solvent Üretimi

Biyobütanol üretimi için uygulanan ABE fermantasyonu kesikli sistem olarak 125 ml'lik vida kapaklı şişeler içerisinde 75 ml çalışma hacmi ile 120 saat boyunca gerçekleştirilmiştir. ABE fermantasyonunda solvent üretimi için önemli parametrelerden olan karıştırma hızı, başlangıç şeker konsantrasyonu, başlangıç pH'ı, azot ortamı, besiyeri bileşimi ve sterilizasyon etkileri incelenmiş, son ürün konsantrasyonları belirlenmiştir. Fermantasyon besiyerinin solvent üretim verimine etkisini incelemek amacıyla TYA ya da RCM'den oluşan farklı numuneler kullanılmıştır. Şeker kaynağı olarak ise katı-hal fermantasyonundan ürün olarak elde edilen pirinç ya da glikoz kullanılmıştır. Aerobik örneklerin fermantasyon işlemi azot kullanılmadan, anaerobik örneklerin ise kültür inokülasyonu öncesi fermantasyon ortamının filtreden geçirilen azot basılması ile sağlanan anaerobik ortamda gerçekleştirilmiştir. Steril numunelerin fermantasyon süreci, bakteri

inokülasyonu öncesi fermantasyon ortamının otoklavda steril edilmesi ile, steril olmayan örneklerin işlemi ise numunelerin otoklavlanmadan direkt bakteri ekiminin yapılması ile tamamlanmıştır. Numunelerin başlangıç şeker konsantrasyonları, şekersiz besiyeri (TYA ya da RCM) ile uygun seyreltme işlemleri ile ayarlanmıştır. Son olarak, numunelerin başlangıç pH değerleri 1 M HCl ya da 1 M NaOH ile istenen seviyeye getirilmiştir. ABE fermantasyonu 20 saat inkübe edilmiş aktif kültürler ile gerçekleştirilmiş olup, belirli zaman aralıklarında numuneler alınması ile ürün ve arta kalan şeker miktarları belirlenmiştir. Verilen tüm sonuçlar üç tekrarlı deneyin ortalama sonuçlarıdır.

4.3.3 Analiz

Belirli aralıklarla hem katı-hal fermantasyonundan hem de ABE fermantasyonundan toplanan numunelerde ürün analizleri yapılmıştır. Buna göre katı-hal fermantasyonundan alınan numunelerde nem ve indirgenmiş şeker miktarları ölçülürken, ABE fermantasyonu numunelerinde ise asit, solvent, indirgenmiş şeker, pH ve optik yoğunluk (600 nm, UV-Vis. Spektrofotometre) ölçümleri gerçekleştirilmiştir. İndirgenmiş şeker miktarları DNS yöntemine göre belirlenmiş (540 nm, UV-Vis. Spektrofotometre), nem miktarları ise kurutma sırasında gerçekleşen ağırlık kayıplarından hesaplanmıştır. ABE fermantasyonundaki asit ve solvent ölçümleri için fermantasyondan alınmış numunelerin eş hacimde diklorometan (DCM) ile karıştırıldıktan sonra 10000 rpm'de 10 dk santrifüj edilmiş ve alt faz gaz kromatografisinde analiz edilmiştir. Gaz kromatografisinde dedektör olarak alev iyonizasyon dedektörü kullanılırken, kolon olarak kapiler kolon (Equity 1™; 30 m x 0,25 mm x 0,25 μm) kullanılmıştır. Taşıyıcı gaz olarak 0,5 ml/dk hacimsel debi ile azot gazı kullanılırken, fırın sıcaklık programı ise 40 °C'den 130 °C'ye 8 °C/dk ısıtma hızı şeklinde ayarlanmıştır. Son olarak, gaz kromatografisinde bulunan enjektör ve dedektör sıcaklıkları 280 °C'de sabit tutulmuştur.

Elde edilen solvent üretim ve şeker tüketim miktarları kullanılarak prosesin etkinliği şeker dönüşüm oranı, solvent dönüşüm oranı, kültür üretkenliği ve genel verim cinsinden aşağıdaki eşitlikler ile hesaplanmaktadır [147]. İlk olarak, ABE

fermantasyonuda gerçekleşen şeker dönüşüm oranı (g/g) eşitlik (4.1) ile verilmektedir.

$$\text{Şeker dönüşüm oranı (g/g)} = \frac{\text{Tüketilen şeker konsantrasyonu (g/L)}}{\text{Başlangıç şeker konsantrasyonu (g/L)}} \quad (4.1)$$

Solvent dönüşüm oranı için kullanılan eşitlik (4.2) aşağıda verilmiş ve üretilen ABE miktarının tüketilen şeker miktarına oranlanması ile hesaplanmıştır.

$$\text{Solvent dönüşüm oranı (g/g)} = \frac{\text{ABE konsantrasyonu (g/L)}}{\text{Tüketilen şeker konsantrasyonu (g/L)}} \quad (4.2)$$

Fermantasyon performansını etkileyen diğer parametre ise kültürlerin üretkenliğidir. Bu da aşağıda verilen eşitlik (4.3) ile belirlenmekte ve eşitliğe göre belirli zamana kadar üretilen ABE miktarının o miktardaki üretime erişmek için geçen süreye oranı ile hesaplanmaktadır [147].

$$\text{Üretkenlik (g/L.saat)} = \frac{\text{ABE konsantrasyonu (g/L)}}{\text{Fermantasyon süresi (saat)}} \quad (4.3)$$

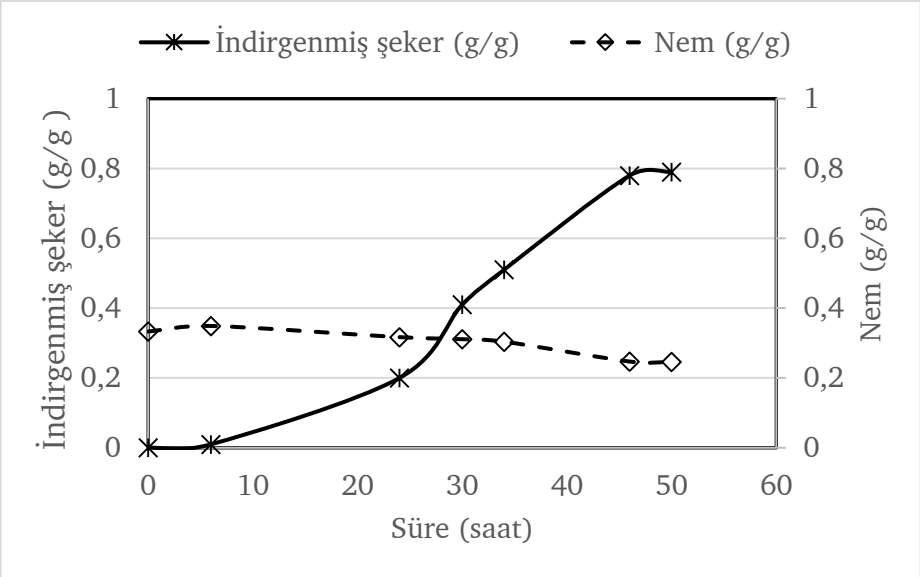
Son olarak, endüstriyel boyutta üretim ya da mevcut bir karbon kaynağının biyoyakıt üretim potansiyelini belirlemek için ise genel verim kullanılmış ve aşağıda verilen eşitlik (4.4) ile hesaplanmıştır [148].

$$\text{Genel verim (g/kg)} = \frac{\text{ABE konsantrasyonu (g/L)}}{\text{Atık pirinç konsantrasyonu (g/L)}} * 1000 \quad (4.4)$$

5
BULGULAR VE TARTIŞMA

5.1 Katı-Hal Fermantasyonu

Katı-hal fermantasyonunun ortam pH'ı, sıcaklığı, oksijen miktarı, nemi ve mikroorganizma türü gibi birçok parametreye bağlı olduğu bilinmektedir [124], [127]. Bu sebeple, 50 saat boyunca kontrollü sıcaklık (30°C) ve nem (%90-92 bağıl nem) programı ile fermantasyon gerçekleştirilmiş, homojenliğin sağlanması amacıyla fermantasyon bileşimi 20 saat arayla karıştırılarak havalandırılmıştır. Belirli aralıklarla alınan numunelerdeki nem miktarları ve indirgenmiş şeker miktarları ölçülmüş ve Şekil 5.1'de gösterilmektedir.



Şekil 5.1 Katı-hal fermantasyonu ile nişastadan şeker üretim profili; pirincin zamana bağlı nem ve şeker miktarı değişimleri

Buna göre, nişasta kaynağı olarak kullanılan buhar ile muamele edilmiş pirincin nem içeriği başlangıçta yaklaşık %33,3 seviyelerinde iken, ilk 6 saat sonunda hafif artış ile %34,9'a yükselmekte ve sonra azalma eğilimi göstermektedir. Fermantasyonun sona erdiği 50. saatte ise nem miktarı %24,6 olarak hesaplanmıştır. Başlangıçtaki yüksek nem seviyesi, *A. oryzae*'nin büyümesi ve

enzimatik aktiviteleri için önemli yer tutmaktadır. İlk 6 saat sonundaki yükselişin sebebi ise *A. oryzae*'nin misella oluşturmak için su tüketimini azaltmasından kaynaklanmaktadır [129]. Diğer taraftan, kontrolsüz nem artışı durumunda ise pirinçteki yapışkanlığın artması gözlemlenmiş ve yapışkan ortamın sebep olduğu yetersiz oksijen transferi ile sporların çoğalması fermantasyonun erken aşamalarında sona ermiştir. Düşük nem şartlarında ise, düşük besin çözünmesi sebebiyle küflerin büyümesi ve enzim salgılama performansları benzer şekilde olumsuz yönde etkilenmiştir [143]. Bu yüzden nem değeri eş zamanlı nem ölçümleri ile %90 seviyelerinde sabit tutulmuş ve kontrollü karışım işlemleri ile numunenin tüm bölgelerinin havalanması sağlanmıştır. Havalandırma ve neme ek olarak, literatürdeki bir diğer çalışmalarda ise sıcaklığın α-amilaz ve glikoamilaz salgılanmasında en önemli parametrelerden olduğu belirtilmekte ve inkübasyon sıcaklığındaki artış, küflerin enzim salgılama kapasitesinde kayda değer bir azalmaya sebep olduğu ifade edilmektedir [27], [29], [127].

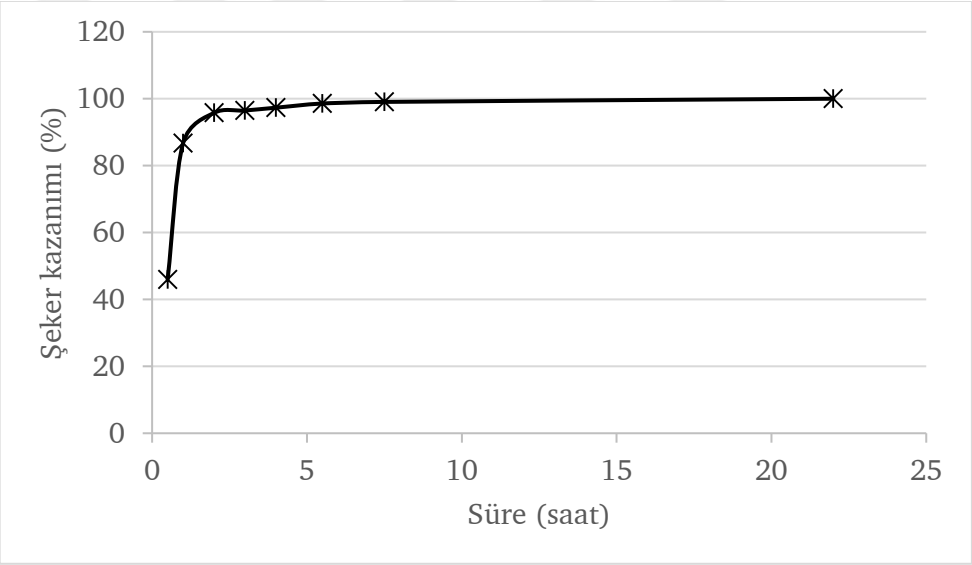
Tablo 5.1 Katı-hal fermantasyonu süresince ölçülen nem ve indirgenmiş şeker miktarları

Süre (saat)	Nem (g/g)	Şeker (g/g kuru ağırlık)
0	0,333	0
6	0,349	0,01
24	0,317	0,20
30	0,311	0,41
34	0,304	0,51
46	0,247	0,78
50	0,246	0,79

Şekil 5.1'de görüldüğü gibi şeker üretimindeki önemli artış özellikle 24. saat sonrasında gözlenmiş ve misel oluşumu tamamlandıktan sonra nişastanın şekere dönüşümü hızlanmıştır. Fermantasyonun tamamlanması ile birlikte ölçülen şeker miktarı ise 1 g kurutulmuş pirinç başına 0,79 ± 0,02 g olarak hesaplanmıştır (Tablo 5.1). Katı-hal fermantasyonu öncesi GMMAY 88 standartları ile

gerçekleştirilen nişasta ölçümü 87,34 ± 0,41 g nişasta/ 100 g kuru pirinç olarak sonuçlanmıştır. Buna göre toplam şeker üretim verimi ise 0,82 ± 0,02 olarak hesaplanmıştır [144].

Şeker dönüşümü tamamlanan pirinç numuneleri içindeki şekerin kazanımı ve ABE fermantasyonunda kullanımı için öncelikle kurutma işlemi uygulanmış daha sonra da öğütme ve çözdürme işlemleri uygulanmıştır. Su içerisinde çözünme sürelerine göre elde edilen şeker miktarları ise Şekil 5.2'de gösterilmektedir. Buna göre, kısa süreli çözdürme işlemlerinde (4 saatten daha düşük) şekerin yaklaşık %5'lik kısmının kazanılamadığı, daha uzun süreli beklemelerde ise karışımın fiziksel yapısında bozunmalar ve renk değişimleri gözlemlenmiştir. Buna göre uygun süre yaklaşık 4 saat olarak belirlenmiş ve şeker kazanımı ise %97'in üzerinde olduğu hesaplanmıştır.



Şekil 5.2 Katı-hal fermantasyonu sonucu şekere dönüştürülen pirinçten zamana bağlı olarak şeker geri kazanım profili

Şekil 5.3'te deney öncesi ve sonrası pirinç yüzeyindeki değişimler gözlemlenmektedir. İlk görsel numunelerin hazırlanması; pirinç tozu (beyaz) ve *koji* küfü sporu (yeşil) içerirken ikinci görsel 50 saat sonunda şeker dönüşümü tamamlanmış pirinci göstermektedir. Buna göre fermantasyon etkin olarak tamamlandığında pirinç yüzeylerinde kristal yapıda şeker oluşumları gözlenmektedir. Nemli yapı sebebiyle bazı bölgelerde topaklanmalar da

mevcuttur. Ancak, topaklanmanın fermantasyonun erken aşamalarında gerçekleşmesi durumunda ise iç bölgelere yeterli oksijen taşınmaması sebebiyle o bölgelerde dönüşüm gerçekleşmemiş ve şeker miktarları yetersiz seviyede kalarak deneyler tekrar gerçekleştirilmiştir.



Şekil 5.3 Pirinç numunelerinin pirinç tozu ve *A. oryzae* sporları ile katı-hal fermantasyonunun gerçekleştirilmesi

5.2 ABE Fermantasyonu

ABE fermantasyonunda besiyeri, karıştırma hızı, başlangıç şeker konsantrasyonu, başlangıç pH değeri ve aerobik durum ile sterilizasyon etkisinin solvent üretimine etkilerinin incelenmesi amacıyla farklı şartlar altında deneyler gerçekleştirilmiştir. Her bir basamakta, elde edilen bütanol ve toplam ABE konsantrasyonlarına göre uygun şartlar belirlenmiş ve çalışmalara o koşullarda devam edilmiştir.

5.2.1 Besiyerinin Solvent Üretimine Etkisi

Kültürlerin büyümesinde ve fermantasyon veriminde önemli yer tutan besiyerinin şeker tüketim ve solvent üretim verimlerine etkilerinin incelenmesi amacıyla ABE fermantasyonu Reinforced clostridial medium (RCM) ve Tryptone yeast extract acetate (TYA) besi yerleri kullanılarak gerçekleştirilmiş, üretilen solvent miktarları karşılaştırılmıştır.

5.2.1.1 Reinforced Clostridial Medium (RCM)

ABE fermantasyonu, katı-hal fermantasyonu ile şeker dönüşümü tamamlanmış pirinç numuneleri ile gerçekleştirilmiştir. %50 gliserol içerisinde stoklanan *C. acetobutylicum* YM1 kültürü, vida kapaklı cam tüp içerisinde steril edilmiş RCM besiyerine transfer edilmiş ve filtreden geçirilen azot ile anaerobik ortam sağlandıktan sonra ısıl şoka maruz bırakılarak kültür aktivasyonu sağlanmıştır. Önce 48 saat 30 °C'de cam tüpte gelişen kültür, daha sonra taze besiyerine inoküle edilmiş (%10, hacimsel oran) ve 20 saat inkübasyondan sonra fermantasyon başlatılmıştır. Fermantasyon besiyeri olarak RCM kullanılmış ve şeker kaynağı ise yalnızca katı-hal fermantasyonu ürünü olan pirinçten sağlanmıştır. Numunelerin başlangıç pH değerlerine herhangi bir müdahale yapılmamış olup fermantasyon pH yaklaşık 6,5 değeri ile anaerobik şartlarda başlatılmıştır. Tablo 5.2'de katı-hal fermantasyonu ile şeker dönüşümü tamamlanmış pirinçlerin uygun besiyeri ortamına alınarak karbon kaynağı olarak kullanılması sonucu üretilen solvent miktarları listelenmiştir. Buna göre 50 mL'lik RCM besiyerinde hazırlanmış numunelerin indirgenmiş şeker konsantrasyonları 30, 40, 50 ve 60 g/L olarak ayarlanmıştır ve fermantasyon sonunda maksimum ABE konsantrasyonu 60 g/L numunesinde 5,45 g/L olarak ölçülmüştür. En düşük solvent miktarı ise 0,24 g/L olarak verilmektedir.

Tablo 5.2 ABE fermantasyonu ile RCM besiyeri ortamında atık pirinçten solvent üretimi

Numune	Son şeker (g/L)	Son pH	Aseton (g/L)	Bütanol (g/L)	Etanol (g/L)	ABE (g/L)
30 g/L şeker	16,6	4,88	0,15	0,06	0,03	0,24
40 g/L şeker	19,9	4,86	0,82	0,48	0,04	1,34
50 g/L şeker	27,8	4,88	1,43	1,25	0,06	2,74
60 g/L şeker	29,0	4,85	1,85	3,53	0,07	5,45

Tablo 5.2'de gösterildiği gibi, başlangıç indirgenmiş şeker miktarı 60 g/L olan numunede 72 saat sonunda harcanmamış indirgenmiş şeker miktarı ise yaklaşık

29 g/L olarak ölçülmüştür. Buna göre solvent üretim verimi 0,18 g/g, kültür üretkenliği 0,08 g/L.saat ve şeker tüketim verimi ise 0,52 g/g olarak hesaplanmıştır. Tablo 5.3'te RCM besiyeri ile elde edilen sonuçların literatürde yayınlanmış sonuçlar ile kıyaslaması verilmektedir. ABE üretiminde elde edilen son ürün konsantrasyonları bakteri suşuna, fermantasyonda kullanılan besiyerine, ham maddeye, fermantasyon şartlarına bağlı olarak değiştiği ve her bir bakteri kültürü ya da besiyeri için bu şartlar değişkenlik gösterebildiği bilindiği için, çalışmalar TYA besiyeri ile de sürdürülmüştür.

Tablo 5.3 Elde edilen sonuçların literatürdeki çalışmalar ile kıyaslanması

Ham madde	Bakteri kültürü	ABE (g/L)	Referans
Atık pirinç	*C. acetobutylicum* YM1	5,45	Bu çalışma
Meyve demeti	*C. acetobutylicum* ATCC 824	4,45	[23]
Sago özü	*C. acetobutylicum* ATCC 824	4,22	[149]
Tatlı patates	*C. acetobutylicum* ATCC 824	9,5	[150]

5.2.1.2 Tryptone Yeast Extract Acetate (TYA)

ABE fermantasyonunda kullanılan besiyerinin fermantasyon ürünlerine etkisinin incelenmesi amacıyla TYA kullanılarak farklı pirinç miktarları ile deneyler sürdürülmüştür. Bu işlem de anaerobik şartlarda 72 saat boyunca gerçekleştirilmiş olup, numune pH'larına asit ya da baz eklenmesi gibi herhangi bir müdahale yapılmamıştır. Tablo 5.4'te verilen sonuçlara göre, 60 g/L indirgenmiş şeker konsantrasyonu ile gerçekleştirilen fermantasyonda en yüksek ürün miktarlarına ulaşılmış ve 3,72 g/L aseton, 9,43 g/L bütanol, 0,22 g/L etanol olmak üzere toplam 13,37 g/L ABE üretilmiştir.

RCM besiyerine göre daha etkin sonuçlar alınan TYA besiyerinde, 60 g/L indirgenmiş şeker konsantrasyonu ile başlanan deneyde fermantasyon sonunda harcanmayan şeker miktarı 21,2 g/L olarak ölçülmüş ve buna göre şeker tüketim verimi 0,66 g/g, solvent üretim verimi 0,34 g/g ve kültür üretkenliği ise 0,19 g/L.saat olarak hesaplanmıştır. Ayrıca, ham maddenin fermantasyon

performansına etkisini incelemek amacıyla pirinçten elde edilen indirgenmiş şekerler ile gerçekleştirilen deneylere ek olarak, bir numune de yalnızca glikoz kullanılarak hazırlanmıştır.

Tablo 5.4 ABE fermantasyonu ile TYA besiyeri ortamında işlenmiş pirinçten solvent üretimi

Numune	Son şeker (g/L)	Son pH	Aseton (g/L)	Bütanol (g/L)	Etanol (g/L)	ABE (g/L)
30 g/L şeker	0,1	4,94	2,96	7,08	0,17	10,21
40 g/L şeker	4,6	4,87	3,39	8,76	0,20	12,35
50 g/L şeker	11,3	4,85	3,57	9,10	0,22	12,89
60 g/L şeker	21,2	4,83	3,72	9,43	0,22	13,37
50 g/L glikoz	11,9	4,77	3,95	9,62	0,22	13,79

Bu da benzer ABE üretim miktarlarına erişmekte ve 72 saat sonunda toplam 13,79 g/L ABE konsantrasyonuna ulaşmaktadır. Substrat tüketim verimi ise diğer numunelere göre kıyasla daha yüksek seviyelere ulaşmakta ve karbon kaynağının yaklaşık %77,4'ünün tüketildiği görülmektedir. Bu farklılığın sebebi ise katı-hal fermantasyonu ile şeker dönüşümü tamamlanmış pirinç içerisinde farklı şeker moleküllerinin olması, diğer numunede ise yalnızca glikoz bulunması olarak yorumlanabilmektedir. Karbon kaynağı cinsi de fermantasyon verimini önemli ölçüde etkilemektedir [151]. Diğer taraftan, TYA ile gerçekleştirilen ABE fermantasyonunun RCM ile gerçekleştirilen işlemlere kıyasla oldukça yüksek verimle sonuçlandığı gözlemlenmiştir. Bunun bir sebebi de KH_2PO_4 içeren TYA besiyerinde, bu bileşenin fermantasyon süresince ani pH değişimlerini baskılaması ve asidojenik-solventojenik faz geçişini dengelemesidir. Yani, ortam pH'ının fermantasyonun erken aşamalarında üretilen asetik asit ve bütirik asit nedeniyle 5'in altına düşmesinin ardından bakteriler asidojenik fazdan solventojenik faza geçiş yapmakta ve üretilen asitlerin solvente dönüşümü gerçekleşmektedir. Bu geçiş ne kadar geç olursa asit üretimi için kullanılan şeker miktarı daha yüksek olmakta yani üretilen asit miktarı artmakta ve böylece solventojenik fazda solvent

üretimi için kullanılabilecek asit miktarının daha yüksek olması sağlanmaktadır [23], [51], [64], [149]. TYA besiyeri kullanımı ile elde edilen solvent verimleri daha yüksek olduğu için deneysel çalışmalarda, *C. acetobutylicum* YM1 canlandırma işlemi ve kültür büyütme işlemlerinde bu besiyeri ile devam edilmiştir.

5.2.2 pH Değeri ve Karıştırma Hızının Solvent Üretimine Etkisi

ABE fermantasyonu ile solvent üretim işlemlerinde, kültür inokülasyonu öncesi numunenin pH değeri ve fermantasyon boyunca numunelerin karıştırılma hızlarının solvent üretim performansına etkilerini incelemek amacıyla farklı seviyelerde karıştırma hızı ve pH ayarlamaları yapılmış ve deneyler 120 saat boyunca gerçekleştirilmiştir. Fermantasyonda karbon kaynağı olarak sakkarifiye edilmiş pirinç (50 g/L indirgenmiş şeker), besiyeri olarak ise TYA kullanılmıştır. Numunelerin pH değerleri 1 M HCl asit ya da 1 M NaOH kullanılarak, otoklav işlemi öncesi istenen seviyeye getirilmiştir. Seçilen parametre ve seviyelerin solvent üretimine etkilerini incelemek amacıyla gerçekleştirilen deney sonuçları Tablo 5.5'te verilmiştir.

Tabloda verilen sonuçlara göre en yüksek ABE üretimi, 250 rpm ve 6,2 başlangıç pH değeri ile fermantasyonu gerçekleştirilen numuneye ait olup, 120 saat sonunda toplam 17,02 g/L ABE üretimi elde edilmiştir. Karıştırma işlemi gerçekleştirilmeyen şişelerde şeker tüketim verimleri 0,77 ile 0,87 g/g arasında değişkenlik göstermektedir. En düşük solvent üretimi, başlangıç pH değeri 5,6 olan ve karıştırılmayan numunede elde edilmiş ve %77 şeker tüketim verimi sonucunda 3,46 g/L aseton 9,03 g/L bütanol, 0,16 g/L etanol ile toplam 12,65 g/L ABE üretimi gerçekleşmiştir. Buna göre, bu numunede elde edilen toplam ABE, en yüksek üretime kıyasla yaklaşık %26 daha düşük olduğu görülmektedir. Karıştırılma etkisinin olmadığı, yalnızca başlangıç pH değerinin farklı olduğu numunelerde elde edilen farklı şeker tüketim miktarlarının temel sebebi ise, asidojenik fazdan solventojenik faza geçiş için gerekli asetik asit ve bütirik asit miktarlarının farklı olmasından kaynaklanmaktadır. Yani daha düşük başlangıç pH değeri ile fermantasyona başlandığı durumda az miktarda asit üretimi ile

ortam pH'ı faz geçişine uygun hale gelmekte ve şeker tüketimi yavaşlamaktadır [64].

Tablo 5.5 Numunelerin başlangıç pH değerinin ve karıştırma hızlarının ABE fermantasyonunda solvent üretimine etkileri

Rpm	pH	Şeker (g/L)		Solvent konsantrasyonu (g/L)				Verim (g/g)	
		İlk	Son	Aseton	Bütanol	Etanol	ABE	Şeker	ABE
0	5,6	50	11,5	3,46	9,03	0,16	12,65	0,77	0,33
0	5,8	50	6,8	3,76	10,04	0,20	14,00	0,86	0,32
0	6,0	50	6,7	3,88	10,48	0,20	14,56	0,87	0,34
0	6,2	50	6,4	3,92	10,40	0,19	14,51	0,87	0,33
0	6,4	50	7,3	4,01	10,28	0,20	14,49	0,85	0,34
0	6,2	50	7,9	3,93	9,99	0,23	14,15	0,84	0,34
100	6,2	50	2,6	6,00	10,48	0,21	16,69	0,95	0,35
150	6,2	50	2,5	5,89	10,54	0,23	16,66	0,95	0,35
200	6,2	50	2,6	5,86	10,35	0,23	16,44	0,95	0,35
250	6,2	50	1,8	6,25	10,54	0,23	17,02	0,96	0,35

Solventojenik faz başladığında bütirik asitten bütanol üretim performansı ise fermantasyon iz yolunun bu aşamasında sorumlu enzimler olan bütiraldehit dehidrojenaz, bütanol dehidrojenaz, bütirat kinaz ve fosfotransbütirilazın aktivitelerine bağlıdır [152]. Tablo 5.5'te listelenen sonuçlar göre başlangıç pH değerinin 6,1 ± 0,1 değerlerine ayarlandığında solvent üretim performansının daha verimli olduğu görülmektedir. Literatürdeki çalışmalarda ise farklı kültürlerin farklı başlangıç pH değerlerine ihtiyaç duyduğu anlaşılabilmektedir. Buna göre, bu çalışma ile benzer sonuçlara erişilen bir çalışmada optimum başlangıç pH değeri *C. acetobutylicum* KCTC 1790 kültürü için 6,0 olarak belirlenmiştir [153]. *C. acetobutylicum NRRL* B-527 ile gerçekleştirilen çalışmada optimum pH değeri 6,8 olarak bulunurken [8], *C. acetobutylicum* PTCC 1456 için bu değer 6,5 olmaktadır [51]. Diğer taraftan, *C. acetobutylicum* L7(GlcG) kullanılarak gerçekleştirilen ABE fermantasyonunda optimum pH değeri 5,5

[154], *C. acetobutylicum* NCIMB 13357 için ise 7,0 [155] olması göz önüne alındığında, optimum başlangıç pH değerinin kullanılan suş, besiyeri ve substrata bağlı olarak değişkenlik gösterdiği görülmektedir.

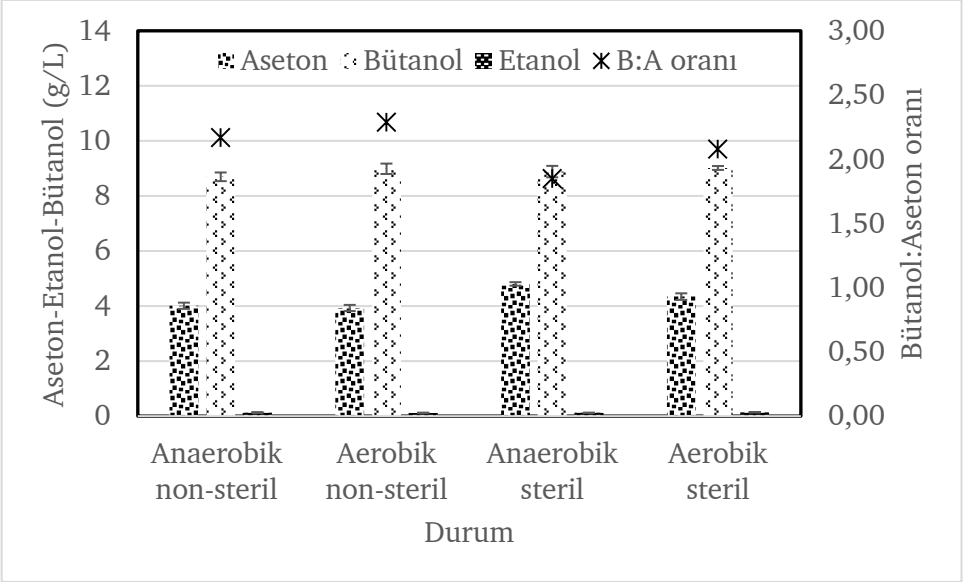
İncelenen bir diğer parametre olan karıştırma etkisine göre, karıştırma işlemi gerçekleştirilen şişelerde şeker tüketim verimleri %95'in üzerinde olarak hesaplanmış ve şeker tüketimi durgun şişelere kıyasla %15'e yakın artış göstermiştir. Elde edilen sonuçların aksine, Maddox ve arkadaşları tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada, asidojenik fazda üretilen H_2 ve CO_2 gazlarının fermantasyon ortamının karışması için yeterli etkiye sahip olduğu, ekstra bir karıştırma işlemine ihtiyaç duyulmadığı ifade edilmektedir [25]. Khamaiseh ve arkadaşları tarafından gerçekleştirilen çalışmada ise en yüksek dönüşüm oranının karıştırılma işleminin uygulanmadığı şişelerde elde edildiği ve karıştırılma hızı arttıkça dönüşüm oranlarında azalma gözlendiği belirtilmiştir. Bu durumu ise karıştırma etkisinin kültür büyümelerine karşı potansiyel inhibisyon etkisinden kaynaklandığı şeklinde yorumlanmıştır [155].

Elde edilen deneysel sonuçlar anlamlılık analizi için ANOVA testinde kullanılmış ve bu analiz yöntemine göre f ve p değerlerinin 0,05'ten küçük olduğu koşullarda o parametrenin anlamlı olduğu ve deneysel sonucu etkilediği anlamı taşımaktadır. Elde edilen solvent üretim sonuçları incelendiğinde ABE üretimini başlangıç pH değeri ve karıştırma hızı, şeker tüketimini ise yalnızca karıştırma hızının önemli ölçüde etkilediği görülmektedir. Gerçekleştirilen deney sonucunda elde edilen verilere göre ilerleyen çalışmalarda başlangıç pH değerinin 6,0-6,2 aralığında, karıştırma hızı ise 100 rpm olarak devam edilmiştir.

5.2.3 Aerobik Şartlar ve Sterilizasyonun Solvent Üretimine Etkisi

Geleneksel olarak ABE fermantasyonu *C. acetobutylicum*'un anaerobik yapısı ve kontaminasyonun önlenmesi amacıyla anaerobik ve steril şartlarda gerçekleştirilmektedir. Mikrobiyal kontaminasyon fermantasyon iz yolunu verimli şekilde tamamlanamaması, var olan karbon kaynaklarının diğer kültürler tarafından tüketilmesi, istenmeyen yan ürün oluşumu ve ana ürünün istenen konsantrasyonlarda üretilememesi gibi etkileri bulunmaktadır [156]. Ayrıca,

endüstriyel boyutta üretim için sterilizasyon ve anaerobik şartların sağlanması önemli bir maliyet getirdiği geçmiş çalışmalarda raporlanmıştır [157]. Ancak bu çalışmada, aerobik ortam yani oksijen varlığının ve steril olmayan koşulların yani diğer mikroorganizmaların varlığının kültür büyütme, solvent üretim performansı ve son ürün konsantrasyonlarına etkilerini incelemek amacıyla değişken şartlarda ABE fermantasyonu gerçekleştirilmiştir. Buna göre, 20 saat büyümüş aktif kültür (OD_{600}=2,61) ile 6,1 ± 0,1 pH değerinde başlatılan ve 120 saat boyunca gerçekleştirilen ABE fermantasyonu sonucu elde edilen bütanol/aseton oranları ve solvent konsantrasyonları Şekil 5.4'te verilmektedir. Yüksek optik yoğunluk ile kültür inokülasyonu sayesinde ortamda bulunan diğer mikroorganizmalar tarafından *C. acetobutylicum*'un büyümesi baskılanamamış ve verimli şekilde solvent üretimi gerçekleşmiştir.



Şekil 5.4 Numunelerin aerobik şartlar ve sterilizasyonunun ABE fermantasyonunda solvent üretimine etkileri

Fermantasyon öncesinde anaerobik numunelerin inokülasyonları filtreden geçirilmiş saf azot gazının besiyerine yaklaşık 5 dakika süreyle gönderildikten sonra gerçekleştirilmiştir. Aerobik şartlar ise herhangi bir müdahale edilmeden hava ortamında inokülasyonların tamamlanması ile sağlanmıştır. Steril numuneler 121 °C'de 20 dk otoklavlanırken, non-steril numunelerde ise herhangi bir sterilizasyon işlemine tabii tutulmadan direkt olarak kültür inokülasyonu

gerçekleşmiştir. ABE fermantasyonu sonucunda üretilen solvent miktarları tüm numunelerde benzer seviyelere erişirken, bütanol aseton oranı yani toplam ABE içerisindeki bütanolün payı değişkenlik göstermektedir. Buna göre, en yüksek bütanol üretimi aerobik ve steril şartlar altında (9,02 g/L) gerçekleşirken, en yüksek B:A oranı aerobik ve non-steril şartlarda (2,29) elde edilmiştir. Toplam ABE miktarları ise 12,73 g/L ile 13,80 g/L arasında değişkenlik göstermektedir. Deneysel çalışmaya ilişkin detaylı sonuçlar Tablo 5.6'da sunulmuştur.

Tablo 5.6 Besiyeri sterilizasyonu ve aerobik şartların *C. acetobutylicum* YM1'in solvent üretim performansına etkisi

Parametre	Anaerobik non-steril	Aerobik non-steril	Anaerobik steril	Aerobik steril
Başlangıç şeker (g/L)	40	40	40	40
Son şeker (g/L)	0,3	0,4	0,8	1,1
Şeker verimi (g/g)	0,99	0,99	0,98	0,97
Son pH	4,83	4,82	4,82	4,80
Asetik asit (g/L)	0,74	0,81	0,67	0,69
Bütirik asit (g/L)	0,37	0,39	0,32	0,28
Aseton (g/L)	4,00	3,92	4,80	4,34
Bütanol (g/L)	8,60	9,03	8,88	9,02
Etanol (g/L)	0,13	0,12	0,12	0,14
ABE (g/L)	12,73	13,07	13,80	13,50
Solvent verimi (g/g)	0,32	0,33	0,35	0,35
Üretkenlik (g/L.saat)	0,11	0,11	0,12	0,11

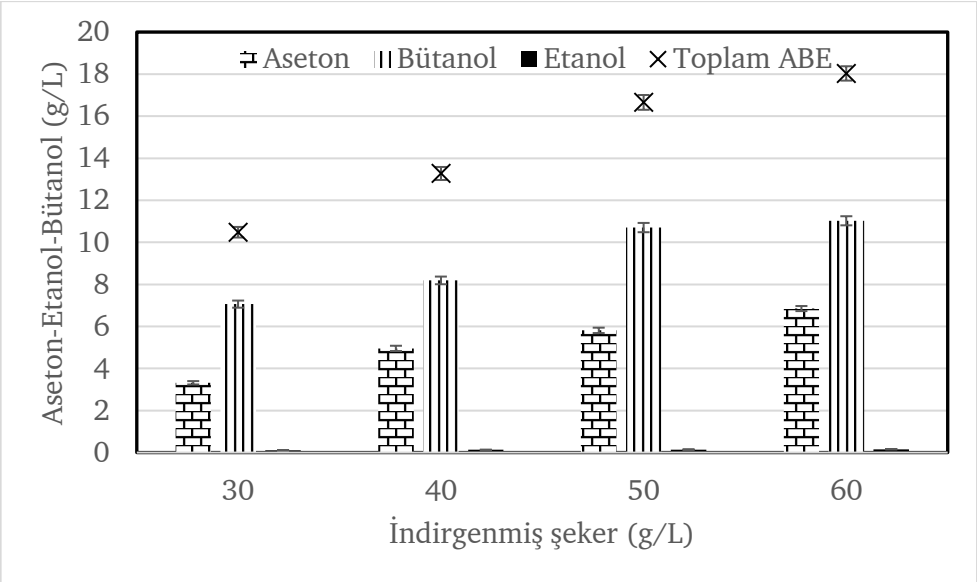
Tablo 5.6'da dört ayrı durum ile gerçekleştirilen ABE fermantasyonundan 120 saat sonunda elde edilen sonuçlar sunulmaktadır. Buna göre 40 g/L indirgenmiş şeker ile gerçekleştirilen fermantasyon işlemlerinde şeker tüketimleri benzer seviyelerde olup, şeker tüketim verimleri %98-99 olarak hesaplanmıştır. Tüketilen şeker miktarları yakın seviyelerdeyken steril olmayan şartlarda elde edilen toplam ABE konsantrasyonlarının steril numunelere kıyasla daha düşük olmasının sebebi, var

olan şeker kaynağının bir kısmının diğer mikroorganizmalar tarafından tüketilmesi ya da steril olmayan şartlarda kültür büyümesinin tamamlanması esnasında daha yüksek miktarda şekere ihtiyaç duyulması olarak yorumlanabilmektedir.

Toplam asit üretimi (bütirik asit ve asetik asit) numuneler arasında benzer dağılım göstermekte ve 0,99 g/L ile 1,20 g/L aralığında değişerek numunelerin son durumda pH değerini 4,80 seviyelerine eriştirmektedir. Ayrıca, steril şartlar altında üretilen solventlerin, steril olmayan şartlar altında üretime göre solvent verimi yönünden daha olumlu sonuç verdiği, fakat ABE fermantasyonu için oldukça zorlayıcı şartlar olan non-steril ve aerobik şartlar altında aerotolerant yabani kültür olan *C. acetobutylicum* YM1'ın solvent üretim performansı umut verici seviyelere ulaştığı görülmektedir. Kültürün 120 saat sonunda eriştiği üretkenlik değeri ise yaklaşık 0,11 g/L.saat olarak hesaplanmıştır.

5.2.4 Başlangıç Şeker Konsantrasyonunun Solvent Üretimine Etkisi

ABE fermantasyonunda başlangıç ham madde miktarı en önemli parametrelerden birisi olarak kabul edilmektedir. Bu durumun temel sebebi ise, fermantasyon faz geçişini sağlayacak miktarda şekerin bulunmaması durumunda solvent üretiminin başlayamaması ve optimum şeker konsantrasyonlarından yüksek miktarlarda şeker ilavesi yapıldığında ise şeker tüketim veriminin ve solvent üretim veriminin azalmasından kaynaklanmaktadır [67], [91]. Bu amaçla, sakkarifiye edilmiş pirinç miktarının yani indirgenmiş şeker konsantrasyonunun solvent üretim miktarlarına etkilerini incelemek amacıyla değişen konsantrasyonlarda şeker içeren numuneler hazırlanmış ve deneyler anaerobik ortamda 120 saat boyunca gerçekleştirilmiştir. İnoküle edilen taze ve aktif kültür 20 saat boyunca inkübe edilmiş ve inokülasyon öncesi kültürün optik yoğunluğu OD_{600}=2,54 olarak ölçülmüştür. Numunelerin başlangıç pH değerleri 1 M HCl kullanılarak 6,1 ± 0,1'e ayarlanmıştır. Fermantasyon sonunda elde edilen solventlerin başlangıç şeker konsantrasyonlarına karşılık değişimleri Şekil 5.5'te gösterilmektedir.



Şekil 5.5 ABE fermantasyonunda başlangıç indirgenmiş şeker konsantrasyonlarının solvent üretimine etkisi

Numunelerin fermantasyon öncesi indirgenmiş şeker konsantrasyonları pirinçten elde edilen şekerin uygun oranlarda TYA besiyeri ile seyreltilmesi sonucu ayarlanmıştır. Böylece, elde edilen seviyeler 30 g/L'den 60 g/L'ye değişkenlik göstermektedir (Tablo 5.7). Fermantasyon sonucunda şeker tüketim verimleri %92 ile %100 arasında değişkenlik göstermekte ve solvent üretim verimlerinin ise 0,33 ile 0,35 g/g aralığında kaldığı görülmektedir. En yüksek ABE üretimi, 60 g/L indirgenmiş şeker konsantrasyonu ile fermantasyonu gerçekleştirilen numunede 18,03 g/L olarak elde edilmiştir. Buna göre, şeker konsantrasyonu arttıkça solvent üretim miktarlarının da arttığı gözlemlenmiş, fakat artan şeker konsantrasyonlarının aynı zamanda şeker tüketim verimlerini de olumsuz olarak etkilediği görülmektedir. Başlangıç şeker konsantrasyonunun 50 g/L'den 60 g/L'ye yükselmesi ile şeker tüketim veriminin %98'den %92 seviyelerine düştüğü gözlemlenmiştir. Bu durumun temel sebebi ise, bütanol konsantrasyonunun 10 g/L'yi aştığı durumlarda kültürler üzerinde oluşturduğu toksik etki sebebiyle mikroorganizmaların şeker taşınım aktivitelerini olumsuz etkilemesinden kaynaklanmaktadır. Geçmiş çalışmalarda da bu konuda substrat miktarının arttıkça kültürlerin bütanol üretim performansında önemli ölçüde değişim gözlendiğini ifade etmektedir [11], [65], [157]. Yapılan bir çalışmada başlangıç

nişasta konsantrasyonunun 40 g/L'den 50 g/L'ye artması ile ABE fermantasyonu sonucu elde edilen bütanol konsantrasyonunun yaklaşık %10 azaldığı ifade edilmiştir [24]. Diğer taraftan *C. acetobutylicum* ATCC 824 ile palm yağı kekinden bütanol üretimi amacıyla gerçekleştirilen bir çalışmada ise optimum indirgenmiş şeker konsantrasyonunu 70 g/L olarak belirlenmiş ve fermantasyon sonucunda 8,17 g/L bütanol ve 13,68 g/L ABE üretimi gözlemlenmiştir [92].

Tablo 5.7 Farklı başlangıç indirgenmiş şeker konsantrasyonlarının ABE fermantasyonu sonuçlarına etkisi

Parametre	Atık pirinç (g/L)			
	37,5	**50**	**62,5**	**75**
Başlangıç şeker (g/L)	30	40	50	60
Son şeker (g/L)	0,0	0,7	1,1	4,7
Şeker verimi (g/g)	1,00	0,98	0,98	0,92
Son pH	4,83	4,82	4,82	4,80
Asetik asit (g/L)	0,17	0,68	0,84	0,78
Bütirik asit (g/L)	0,30	0,26	0,35	0,47
Aseton (g/L)	3,32	4,96	5,81	6,85
Bütanol (g/L)	7,06	8,19	10,70	11,02
Etanol (g/L)	0,10	0,13	0,14	0,16
ABE (g/L)	10,48	13,27	16,65	18,03
Solvent verimi (g/g)	0,35	0,33	0,34	0,34
Üretkenlik (g/L.saat)	0,09	0,11	0,14	0,15

Tablo 5.8'de literatürdeki farklı ham maddelerin kullanımı ve farklı şartlar altında gerçekleştirilen ABE fermantasyonları sonucu elde edilen solvent konsantrasyonları listelenmektedir. Kimyasal ön işlemlerin fermantasyonda kullanılan mikroorganizmalar için inhibitör üretimine sebep olması, enzimatik hidrolizin ise operasyonel maliyetlere ek yük getirdiği bilindiği için farklı yöntemler ile nişastadan bütanol üretim çalışmaları yapılmıştır [157]. Buna göre ham madde olarak şeker ya da indirgenmiş şeker yerine doğrudan nişasta

kullanılarak gerçekleştirilen ABE fermantasyonunda *Bacillus subtilis* ve *Clostridium butylicum* TISTR 1032 eş kültürü kullanılmış ve 5,32 g/L bütanol ile 7,40 g/L ABE elde edilmiştir [24]. Düşük bütanol konsantrasyonunun yetersiz şeker salınımından kaynaklandığını belirten çalışma sonucunda, en uygun şeker salınım yönteminin enzimatik hidroliz olduğu ifade edilmektedir. Ancak, geçmiş çalışmalar enzimatik hidroliz kaynaklı maliyetin yıllık harcama kalemleri arasında önemli paya sahip olduğunu göstermektedir [157]. Diğer taraftan *C. saccharoperbutylacetonicum* N1-4 kültürü ile steril olmayan şartlar altında gerçekleştirilen çalışmada ise 6,60 g/L bütanol ve 12,50 g/L ABE üretimi gerçekleştirilmiştir [156]. Bu yönü ile *C. acetobutylicum* YM1'in hem steril olmayan şartlar, hem de aerobik şartlar altında diğer suşlara göre daha etkin sonuç verdiği görülmektedir.

Tablo 5.8 Farklı koşullarda gerçekleştirilen ABE fermantasyonları ve solvent üretim miktarları

Referans	Substrat	Şeker (g/L)	Kültür	Bütanol (g/L)	ABE (g/L)
Bu çalışma	Atık pirinç	50	*C. acetobutylicum* YM1	10,91	16,68
Bu çalışma	Atık pirinç	60	*C. acetobutylicum* YM1	11,02	18,03
Bu çalışma	Atık pirinç	40*	*C. acetobutylicum* YM1	8,60	12,73
Bu çalışma	Atık pirinç	40*	*C. acetobutylicum* YM1	9,03	13,07
[24]	Manyok nişastası	40***	*C. butylicum* TISTR 1032	5,32	7,40
[156]	Pirinç samanı hidrolizatı	40,83**	*C. saccharoperbutylacetonicum* N1-4	6,60	12,50
[148]	Pirinç samanı	31	*C. acetobutylicum NRRL* B-591	7,10	10,50
[151]	Sıvılaştırılmış mısır nişastası	60,1	*C. beijerinckii* BA101	13,40	18,40
[158]	Mısır şurubu	50	*C. saccharobutylicum* DSM 13864	7,00	12,47

* Fermantasyon aerobik ve steril olmayan şartlar altında gerçekleştirilmiştir.

** Fermantasyon anaerobik ve steril olmayan şartlar altında gerçekleştirilmiştir.

*** 40 g/L nişasta karbon kaynağı olarak kullanılmıştır.

Tablo 5.9'da bu çalışma kapsamında farklı şartlarda gerçekleştirilen ABE fermantasyonu sonucunda elde edilen solvent miktarlarının her bir kg substrat kullanımı ile gerçekleştirilebilecek üretim potansiyelleri verilmektedir. Buna göre, solvent üretim veriminin en yüksek olarak elde edildiği 30 g/L başlangıç indirgenmiş şeker miktarı ile gerçekleştirilen deney sonucuna göre, kg pirinç başına üretilebilecek toplam ABE potansiyeli 277,9 g olarak hesaplanmaktadır.

Tablo 5.9 Farklı fermantasyon şartlarında elde edilen genel solvent üretim verimleri

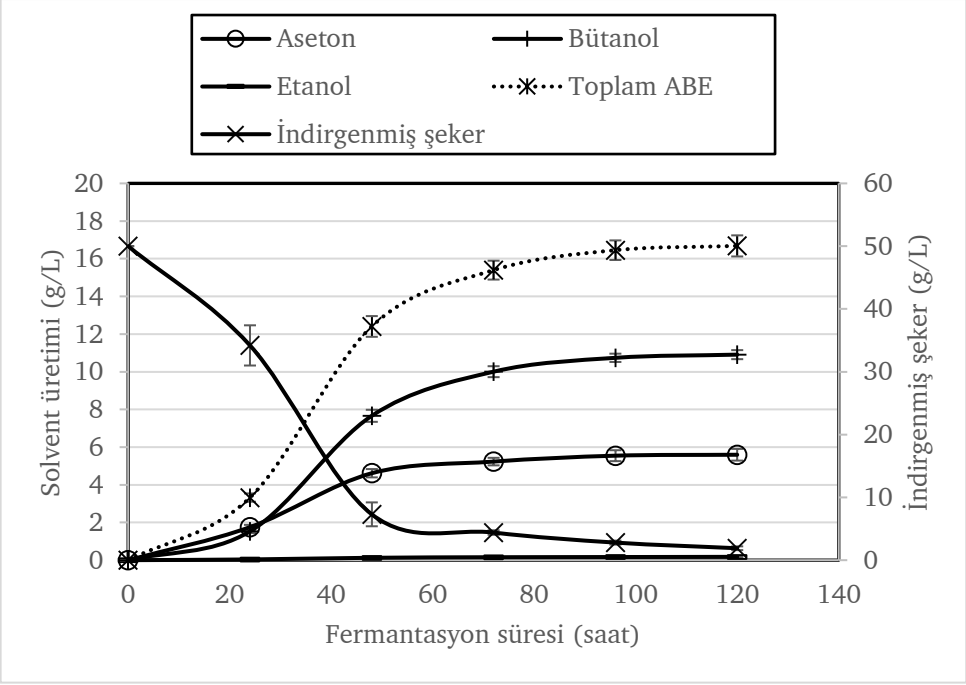
	Substrat (g/L)		Toplam verim (g solvent/kg pirinç)				
Durum	**Pirinç**	**Şeker**	**Aseton**	**Bütanol**	**Etanol**	**ABE**	**B:A**
Anaerobik steril	37,5	30	88,0	187,2	2,8	277,9	2,13
Anaerobik steril	50	40	97,8	162,6	2,6	262,8	1,66
Anaerobik steril	62,5	50	92,3	169,8	2,2	264,3	1,84
Anaerobik steril	75	60	90,3	145,6	2,1	238,0	1,61
Anaerobik non-steril	50	40	80,0	172,0	2,6	254,6	2,15
Aerobik non-steril	50	40	78,4	180,6	2,2	261,4	2,30
Anaerobik steril	50	40	97,0	176,6	2,4	276,0	1,82
Aerobik steril	50	40	85,8	181,2	2,8	269,8	2,11

Ulaşılabilecek en yüksek bütanol miktarı da benzer şekilde aynı numuneye ait olup 187,2 g elde edilmiştir. Literatürde farklı ham maddelere farklı ön işlemler uygulanması ile mikrobiyolojik prosesler ile biyobütanol üretim çalışmaları mevcuttur. Pirinç samanı kullanılarak gerçekleştirilen bir çalışmada, kg ham madde temelinde üretilen en yüksek bütanol ve ABE miktarları 80,3 g ve 123,9 g olarak verilmiştir [148]. Moradi ve arkadaşları tarafından gerçekleştirilen ve pirinç samanı kullanılan bir diğer çalışmada ise 45,2 g bütanol ve 64,1 g ABE üretimi gerçekleştirilmiştir [159]. FAO tarafından yayınlanan gıda israfı raporlarına dayanarak ve deneysel olarak elde edilen verim sonuçlarının uygulanması ile yıllık toplam 149,7 milyon tonluk pirinç israfının toplam solvent potansiyeli ise 26 milyon ton bütanol ve 37,5 milyon ton ABE olarak

hesaplanmaktadır [14], [160]. Ayrıca, endüstriyel boyutta üretim için en önemli parametrelerden olan operasyonel maliyetler düşünüldüğünde, aerobik ne steril olmayan şartlar altında bütanol üretim potansiyeli ise 174,6 g bütanol ve 266,9 g ABE olarak elde edilmiştir. Bu sonuçlar literatürde gerçekleştirilen ve ek maliyet gerektiren steril ve anaerobik şartlara kıyasla iki kat daha yüksek olduğu görülmektedir.

5.2.5 Steril Olmayan Koşullarda Solvent Üretim Profili

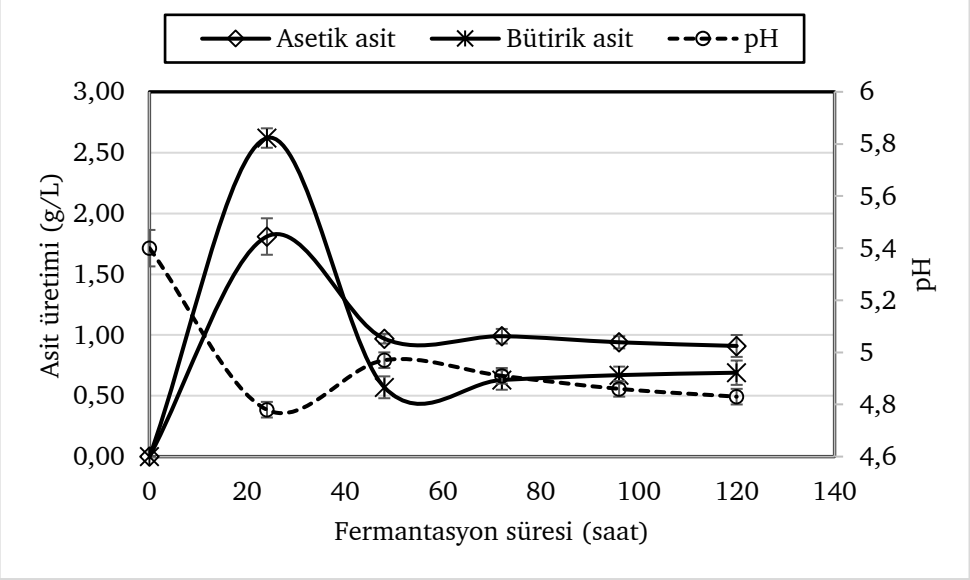
Besiyeri tipi, karıştırma hızı, başlangıç pH değeri, başlangıç indirgenmiş şeker konsantrasyonu, sterilizasyon ve aerobik şartların fermantasyon üzerine etkilerinin incelenmesinin ardından ABE fermantasyonu TYA besiyeri kullanılarak 50 g/L indirgenmiş şeker, 6,1 ± 0,1 başlangıç pH değeri, 100 rpm karıştırma hızı, aerobik ve non-steril şartlar altında hacimce %10'luk 20 saatlik kültür inokülasyonu ile 30 °C'de gerçekleştirilmiş ve her 24 saatte bir numune alınarak asit, solvent, şeker, pH ve optik yoğunluk ölçümleri yapılmıştır.



Şekil 5.6 ABE fermantasyonunda indirgenmiş şeker tüketim ve solvent üretim profilleri

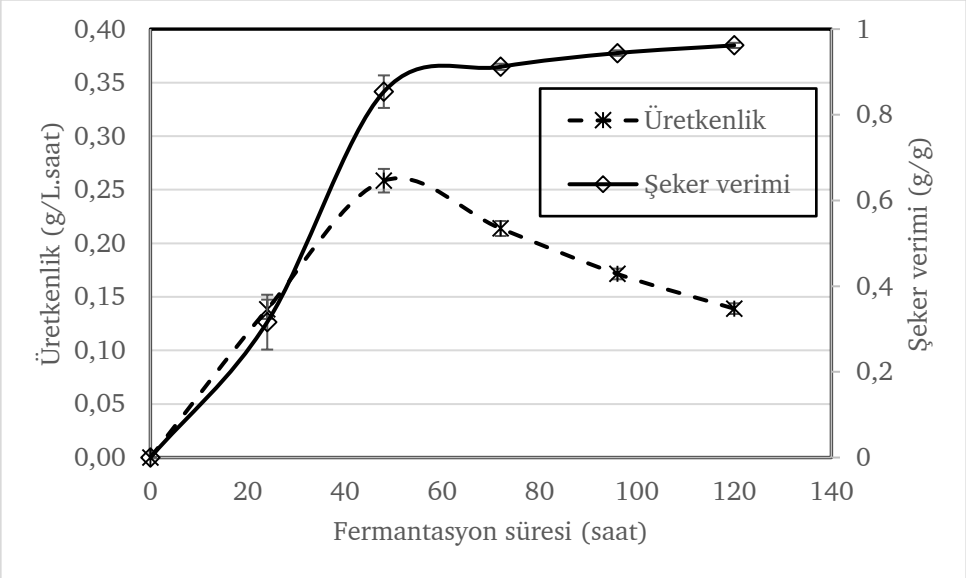
Optik yoğunluk ölçümleri ile steril olmayan fermantasyon ortamında *C. acetobutylicum* YM1'in büyüme profili incelenerek büyüme faz geçiş evreleri takip

edilmiş, şeker ölçümleri ile de kültürün günlük şeker tüketim miktarları belirlenmiştir. Asit konsantrasyonu ve pH ölçümleri ile de fermantasyonun asidojenik ve solventojenik faz geçişleri hakkında bilgi edinme imkanına sahip olunmuştur. Şekil 5.6'da ABE fermantasyonunda zamana bağlı olarak şeker tüketim ve solvent üretim profilleri gösterilmektedir. Şekil 5.6'da 50 g/L indirgenmiş şekerin karbon kaynağı olarak kullanıldığı ABE fermantasyonunda solvent üretim sonuçları gösterilmektedir. Buna göre fermantasyonun erken dönemlerinde gerçekleşen şeker tüketimi çoğunlukla mikroorganizmaların çoğalması ve asidojenik fazdan dolayı asit üretimi için kullanılmıştır. 24-48 saat aralığında solventojenik faz ile birlikte ABE üretimi hızlanmakta ve 48 saat sonunda toplam ABE 12,41 g/L'ye erişmektedir. 72 saat sonunda ise mevcut şekerin yaklaşık %91'i tüketilerek 5,23 g/L aseton, 10,01 g/L bütanol, 0,16 g/L etanol ile toplam 15,40 g/L ABE üretimi gerçekleşmiştir. Fermantasyonun bu evresinden sonra hem şeker tüketimi hem de solvent üretimi yavaşlama eğilimi göstermekte ve 120 saat sonunda %96,2'lik şeker tüketimi ile 5,60 g/L aseton, 10,91 g/L bütanol ve 0,18 g/L etanol üretimi ile toplam ABE konsantrasyonu 16,68 g/L'ye ulaşmıştır. Fermantasyon sonunda bütanol/aseton oranı 1,94 olarak elde edilmekte ve diğer nicel kavramlar olan şeker verimi, solvent verimi ve üretkenlik sırasıyla 0,96 g/g, 0,34 g/g ve 0,14 g/L.saat olarak hesaplanmıştır.



Şekil 5.7 ABE fermantasyonunda asit üretim ve tüketimi ile pH değişim profilleri

Şekil 5.7‘de asidojenik fazda üretimi gerçekleşen ve solventojenik fazda hem tüketim hem de kısmi üretimi gerçekleşen asitlerin konsantrasyon profili verilmektedir. Buna göre, başlangıç pH’nın 6,1’e ayarlandığı numuneye 0. saatte 20 saatlik kültürün inoküle edilmesi ile birlikte pH değeri 5,40 seviyelerine gelmiş ve o seviyeden fermantasyon başlamıştır. Daha sonra ABE fermantasyonunun ilk evresi olan asidojenik faz ile birlikte mikroorganizmalar şeker moleküllerini parçalayarak asetik asit ve bütirik asit üretimini gerçekleştirmekte ve bu sayede de pH’da azalmalar görülmektedir. 24 saatin sonunda 1,81 g/L asetik asit, 2,62 g/L bütirik asit üretimi gerçekleşirken, ortamda asit birikimi sebebiyle pH’ın 4,78’e düştüğü gözlemlenmiştir.



Şekil 5.8 ABE fermantasyonunda zamana bağlı olarak şeker tüketimi ve solvent üretkenlik profili

Fermantasyon mekanizmasının asidojenik fazdan solventojenik faza geçişi pH değerine bağlı olduğu için, erişilen uygun pH değerinin ardından mikroorganizmalar var olan asitleri solventlere dönüştürmeye başlamıştır. Böylelikle 24-48 saat aralığında asitlerin yaklaşık %50’den fazlası tüketilmekte ve bu sayede pH değerinde artış görülerek 4,97’ye erişmektedir. Daha sonraki evrelerde ise pH değerinde ve asit konsantrasyonlarında önemli ölçüde değişiklik gözlemlenmemiştir. Bunun sebebi ise 72. saatin sonrasında artan bütanol konsantrasyonu ve azalan karbon kaynağı sebebiyle mikroorganizmalarda görülen

endospor oluşumları ile hem şeker tüketimi hem de solvent üretiminde de ciddi değişimlerin gözlenmemesi olarak kabul edilmektedir.

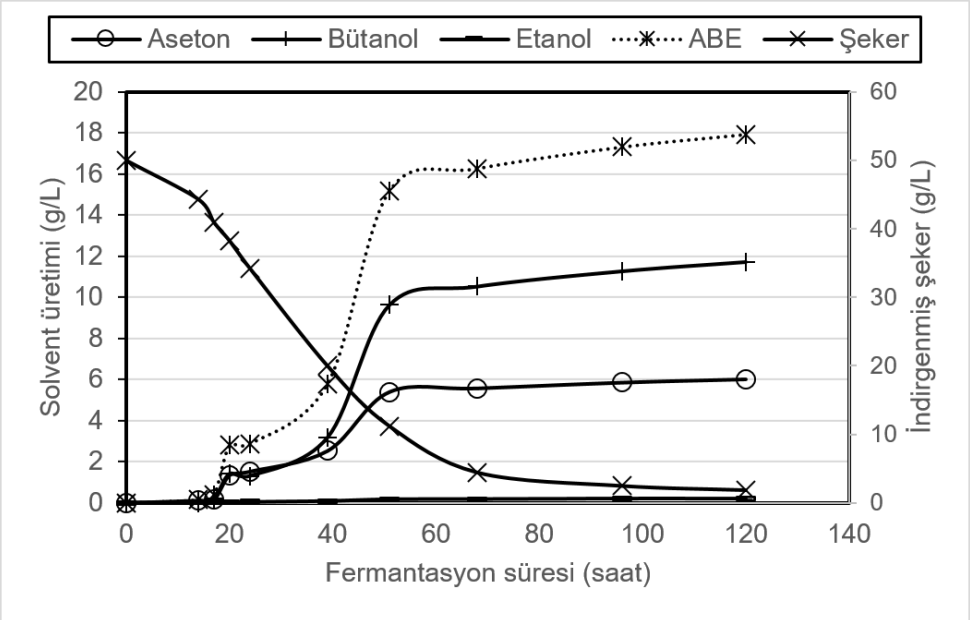
Son olarak Şekil 5.8'de üretilen toplam ABE konsantrasyonunun, ölçümün gerçekleştirildiği fermantasyon süresine bölünmesi ile hesaplanan üretkenlik değeri ile şeker tüketim profili verilmektedir. Buna göre en yüksek üretkenlik değeri 12,41 g/L ABE konsantrasyonuna erişildiği 48 saat sonunda elde edilmekte ve 0,26 g/L.saat olarak hesaplanmaktadır. Bu aşamaya kadar, üretilen toplam solventin %73,3'ünün üretiminin tamamlandığı sonucuna ulaşılmaktadır. Ayrıca 48 saat sonunda arta kalan şeker miktarı 7,3 g/L olarak ölçülmekte ve şeker tüketim hızı da 0,83 g/L.saat olarak hesaplanmaktadır. Daha sonra hem şeker tüketiminin hem de solvent üretiminin yavaşlaması ile her iki üretkenlik değeri de düşmekte sırasıyla 0,40 g/L.saat ve 0,14 g/L.saat'e erişmektedir. Şeker tüketim verimi ise 48 saat sonunda %85,4'e ulaşmakta ve zamanla arta kalan şekerlerin de çoğunluğunun tüketilmesi ile %96,2'ye gelmektedir.

Fermantasyonun 120 saat yerine 72 saat gerçekleştirilmesi durumunda, 50 g/L'lik indirgenmiş şekerin 45,6 g/L'sinin tüketilerek (%91,2 şeker tüketim verimi) 5,23 g/L aseton, 10,01 g/L bütanol, 0,16 g/L etanol ile toplam 15,40 g/L ABE üretimi gerçekleştiği sonucu elde edilmektedir. Son 48 saatlik sürede ise 2,5 g/L'lik şeker tüketimi ile 1,28 g/L toplam ABE üretimi gerçekleştiği görülmektedir. Elde edilen tüm sonuçlara göre, aerotolerant özellikte olan *C. acetobutylicum* YM1'in aerobik ve steril olmayan şartlar altında katı-hal fermantasyonu ile şeker dönüşümü tamamlanmış pirinçten etkin şekilde ABE üretimi endüstriyel sistemler için umut vadetmekte fakat daha etkin sonuçlar alınabilmesi için ek araştırmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

5.2.6 Steril Koşullarda Solvent Üretim Profili

İncelenen proses parametrelerinin ardından ABE fermantasyonu TYA besiyeri kullanılarak 50 g/L indirgenmiş şeker, 6,1 ± 0,1 başlangıç pH değeri, 100 rpm karıştırma hızı, aerobik ve steril koşullarda hacimce %10'luk kültür inokülasyonu (20 saat büyümüş kültür) ile başlatılmış ve 30 °C'de gerçekleştirilerek belirli

zaman aralıklarında alınan numuneler ile asit, solvent, şeker, pH ve optik yoğunluk ölçümleri yapılmıştır.



Şekil 5.9 ABE fermantasyonunda indirgenmiş şeker tüketim ve solvent üretim profilleri

Şekil 5.9'da ABE fermantasyonunda zamana bağlı olarak şeker tüketim ve solvent üretim profilleri gösterilmektedir. Elde edilen sonuçlara göre aseton, bütanol, etanol ve toplam ABE konsantrasyonları sırasıyla 6,01 ± 0,32 g/L, 11,73 ± 0.28 g/L, 0,19 ± 0,01 g/L, 17,93 ± 0,51 g/L olarak ölçülmüştür. Asetik asit ve bütirik asit konsantrasyonları ise fermantasyon faz geçişi esnasında 3 g/L ve 1 g/L aralığında salınım yapmış ve 120 saat sonunda 1,06 ± 0,13 g/L ve 0,76 ± 0,11 g/L olarak ölçülmüştür. ABE fermantasyonunda kullanılan suşların karakteristik özelliklerinden birisi olan ürün konsantrasyonlarındaki bütanol/aseton oranı 1,95 olarak elde edilmiş ve literatürde teorik olarak sunulan bütanol/aseton oranı için 2 değeri ile uyumlu olduğu görülmektedir [153].

Fermantasyon süresince en yüksek üretkenlik değeri 51. saat sonunda 0,30 g/L.saat olarak elde edilmiş, 120 saat sonunda ise 0,15 g/L.saat olarak hesaplanmıştır. Fermantasyon sonun harcanmayan 1,9 g/L şeker ile şeker tüketim verimi %96, solvent üretim verimi ise 0,37 g/g olarak elde edilmektedir. Ayrıca, fermantasyon ortamının optik yoğunluk değişimleri steril olmayan şartlarda

gerçekleştirilen fermantasyon deneyi ile benzer değişimler göstermiş (OD_{600}=2,6-3,0 aralığında) ve deney sonunda 2,79 olarak ölçülmüştür. Son olarak, fermantasyon ortamının pH'ı 120 saat sonunda 4,81 ± 0.04 olarak belirlenmiştir.

6
TEKNO-EKONOMİK ANALİZ

6.1 ABE Tesis Simülasyonu ve Ekonomik Analizi

Endüstriyel boyutta iki-adımlı fermantasyon ile atık pirinçten biyobütanol üretim tesisi SuperPro Designer (Versiyon 11) kullanılarak hazırlanmış ve yatırım maliyeti, yıllık harcamalar, gerekli ısıtma soğutma giderleri hesaplanmıştır. Tesisin nakit akışı ve karlılık analizi yapılarak önerilen proses ile tasarruf stratejileri belirlenmiştir. Ekipman satın alma maliyetleri yazılımın kütüphanesindeki mevcut fiyatlar ve hesaplama verileri kullanılarak elde edilmiştir. Buna göre tesisin yılda 346 gün çalıştığı (0,95 akım faktörü, 8304 iş saati) 19 günün ise bakım için kullanıldığı varsayılmıştır. Bu kapsamda, ilk fermantasyon adımı olan katı-hal fermantasyonu ile nişasta-şeker dönüşümünün 48 saatte tamamlandığı ve son ürün olan pirincin indirgenmiş şeker miktarı deneysel çalışmalar sonucunda elde edilen 0,8 g/g (kuru ağırlık) olarak uygulanmıştır [113]. Şeker kaynağından biyobütanol üretimi için uygulanan ikinci fermantasyon adımında, ABE fermantasyonu, ise fermantasyon süresi 72 saat olarak belirlenmiş ve kesikli sistem olarak uygulanmıştır. ABE fermantasyonunda son ürün konsantrasyonları deneysel çalışmalar sonucu elde edilen 50 g/L indirgenmiş şekerden 6,5 g/L aseton, 12 g/L bütanol ve 0,2 g/L etanol olarak temel alınmıştır.

Proje yatırım maliyetinin %25'inin anapara %75'inin ise 10 yıllık %5 faiz oranı ile çekilmiş kredi ile elde edildiği kabul edilmiştir. Gelir vergisi, kar üzerinden %20 olarak hesaplanmış ve proje karlılık analizleri proje ömrü 20 yıl, nakit indirgenme oranı %5 ve doğrusal amortisman kabulleri ile tamamlanmıştır. Ekonomik hesaplamalarda ürün ve ham madde taşıma giderleri göz önüne alınmamış ve verilen tüm fiyatlar fabrika çıkış fiyatları olarak kabul edilmiştir [147]. Ekonomik hesaplamalarda yapılan kabuller ve temel alınan veriler Tablo 6.1'de listelenmiştir.

Tablo 6.1 Endüstriyel boyutta bütanol üretim tesisi için parametreler

Parametreler	**Kabuller**	
Tesis kapasitesi	Atık pirinç, 10 ton/saat	[26]
Tesis bölgesi	Gelişen/gelişmekte olan Asya ülkesi	
Akım faktörü	0,95 (346 gün/yıl)	[26]
Sakkarifikasyon:		
Glikoz:	$(C_6H_{10}O_5)_n + n\ H_2O \rightarrow n\ C_6H_{12}O_6$	[146]
SSF sonrası şeker içeriği	0,80 g/g (kuru temelde)	[113]
ABE üretimi		
Aseton:	$C_6H_{12}O_6 + H_2O \rightarrow CH_3COCH_3 + 3\ CO_2 + 4\ H_2$	[161]
Bütanol:	$C_6H_{12}O_6 \rightarrow C_4H_9OH + 2\ CO_2 + H_2O$	[161]
Ethanol:	$C_6H_{12}O_6 \rightarrow 2\ C_2H_5OH + 2\ CO_2$	[161]
ABE'de şeker verimi	0,99 g/g	
ABE verimi	0,37 g/g	
Aseton kazanımı	%99	[12]
Bütanol kazanımı	%98	[162]
Etanol kazanımı	%99	[12]
Ham madde maliyeti	50 $/ton	
Aseton satış fiyatı	1,28 $/kg	[163]
Bütanol satış fiyatı	1,73 $/kg	[163]
Etanol satış fiyatı	1,05 $/kg	[163]

6.1.1 Tüm Tesis Sermaye Maliyeti

Bir tesisin kurulumu için gerekli maliyetler, doğrudan tesis maliyeti, dolaylı tesis maliyeti, yüklenici ücreti ve öngörülemeyen maliyetler olarak sınıflandırılmaktadır. Her bir yatırım maliyeti birbiri içerisinde orantılı olarak değişmekte ve ekipman satın alma maliyetinin belirli katsayılar ile çarpımı sonucu tahmin edilebilmektedir. Kullanılan bu katsayılar literatürdeki çalışmalar ve

SuperPro Designer'ın kütüphanesinden alınmış ve Tablo 6.2'de listelenmiştir [161], [164], [165].

Tablo 6.2 Tesis maliyet kalemlerinin hesaplanması için SuperPro Designer'dan alınan katsayılar

Tüm Tesis Sermaye Maliyetleri	**Katsayı**	
Ekipman satın alma	SuperPro Designer kütüphane verileri	
Kurulum	(Ekipman satın alma maliyeti) x 0,30	[165]
Proses borulama	(Ekipman satın alma maliyeti) x 0,20	[165]
Kontrol cihazları	(Ekipman satın alma maliyeti) x 0,10	[165]
Yalıtım	(Ekipman satın alma maliyeti) x 0,03	[165]
Elektrik	(Ekipman satın alma maliyeti) x 0,10	[165]
Bina	(Ekipman satın alma maliyeti) x 0,05	[165]
Arazi ıslahı	(Ekipman satın alma maliyeti) x 0,10	[165]
Yardımcı tesisler	(Ekipman satın alma maliyeti) x 0,20	[165]
Mühendislik	(Doğrudan tesis maliyeti) x 0,25	[165]
İnşaat	(Doğrudan tesis maliyeti) x 0,35	[165]
Yüklenici ücreti	(Tesis toplam maliyeti) x 0,05	[165]
Öngörülemeyen maliyetler	(Tesis toplam maliyeti) x 0,10	[165]

6.1.1.1 Doğrudan Tesis Maliyeti

Doğrudan Tesis Maliyeti aşağıda listelenmiş tesisin ilk kurulumunda karşılanması gereken doğrudan maliyet kalemlerinin toplamı olup aşağıdaki eşitlik ile hesaplanmaktadır.

$$\text{Doğrudan Tesis Maliyeti} = C_{ESA} + C_{KUR} + C_{PBM} + C_{KNT} + C_{YTL} + C_{ELT} + C_{BIN} + C_{ISL} + C_{YRD}$$

Burada C_{ESA} ekipman satın alma maliyeti, C_{KUR} kurulum maliyeti, C_{PBM} proses borulama maliyeti, C_{KNT} kontrol cihazları, C_{YTL} yalıtım, C_{ELT} elektrik, C_{BIN} bina, C_{ISL} arazi ıslahı ve C_{YRD} yardımcı tesislerin maliyetini ifade etmektedir.

- **Ekipman Satın Alma Maliyeti:** Bu maliyet, tesisi oluşturan ve üretimin gerçekleştirilmesi için gerekli temel ekipmanların satış fiyatlarıdır ve vergiler, kurulum, sigorta, teslimat gibi diğer kalemler bu fiyata dahil edilmemektedir. Bu maliyet "gemi güvertesinde masrafsız teslim" (free-on-board, FOB) olarak da bilinmekte ve malzemelerin gemi güvertesine yüklenmesinden sonraki tüm sorumluluklar alıcıya ait olduğu teslimat şekli olarak kabul edilmektedir. Ön ekonomik analiz için, ekipmanın satın alma maliyetleri tipik olarak maliyet korelasyonlarına göre SuperPro Designer'ın kütüphanesindeki veriler ve modellenen tesis kapasitesi için gerekli ekipman adedi kullanılarak tahmin edilmiştir.
- **Kurulum Maliyeti:** Bu maliyet kalemi ise, satın alınmış ekipmanların yeni fabrika sahasında inşasını ifade etmektedir ve temeller, levhalar, destekler ve diğer yardımcı ekipman hizmetlerinin maliyetini içermektedir. Ön ekonomik analiz için, modellenen ekipmanların kurulum maliyetleri, ilgili ekipmanın satın alma maliyetinin SuperPro Designer kütüphanesindeki belirli faktörlerle çarpılması ile tahmin edilmiş ve literatürdeki çalışmalarda da genellikle satın alma maliyetinin %30'u olarak kabul edilmektedir.
- **Proses Borulama Maliyeti:** Bu kalem ise tesis bünyesindeki ekipmanların birbirine bağlantıları, akış için gerekli hatların oluşturulması, havalandırma sisteminin kurulması gibi maliyetleri içermektedir. Toplam proses borulama maliyetine vanalar, boru destekleri, yalıtım ve boru bağlantı elemanları ile alakalı diğer yan öğelerin maliyetleri de dahil edilmektedir. Ön maliyet hesapları için bu kalem satın alma maliyetlerinin uygun faktörler ile çarpılması sonucu tahmin edilmiştir.
- **Kontrol Cihazları:** Kontrol cihazları maliyetleri modellenen endüstriyel tesisin kontrol odasında bulunan bilgisayarlar, yerel veri işleme birimleri, görüntüleme aygıtları ve bunlara ek olarak hem sahada hem de kontrol odasında bulunan cihaz, veri toplama, kontrol sistemleri, ikaz cihazları, ölçüm cihazlarını ve bunlara ait gerekli her türlü kablo ve aksamları kapsamaktadır. Ekonomik analiz kapsamında kontrol cihazları maliyetleri

de ekipman satın alma maliyetlerinin uygun katsayıları ile çarpılması sonucu belirlenmiştir.

- **Yalıtım Maliyeti:** Bu kalem genellikle tesis kurulumu ve borulama maliyetlerine de dahil edilebilen yalıtım ve boyama harcamalarını içermektedir. Ancak, çok düşük ya da yüksek sıcaklıkta çalışan tesislerde yalıtım maliyeti çok yüksek olabilmesi sebebiyle bu gider kaleminin de ayrı olarak hesaplanması gerekmektedir. Yalıtım maliyeti, ekipman satın alma maliyetlerinin SuperPro Designer içerisinde atanmış belirli katsayılar ile çarpılması sonucu bulunmuştur.
- **Elektrik Maliyeti:** Elektrik maliyeti, tesis içerisindeki elektriksel donanımın maliyetini ifade etmektedir. Bunlar, kablolama ve borular, kontrol merkezleri, şalter tertibatı, saha aydınlatmaları, acil durum güç kaynaklarını ve trafo maliyetlerini içermektedir. Benzer şekilde ekipman satın alma maliyetlerinin Tablo 6.2'de listelenen belirli katsayılar ile çarpılması ile hesaplanmıştır.
- **Bina Maliyeti:** Binaların maliyetleri ise, tesisteki kuleler, beton levhalar, merdivenler, yürüme yolları, kontrol odaları ve tesis bünyesinde bulunan soyunma odaları, kafeterya, mobilyalı ofisler, depo ve güvenlik ile alakalı diğer binalardan ortaya çıkan maliyetleri kapsamaktadır. Bu kalem de ekipman satın alma maliyetlerinin belirli katsayılar ile çarpılması ile hesaplanmıştır.
- **Arazi Islahı ve Şantiye Düzenleme Maliyetleri:** Bu maliyet kalemi, tesisin kurulacağı alanın tesis kurulumuna hazır hale getirilmesine ek olarak, tesis bünyesinde ihtiyaç duyulacak yol ve park gibi arazi ile alakalı giderleri kapsamaktadır ve ön ekonomik analiz için malzeme satın alma giderlerinin uygun katsayılarla çarpılması sonucu hesaplanmıştır.
- **Yardımcı Tesislerin Maliyeti:** Bu yatırım kalemi ise ana tesisin sorunsuz bir şekilde çalışması için ihtiyaç duyulan yan tesislerdir. Yardımcı tesise örnek olarak, ana akımların istenilen sıcaklığa gelmesinde kullanılan sıcak buharın üretildiği tesis verilebilir. Bu tesislerin maliyeti de satın alma maliyetinin uygun katsayılar ile çarpılması sonucu hesaplanmaktadır.

Yukarıda verilen 9 yatırım kaleminin toplam değeri ise tesis için doğrudan yatırım maliyetini vermektedir.

6.1.1.2 Dolaylı Tesis Maliyeti

Tesis için öngörülen dolaylı maliyetler ise aşağıda listelenen kalemlerin toplamı olup verilen eşitlik ile hesaplanmaktadır.

Dolaylı Tesis Maliyetleri = $C_{MÜH} + C_{İNŞ}$

Bu eşitlikte, $C_{MÜH}$ mühendislik harcamalarını ifade ederken ve $C_{İNŞ}$ ise inşaat harcamalarını temsil etmektedir.

- **Mühendislik:** bu maliyet kalemi, tesisin tasarımından kurulumuna kadar tüm süreci yöneten, var olan tüm ekipman tasarımı, aletler, yardımcılar, teknik özellikler, proses kontrolü, yazılım ve çizimlerle alakalı mühendislik maliyetleridir. Ön ekonomik analiz için, mühendislik maliyeti doğrudan tesis maliyetinin uygun faktörler ile çarpılması ile belirlenmiştir.
- **İnşaat:** İnşaat maliyetleri, tesisin inşaat ile alakalı harcamalarını temsil etmekte, inşaat alanındaki iş gücü harcamalarını içermemektedir. Ekonomik analiz için, inşaat giderleri tesis için doğrudan yatırım maliyetinin uygun faktörler ile çarpılarak hesaplanmıştır.

Tesis için doğrudan yatırım maliyetleri ile dolaylı maliyetlerin toplamı tesisin toplam maliyetini vermektedir.

6.1.1.3 Yüklenici Ücreti ve Öngörülemeyen Maliyetler

Tesis için toplam yatırım maliyeti hesaplanırken, doğrudan ve dolaylı tesis maliyetlerine ek olarak aşağıdaki ek maliyetler de dikkate alınmaktadır.

Yüklenici Ücreti ve Öngörülemeyen Maliyetler = $C_{YÜK} + C_{ÖGM}$

Yukarıda verilen eşitlikte, $C_{YÜK}$ yüklenici ücretini, $C_{ÖGM}$ ise öngörülemeyen maliyetlerini ifade etmekte ve tesis yatırım maliyetlerine dahil edilmektedir.

- **Yüklenici Ücreti:** Şirket yüklenici firma olmadan, kendi inşaatını yapması durumunda dahi bu gider, firmanın inşaat bölümünün kar gösterebilmesi sebebiyle toplam yatırım maliyetine eklenmektedir. Ön ekonomik analiz

için, yüklenici ücreti tesis toplam yatırım maliyetinin uygun bir faktörle çarpılmasıyla tahmin edilmiştir.

- **Öngörülemeyen Maliyetler:** Bir sistem ya da tesis ne kadar tehlikeli ya da hassas ise, projenin ilk aşamalarında kilit unsurların gözden kaçma olasılığı o kadar yüksek olmaktadır. Öngörülemeyen maliyetler, eksik unsurları telafi ederek yatırımın sorunsuz devam edebilmesi için göz önüne alınmaktadır. Oluşabilecek ek maliyetlerin yanı sıra, tesis kurulum sürecinde meydana gelebilecek gecikme, grev ya da tahmin edilemeyen yüksek fiyat dalgalanmaları sebebi ile yatırıma yük olabilecek giderleri dengelemek amacıyla hesaplanmaktadır. Ön ekonomik analiz için, bu maliyet tesis toplam yatırım maliyetinin uygun bir faktörle çarpılmasıyla belirlenmiştir.

Yukarıda listelenen kalemlere ve tanımlara dayanarak, tüm tesis sermaye maliyeti, tesisin toplam maliyetine ek olarak yüklenici ücreti ve öngörülemeyen maliyetlerin toplanmasıyla hesaplanmıştır.

6.1.2 Tüm Tesis Sermaye Maliyeti

Endüstriyel boyutta ABE üretim tesisinin yıllık işletme maliyetleri ham madde giderleri, tesis giderleri (ısıtma, soğutma, elektrik vb.), işçilik, bakım, laboratuvar harcamaları ve diğer giderler olarak sınıflandırılmıştır. Ham madde giderleri tesisin yıllık üretim kapasitesine göre ihtiyaç duyulan ham maddenin temini için harcanan miktardır. Bu çalışmada 5 farklı yıllık kapasite için tesis planlaması yapılmış olup bu 5 senaryo için de ham madde gideri kapasite ile doğru orantılı olarak değişmekte ve atık pirincin birim maliyeti 50 $/ton olarak kabul edilmiştir. Elektrik, ısıtma ve soğutma giderlerini kapsayan tesis giderleri ise SuperPro Designer'dan elde edilen gerekli miktarların sayaç birim fiyatları ile çarpılması sonucu hesaplanmıştır. Ayrıca yazılım içerisinde sunulan "sanal ısı entegrasyonu" eklentisi ile akımların ısıtma ve soğutmalarının bir kısmı diğer akımlardan arta kalan enerji ile sağlanmakta ve bu sayede yıllık üretim harcamalarında tasarruf öngörülmektedir. Tesis bünyesindeki çalışanların aylık masrafları ise her bir ekipmanın için ihtiyaç duyulan çalışan sayısının saatlik ücretler ile çarpılması

sonucu belirlenmiş ve yıllık harcamalara dahil edilmiştir [26]. Tesisin bir diğer düzenli harcama kalemlerinden olan bakım giderleri ise tüm tesis yatırım maliyetinin %1'i olarak kabul edilmiştir [20]. Laboratuvar giderleri çalışan harcamalarının %8'i [20], diğer giderler ise yıllık tesis işletme maliyetlerinin %5'i olarak hesaplanmıştır [162].

6.1.3 ABE Tesisi Gelir Kaynakları

Endüstriyel boyutta ABE tesisinin yıllık gelir miktarı genel olarak ana ürün olan bütanolün satışına dayanmaktadır. Bununla birlikte yan ürün olan ve önemli miktarlarda üretilen aseton ve etanol de saflaştırılıp satılarak, ek gelir elde edildiği kabul edilmiştir. Yıllık tesis geliri hesaplamalarında aseton, bütanol ve etanolün birim satış fiyatları sırası ile 1,28 $/kg, 1,73 $/kg ve 1,05 $/kg olarak kabul edilmiştir [163]. Diğer yan ürünlerden olan CO_2 ve H_2 gazları düşük gelir potansiyeli sebebiyle gelir kalemlerinden ihmal edilmiş ve hesaplamalara dahil edilmemiştir. Ancak bu gazların çevresel etkileri, küresel ısınmaya etkileri ihmal edilemeyeceği için, açığa çıkan gazların depolanıp basınç salınımı adsorpsiyonu yoluyla saflaştırılarak kimya endüstrisinde kullanıldığı kabul edilmiştir [38]. Benzer şekilde düşük miktarda üretilse de (>1,0 g/L) asetik asit ve bütirik asidin de kimya endüstrisinde kullanım imkanı mevcuttur ancak gelir hesaplamalarına dahil edilmemişlerdir. Diğer atıklardan olan pirinç keki (şekeri alınmış pirinç posası) ise ilk olarak buhar jeneratörüne gönderilerek buhar üretilmiştir. Daha sonra ise üretilen kızgın buharın, buhar-türbin jeneratörüne gönderilerek, elektrik üretiminde kullanıldığı kabul edilmiştir. Ortaya çıkan ve buhar jeneratörüne gönderilen pirinç kekinden üretilen buhar ve elektrik miktarları SuperPro Designer'dan alınmış ve bu üretilen kaynaklar tesisin ihtiyaçlarının bir bölümünde kullanılarak, üretim maliyetlerinden elde edilebilecek tasarruf potansiyeli belirlenmiştir [165].

6.1.4 ABE Üretim Prosesi

Nişasta içerikli atık gıdalardan iki adımlı fermantasyon ile biyobütanol üretimi SuperPro Designer kullanılarak gerçekleştirilmiş ve Şekil 6.1'de proses akış

diyagramı verilmiştir. Bu kapsamda, tesise gelen atık pirinç ilk olarak depolama silolarında (3 gün kapasiteli) depolanmakta ve katı-hal fermantasyonu için bir sonraki tanka transfer edilmektedir. İlk fermantasyon adımı olan katı-hal fermantasyonunda pirinç (%20 nemli) içeriğindeki nişastanın *A. oryzae* tarafından salgılanan amilaz enzimi ile şekere dönüştürülmesi gerçekleşmektedir [27]. Dönüşüm denklemi aşağıda verilmektedir (Tablo 6.3). Buna göre uzun zincirli nişasta molekülleri enzim yardımı ile parçalanarak daha küçük yapılar oluşturur ve su ile birleşimi sonucunda glikoz oluşumu gerçekleşmektedir [146].

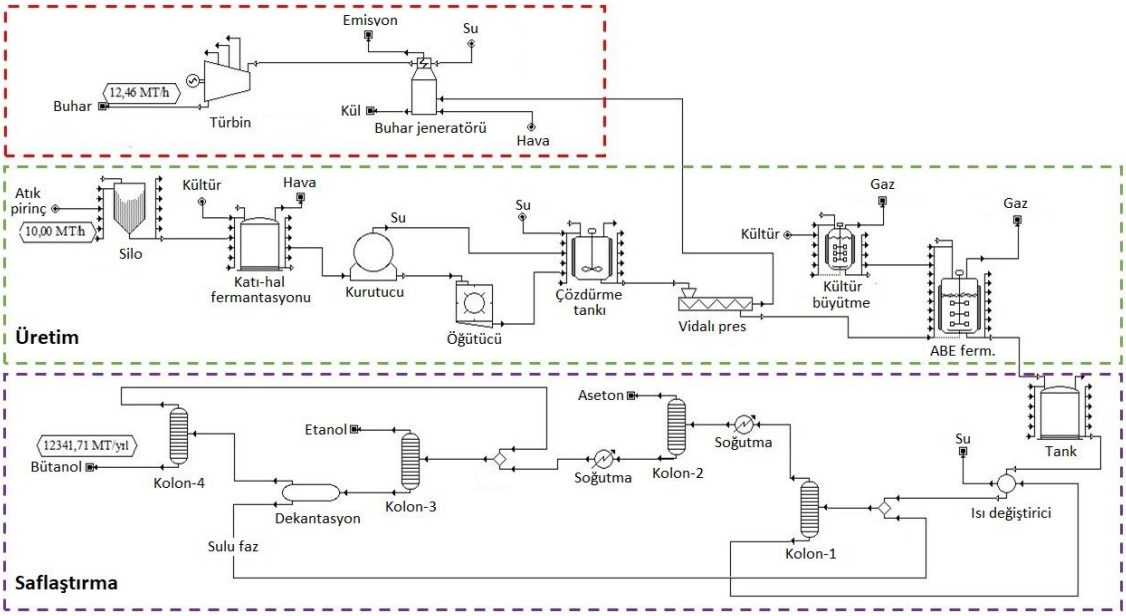
Tablo 6.3 Katı-hal fermantasyonu ile nişastadan şeker üretim denkliği

Ürün	Kimyasal Denklem	Dönüşüm oranı	Seçicilik
Şeker	$(C_6H_{10}O_5)_n + n\ H_2O \rightarrow n\ C_6H_{12}O_6$	%87,4	%100

Sakkarifikasyon işlemi nem (%90-92 bağıl nem) ve sıcaklık (30 °C) kontrollü tank içerisinde 48 saatte tamamlanmaktadır [27]. Daha sonra katı-hal fermantasyonundan çıkan nemli pirinç (nem içeriği ağırlıkça yaklaşık %30) kurutucuya gönderilmekte ve burada 4 saat boyunca 60 °C'de kurutulmaktadır. Uzaklaştırılan nemin, sistemin bir sonraki ekipmanlarından olan çözme tankına gönderildiği ve ihtiyaç duyulan suyun ve ısının bir miktarının karşılandığı kabul edilmiştir.

Kurumuş pirinç daha sonra öğütücüye gönderilerek tanecik boyutu küçültülmüştür. Toz haline getirilmiş pirinçle su, pirinç miktarı ağırlıkça %7,5 olacak şekilde çözme tankında karıştırılmış ve çözünme işlemi 4 saat boyunca gerçekleştirilmiştir. Çözdürme tankında pirinç içerisindeki şekerin suya geçişi sağlanmakta ve çözünmeyen maddeler (çoğunlukla nişasta [166]) ise vidalı prese gönderilerek, pirinç kekinin sıvı fazdan ayrılması sağlanmıştır. Bu akım, saatlik 2,6 ton debi ile (%10 nem) buhar jeneratörüne gönderilmekte ve burada yakılarak kızgın buhar üretimi gerçekleşmektedir (250 °C, 65 bar). Daha sonra üretilen yüksek basınçlı kızgın buhar ise buhar-türbin jeneratörüne gönderilerek, elektrik ve düşük basınçlı buhar üretiminde kullanılmaktadır (152 °C, 5 bar). Üretilen elektrik ve düşük basınçlı buhar, tesisin ısınma ve güç gereksinimlerinin bir kısmını karşılayarak yıllık harcamalarda tasarruf sağlamaktadır. Bunun yanı sıra,

eş zamanlı olarak ABE fermantasyonunda kullanılmak üzere kültür geliştirme işlemi gerçekleştirilmektedir. Buna göre *C. acetobutylicum* YM1 TYA besiyerinde 30 °C'de 20 saat boyunca büyütülmüş, spor aktivasyonu sağlanmış ve çoğalması tamamlanmış bakteri kültürü fermantasyon tankına transfer edilerek ABE fermantasyonu başlatılmıştır. Bu işlem kesikli sistem halinde 30 °C'de 72 saat boyunca gerçekleşmektedir.



Şekil 6.1 İki adımlı fermantasyon ile bütanol üretim tesisinin proses akım şeması

Fermantasyonda şeker kaynağından asetik asit, bütirik asit, aseton, etanol, bütanol, karbondioksit ve hidrojen üretilmektedir. Asitlerin son konsantrasyonu solventlere göre düşük olduğu için üretimleri ihmal edilmiştir. Şekerden aseton, bütanol, etanol ve gazların üretiminin stokiyometrik katsayıları ve denklemi aşağıda verilmektedir. Üç solventin de eş zamanlı gerçekleşen üretiminde teorik olarak kütlece 3-6-1 oranında aseton, bütanol ve etanol üretilmektedir [167]. Ancak deneysel çalışma sonucu elde edilen oranlar simülasyon çalışmalarına uyarlanmış ve buna göre reaksiyon sonucu üretilen ürünler aseton, bütanol ve etanol için kütlece sırasıyla 6,5 - 12,0 - 0,2 üretilecek şekilde belirlenmiştir (Tablo 6.4).

Tablo 6.4 ABE fermantasyonu ile eş zamanlı ABE üretimi

Ürün	Kimyasal Denklem	Dönüşüm oranı	Seçicilik
Aseton	$C_6H_{12}O_6 + H_2O \rightarrow CH_3COCH_3 + 3CO_2 + 4H_2$	%99	%40,5
Bütanol	$C_6H_{12}O_6 \rightarrow C_4H_9OH + 2CO_2 + H_2O$		%58,7
Etanol	$C_6H_{12}O_6 \rightarrow 2C_2H_5OH + 2\ CO_2$		%0,8

Deneysel çalışmalar sonucu solvent dönüşüm oranı olarak elde edilen 0,37 g/g endüstriyel boyutta ABE üretim tesisi simülasyonunda kullanılmıştır [147].

Fermantasyonda üretilen CO_2 ve H_2 gazları üst akımda toplanarak saflaştırılmak üzere transfer edilmiş ve sıvı faz ise tesis bünyesinde bileşenlerine ayrılmak üzere depolama tankına gönderilmiştir [38]. Bu karışım toplam dört distilasyon kolonu ve bir dekanter kullanılarak saflaştırılmaktadır [13], [147], [161]. Fermantasyon sıvı faz bileşiminde bulunan, su, besiyeri, çözeltiler, asitler ve çözünmeyen maddeler olarak depolama tankından ilk kolona (0,5 bar) beslenmektedir. İlk kolonda, suyun yaklaşık %90'ı, asitler ve çözünmeyen maddeler alt ürün olarak ayrılmaktadır [38]. Ayrıştırılan alt ürün (81,4 °C), geri besleme yoluyla ısıtma ajanı olarak birinci kolona giren akımın ısıtılmasında kullanılmakta (77 °C'ye kadar) ve kolon içerisinde ısıtma yükünün bir miktar azaltılması sağlanmaktadır. İlk kolonun ısıtma yükü, tesisin kolonlar ve dekanteri içeren saflaştırma bölgesinde gerekli tüm ısının yaklaşık %80'ini oluşturmaktadır. Suyun büyük bir kısmının ve çözünmeyen maddelerin uzaklaştırılmasının ardından, ilk kolondan tepe ürün olarak ayrılan solvent içerikli karışım (80,9 °C), ısı değiştiricide soğutulduktan sonra (53 °C) ikinci kolona beslenmektedir (0,6 bar). Burada aseton %99 geri kazanım ile üst ürün olarak ayrılmakta [12] ve kalan dip ürün karışımı kolonu terk ederek (86 °C) önce ısı değiştiriciye (75 °C) daha sonra ise dördüncü kolonun tepe ürünü ile karıştırılarak, üçüncü kolona gönderilmektedir (0,6 bar). Üçüncü kolonda ise benzer şekilde %99 geri kazanım ile tepe ürün olarak etanol ayrılmakta [12] ve geriye azeotropik karışım oluşturan bütanol-su karışımı kalmaktadır [12], [168], [169]. Bütanol-su karışımı ön dekantasyon işleminin ardından bütanol yönünden zengin olan üst faz dördüncü distilasyon kolonuna (0,6 bar) gönderilmiştir. Burada bütanol %98 kazanım oranı ile alt ürün

olarak ayrılmakta [162], su ve düşük konsantrasyonda bütanol içeren tepe ürün ise geri beslenerek ikinci kolonun alt ürünü ile karıştırılmaktadır. Son olarak, dekantörde alt fazda biriken su ile zengin ağır bileşen, geri döngü ile ilk kolona beslenmektedir.

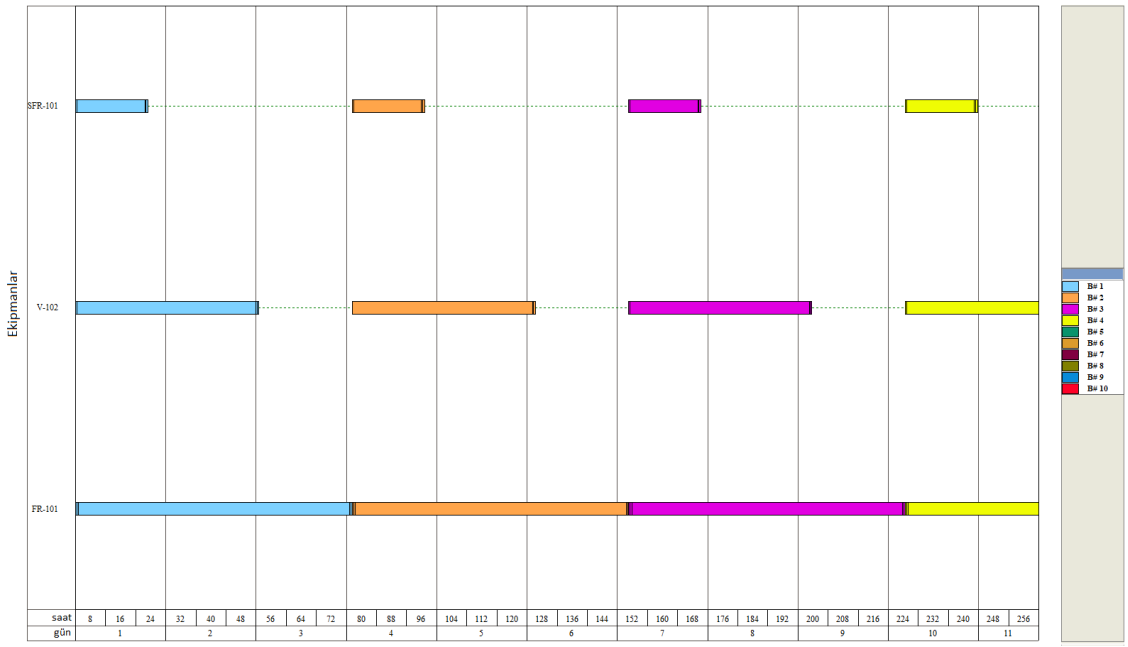
6.2 Ekipman Kullanım Oranının Prosese Etkisi

Saatlik 10 ton atık pirinç işleme kapasiteli ABE üretim tesisinin seçilen akım faktörü ile yıl içindeki toplam çalışma süresi 8064 saat olarak hesaplanmaktadır [26]. Kültür büyütme işlemleri, katı-hal fermantasyonu ve ABE fermantasyonu dışındaki işlemler için kullanılan ekipmanların sürekli sistem şeklinde çalıştığı, bu üç işlemin ise kesikli olarak gerçekleştiği kabul edilmiştir. Tesis içerisindeki ekipmanların kullanım süreleri içerisinde en uzun kullanım süresine sahip olan ekipman 72 saat ile ABE fermantasyonunun gerçekleştiği fermantör olduğu için yıl içerisinde gerçekleştirilecek kesikli işlem sayısı bu ekipmana bağlı olarak belirlenmektedir. Dolum, boşaltım ve temizlik işlemleri için de ek sürenin hesaba katılması ile (toplam kullanım süresi 73,5 saat olmak üzere) yıl içerisinde tesisin çalışacağı 8064 saat boyunca toplam yapılabilecek kesikli fermantasyon işlemi sayısı 109 olmaktadır.

Önerilen tesis çalışma düzeni sonucunda elde edilen ekipman kullanım süresi grafikleri ise Şekil 6.2'de gösterilmektedir. Buna göre minimum devir süresi ile tanımlanabilecek olan bir sonraki kesikli işlemin başlama için gerekli süresi benzer şekilde 73,5 saat olmaktadır [165], [170].

Şekil 6.2'de gösterilen her renk kendi içerisinde farklı kesikli işlemi temsil etmektedir. Yani açık mavi, turuncu ve pembe renkleri, yıl içerisinde gerçekleştirilen 109 kesikli işlemin ilk üç işlemini temsil etmektedir. Ancak şekilde gösterilen ekipman kullanım grafiğine göre ekipman doluluk süresi yaklaşık 20 saat olan kültür fermantörü (SFR-101) ve yine tek bir kesikli işlem için doluluk süresi yaklaşık 48 saat olan katı-hal fermantasyonunun gerçekleştiği tankın (V-102) etkin olarak kullanılamadığı, tesis faaliyetlerinin sürdüğü zaman dilimleri içinde boşta geçirdiği sürenin oldukça fazla olduğu görülmektedir. Buradan yola çıkarak, tank ve fermantörün boş kaldığı sürelerin toplam kesikli işlem süresine

oranı yaklaşık sırası ile %72,8 ve %34,7 olarak hesaplanmaktadır. Bu durum sonucunda, bahsi geçen ekipmanların tesis için ek yatırım maliyeti getirdiği, ekipmanların etkin kullanım sürelerinin azaldığı ve ekipman boyutlarının ihtiyaç duyulandan daha yüksek olduğu anlaşılabilmektedir. Bu şekilde tasarlanan saatlik 10 ton atık pirinç işleme kapasiteli ABE üretim tesisinin yatırım maliyeti yaklaşık 92 milyon $ olarak hesaplanmakta ve bu temel durum, vardiya bakımından iyileştirilmiş ekipman kullanım sistemi ile hazırlanan ve nakit akışları verilen saatlik 10 ton atık pirinç işleme tesisi için gerekli 78 milyon $'lık yatırım maliyetine kıyasla yaklaşık %18'lik ek maliyete sebep olmaktadır.

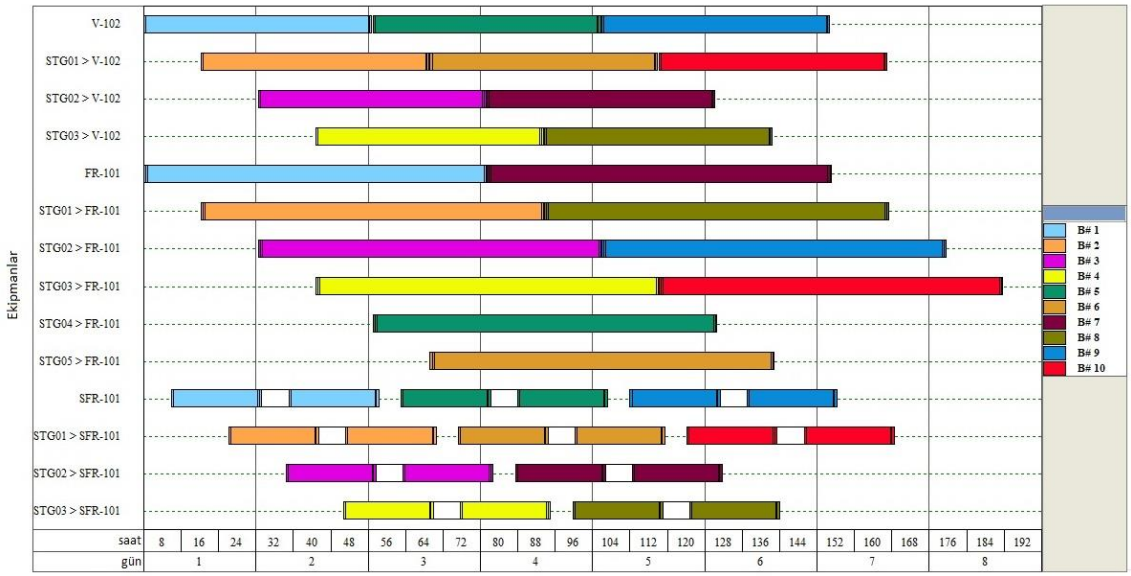


Şekil 6.2 ABE üretim tesisinde kesikli işlem olarak çalıştırılan ekipmanların kullanım grafiği

Endüstriyel boyutta tesis tasarımı ve sistem simülasyonu işlemlerinde, tüm sistemin döngü sayısını belirleyen ekipman yani diğer ekipmanlar arasında en uzun süre kullanıma sahip olan ekipman için o tesisin darboğazı tanımlaması yapılabilmektedir [170]. Buna göre Şekil 6.2'de gösterilen ekipman kullanım süreleri grafiğinde sistem için darboğaz ABE fermantasyonunun gerçekleştiği fermantör olduğu açıkça görülmektedir (FR-101). Yapılabilecek ek verimlilik analizleri ile bu durumun giderilerek, tesis için sene boyunca gerçekleştirebileceği kesikli işlem sayısının arttırılabilmesi, yani tek bir kesikli işlemde yükleme

yapılacak ham madde miktarının azaltılması, dolayısıyla ekipman hacimlerinin azaltılması ve cihazların etkin kullanım süre yüzdelerinin artmasını sağlamak mümkün olabilmektedir. Ancak her iki durumu da daha belirgin şekilde kıyaslayabilmek adına, temel olarak on adet kesikli işlem için tesisin ihtiyaç duyduğu süre, iş gücü miktarı grafikleri de incelenmektedir. Buna göre Şekil 6.2'de gösterilen ilk üç kesikli işlemin tamamlanması için yaklaşık 220 saate ihtiyaç duyulmakta ve ilk on kesikli işlemin tamamlanması için ise 735 saat gerekmektedir.

Endüstriyel boyutta tasarlanan ve pirinç atıklarından ABE üretimi gerçekleştiren tesis bünyesindeki ekipmanların ve tesisteki iş gücünün daha etkin kullanımı, yatırım maliyetlerin düşürülmesi için SuperPro Designer'da sunulan aynı görevi yapan ekipmanların aşamalı olarak çalışmasını sağlayan "aşamalı mod" tüm kesikli işlemlere uygulanmıştır.



Şekil 6.3 ABE üretim tesisinde kesikli işlem olarak çalıştırılan ekipmanların kullanım grafiği (aşamalı mod)

Buna göre, aynı işlemi yapan ekipman için eklenen n adet ekstra ekipman sayesinde, ekipmanın yeni devir süresi, eski devir süresinin n+1'e oranlanması ile hesaplanmaktadır. Yani mevcut durumda 73,5 saat olan fermantör devir süresi (kesikli fermantasyon süresi), aşamalı çalıştırılmak üzere eklenen beş ekstra ekipman ile yaklaşık 12,3 saate düşmektedir. Benzer uygulamanın katı-hal

fermantasyonunun gerçekleştiği tank için ekstra üç set ve kültür büyütme fermantörleri için de ekstra üç set olarak gerçekleştirildiğinde, ekipmanların etkin kullanım süreleri arttığı açıkça görülmektedir. Şekil 6.3'te aşamalı mod ile çalıştırılan ekipman çalışma gruplarının aktif olarak kullanıldığı sürelerden elde edilen aktif kullanım grafiği verilmiştir. Her bir renk farklı kesikli işlemi temsil ederken, SFR-101 kültür büyütme fermantörünü ve o ekipman için verilen STG01'den STG03'e kadar olan ekipmanlar ise aşamalı olarak başlatılan kültür büyütme fermantörlerini temsil etmektedir. Yani, SFR-101'in her 73,5 saatte bir başlatılması yerine, arada geçen boşluk zamanlarının değerlendirilmesi amacıyla aşamalı olarak başlatılması ve süre konusunda tesisin darboğazı olan fermantör (FR-101)'in döngü süresi içerisinde tekrarlı çalışması sayesinde ekipmanın aktif kullanım süre oranı %28 seviyelerinden yaklaşık %80'e ulaşmaktadır. Benzer durumu V-102 yani katı-hal fermantasyonunun gerçekleştiği tank için de incelersek, ekstra üç adet aşamalı çalışan tank sayesinde ekipmanın aktif kullanım süre oranı %99'u aşmaktadır. Temel durum ile, aşamalı ekipman çalıştırılmasının kıyaslamasını daha etkin yapabilmek amacıyla, bir önceki duruma benzer şekilde on adet kesikli işlem için ekipman kullanım süreleri Şekil 6.3'te verilmektedir. Buna göre, temel durumda on adet kesikli işlem gerçekleştirmek için ihtiyaç duyulan süre 735 saat iken, aşamalı ekipman çalıştırılması sayesinde gerekli süre yaklaşık 180 saat olmaktadır. Tüm yıl için gerçekleştirilecek kesikli işlem sayısı ise 653 adet olarak öngörülmektedir. Bu da temel durumda olan 109 kesikli işlem sayısına kıyasla yaklaşık 6 kat iyileştirme olduğunu göstermektedir. Bu sonucun başlıca sebebi ise, süre darboğazına sahip olan fermantör için (FR-101) aşamalı olarak çalıştırılacak beş adet ekstra fermantör eklenmesi, yani hesaplamada n değerinin 5 olması ile minimum döngü süresinin 73,5 saat yerine 6'ya (n+1) oranlanarak 12,3 saat olmasından kaynaklanmaktadır [170].

Ekipman kullanım süreleri ve ihtiyaç duyulan çalışan sayıları incelenen her iki senaryoyu, yatırım maliyeti ve gerekli ekipman sayıları açısından da karşılaştıracak olursak, temel durumda ihtiyaç duyulan 92 milyon $'a karşılık, aşamalı çalıştırılan sistem sayesinde yatırım maliyeti yaklaşık %15 azalarak 78,6 milyon $'a düşmektedir. Bu maliyeti oluşturan kalemler ilerleyen bölümlerde daha

detaylı olarak incelenecektir. Ancak, ortaya çıkan 13,4 milyon $'lık farkın temel sebebi ihtiyaç duyulan ekipman sayılarındaki değişkenlikler olarak ifade edilebilir. Yani, temel durumda ABE fermantöründen tüm fermantasyon ürünlerinin aynı anda depolama tankına, daha sonra ısı değiştirici ve kolonlara gönderilmesi sebebiyle, aşamalı çalıştırmaya kıyasla daha fazla sayıda ekipmana ihtiyaç duyulmaktadır. Başlıca farklar ise, aşamalı modda çalışma durumunda sekiz adet kültür fermantörü ihtiyacı duyulurken, temel durumda 15'e çıkmakta, ısı değiştirici 3'ten 13'e ve bira kolonu olarak tanımlanan ilk distilasyon kolonunda sayı 1'den 3'e çıkmaktadır. Böylece ekipman satın alma maliyeti 20,5 milyon $ ile 23,9 milyon $ olarak yaklaşık 3,4 milyon $'lık ek yatırım yüküne sebep olmaktadır. Ekipman süresi konusunda sistem darboğazı olan ve yıl içerisinde gerçekleştirilebilecek kesikli işlem sayısını belirleyen ABE fermantöründe ise temel durumda 339 m^3 hacimli 27 fermantöre ihtiyaç duyularak toplam fermantör maliyeti 12,8 milyon $ olmaktadır. Diğer taraftan aşamalı çalışma sisteminde ise 305 m^3 hacimli 30 adet fermantöre ihtiyaç duyulmakta ve tesis için maliyeti 13,3 milyon $ olmaktadır. Ancak aşamalı modda çalıştırma sistemi ile fermantörden kaynaklı ortaya çıkan 500 bin $'lık ek maliyet, diğer ekipmanların ihtiyaç duyulan sayılarındaki azalmalar sayesinde dengelenmekte ve yaklaşık 3,4 milyon $'lık tasarruf elde edilmektedir. Elde edilen yatırım sonuçlarına, ekipman aktif kullanım sürelerine ve yıl içerisinde gerçekleştirilen kesikli işlem sayılarındaki artışa dayanarak, ilerleyen bölümlerde incelenecek olan tesis üretim kapasitesinin karlılık analizine etkilerinde tesis bünyesindeki kesikli olarak çalışan ekipmanların çalışma modu aşamalı mod olarak belirlenerek yatırım ve fizibilite analizleri gerçekleştirilecektir.

6.3 Tesis Kapasitesinin Karlılık Analizine Etkileri

Bu çalışmada beş ayrı tesis kapasitesi temel alınarak altı ayrı senaryo için simülasyon gerçekleştirilmiş, ekipman maliyetleri ve yıllık gelir miktarları hesaplanmış ve karlılık analizi yapılmıştır. Buna göre tesislerin saatlik atık pirinç işleme kapasiteleri 10 ton, 20 ton, 30 ton, 40 ton ve 50 ton olarak belirlenmiştir.

6.3.1 Senaryo 1

6.3.1.1 Tesis Yatırım Maliyeti

SuperPro Designer kullanılarak hazırlanan iki adımlı fermantasyon ile bütanol üretim tesisine uygulanan ilk senaryoda yıllık tesisin saatlik 10 ton atık pirinç (%20 nem içerikli) işlediği temel alınmıştır. Buna göre hazırlanan akış diyagramında gerekli akım miktarları hesaplanarak gerçekleştirilen simülasyon sonucunda program çıktısı olarak tesis için uygun ekipman hacimleri, gerekli ekipman adetleri ve birim fiyatları alınmıştır. Tablo 6.5'te listelenen fiyatlar ekipmanların satış fiyatları olup, kurulum gibi diğer yatırım kalemlerinin hesaplanmasında temel olarak kullanılmıştır. Ayrıca, ekipman satın alma maliyeti bünyesinde yer alan öngörülemeyen maliyet de toplam sermayeye dahil edilmesi amacıyla, toplam ekipman satın alma maliyetinin %5'i olacak şekilde diğer ekipman maliyetlerine eklenmektedir. Buna göre saatlik 10 ton atık pirinç işleyerek solvent üreten tesisinin ekipman satın alma fiyatı toplam 20,5 milyon $ olarak hesaplanmış ve bu maliyette en büyük pay ise %65,1 ile fermantör maliyeti olarak öne çıkmaktadır.

Tablo 6.5 Saatlik 10 ton atık pirinç işleme kapasiteli ABE üretim tesisi için gerekli ekipman sayıları ve satın alma maliyetleri

Ekipman	Açıklama	Adet	Birim Fiyat ($)	Toplam ($)
Fermantör	Hacim = 305 m^3	30	446000	13380000
Vidalı pres	Kapasite = 92,8 ton/saat	1	1696000	1696000
Kültür fermantörü	Hacim = 30,7 m^3	8	134000	1072000
Düz tabanlı tank	Hacim = 161 m^3	4	225000	900000
Düz tabanlı tank	Hacim = 117 m^3	4	156000	624000
Isı değiştirici	Isı transfer alanı = 70 m^2	3	106000	318000
Silo	Hacim = 941 m^3	1	279000	279000
Türbin Jeneratör	Güç = 1026,9 kW	1	218000	218000

Tablo 6.5 Saatlik 10 ton atık pirinç işleme kapasiteli ABE üretim tesisi için gerekli ekipman sayıları ve satın alma maliyetleri (devamı)

Buhar Jeneratörü	Kapasite = 12,5 ton/saat	1	217000	217000
Kurutucu	Kurutma alanı = 11,9 m^2	1	146000	146000
Distilasyon kolonu	Hacim = 10,3 m^3	1	126000	126000
Distilasyon kolonu	Hacim = 3,6 m^3	1	120000	120000
Öğütücü	Kapasite = 8,7 ton/saat	1	117000	117000
Karıştırma tankı	Hacim = 51,3 m^3	2	54000	108000
Distilasyon kolonu	Hacim = 12,6 m^3	1	66000	66000
Distilasyon kolonu	Hacim = 1,5 m^3	1	47000	47000
Dekanter	Hacim = 1,2 m^3	1	40000	40000
Isı değiştirici	Isı transfer alanı = 6,7 m^2	1	26000	26000
Isı değiştirici	Isı transfer alanı = 1,3 m^2	1	10000	10000
Diğer ekipman	-	-	-	1027000
			Toplam	20536000

Saatlik 10 ton atık pirinç işleme kapasiteli ABE üretim tesisinin solvent üretimi için planlanan gerekli ekipman satın alma maliyetleri hesaplanmasının ardından, doğrudan tesis yatırım maliyetleri de hesaplanan değerin Tablo 6.2'de listelenen uygun katsayılar ile çarpılması ile elde edilmektedir. Buna göre, tesisin kurulumunu doğrudan ilgilendiren ekipman satın alma, kurulum, proses borulama, yalıtım, elektrik gibi maliyetlerin toplamı 42,8 milyon $ olarak hesaplanmıştır (Tablo 6.6). Bu maliyetlere ilave olarak dolaylı tesis yatırım maliyeti başlığı altında sınıflandırılabilen mühendislik ve inşaat maliyetleri ise toplam 25,7 milyon $ olarak hesaplanmış ve tesis için dolaylı ve doğrudan tesis maliyeti toplam 68,4 milyon $ olarak elde edilmiştir. Tesis kurulumu boyunca yüklenici firma gelirleri ve öngörülemeyen maliyetler için ayrılması gereken 10,3 milyon $ ile saatlik 10 ton atık pirinç işleme kapasiteli solvent üretim tesisinin tüm tesis sermaye maliyeti 78,7 milyon $ olarak hesaplanmıştır.

Tablo 6.6 Saatlik 10 ton atık pirinç işleme kapasiteli ABE üretim tesisi için toplam sermaye maliyetleri

A. Doğrudan Tesis Yatırım Maliyetleri	**($)**
1. Ekipman satın alma	20536000
2. Kurulum	6207000
3. Proses borulama	4107000
4. Kontrol cihazları	2054000
5. Yalıtım	616000
6. Elektrik	2054000
7. Bina	1026000
8. Arazi ıslahı	2054000
9. Yardımcı tesisler	4107000
Doğrudan Tesis Yatırım Maliyetleri	42761000
B. Dolaylı Tesis Yatırım Maliyetleri	
1. Mühendislik	10690000
2. İnşaat	14967000
Dolaylı Tesis Yatırım Maliyetleri	25657000
C. Toplam Tesis Yatırım Maliyeti (A+B)	68418000
D. Yüklenici Ücreti ve Öngörülemeyen Maliyetler	
1. Yüklenici ücreti	3421000
2. Öngörülemeyen maliyetler	6842000
Yüklenici Ücreti ve Öngörülemeyen Maliyetler	10263000
E. Tüm Tesis Sermaye Maliyeti (C+D)	78681000

6.3.1.2 Tesis İşletme Giderleri

İki adımlı fermantasyon prosesi ile bütanol üretim tesisinin tesis işletme maliyetleri genel olarak ısıtma, soğutma ve elektrik masraflarını içeren tesis giderleri, ham madde maliyeti, laboratuvar masrafları, çalışan ücretleri, bakım ve diğer giderler olarak sınıflandırılabilmektedir. Tesis giderleri hesaplamaları

SuperPro Designer'dan elde edilen elektrik, buhar ve soğutma suyu miktarlarının birim fiyatlar (SuperPro Designer kütüphanesindeki fiyatlar) ile çarpılması sonucu hesaplanmış ve Tablo 6.7'de listelenmiştir. Şekeri alınmış pirinç kekinin buhar jeneratöründe yakılması ile üretilen buhar ve o buharın buhar-türbin jeneratöründe kullanılması ile üretilen güç ve düşük basınçlı buharın tesiste kullanılması ile yıllık harcamalarda önemli ölçüde düşüş elde edilmektedir. Ayrıca tesis bünyesindeki ısıtma ve soğutma işlemlerinden geriye kalan atık ısının da sanal ısı entegrasyonu ile kullanımı sayesinde tesis harcamalarında tasarruf sağlanmaktadır. Buna göre ısıtma, soğutma ve elektrik için toplam yıllık tesis maliyeti yaklaşık 7,8 milyon $ olarak hesaplanmıştır.

Tablo 6.7 Saatlik 10 ton atık pirinç işleme kapasiteli ABE üretim tesisi için yıllık tesis giderleri

Harcamalar	**Birim maliyet ($)**	**Yıllık miktar**	**Toplam ($/yıl)**
Elektrik ($/kW-saat)	0,10	27736624	2773662
Buhar ($/ton)	12,00	410459	4925508
Soğutma suyu ($/ton)	0,05	43130701	2156535
Soğutulmuş su ($/ton)	0,40	196321	78528
		Toplam ($/yıl)	9934234
Tasarruf	**Birim fiyat ($)**	**Yıllık miktar**	**Toplam ($/yıl)**
Elektrik üretimi ($/kW-saat)	0,10	7393529	739353
Buhar üretimi ($/ton)	12,00	100466	1205592
Isı kazanımı ($/ton)	0,05	3610128	180506
		Toplam ($/yıl)	2125451
		Net toplam ($/yıl)	7808783

Tablo 6.7'de ısı kazanımı, tesis içerisinde kullanılan soğutma suyunun tekrar kullanılarak diğer akımların soğutulmasında değerlendirilmesini ifade etmektedir. Verilen miktarlar soğutma suyu miktarlarıdır. Verilen tesis harcamalarına göre, buhar türbin jeneratöründe üretilen güç ile (7393529 kW-saat/yıl) 739 bin $ ve ısı entegrasyonu ile tekrar kullanılan yıllık 3,6 milyon ton soğutma suyu ile 180

bin $ tasarruf edilerek, bu iki kalemden elde edilen toplam tasarruf yaklaşık 920 bin $'a ulaşmaktadır. Bu miktar, bütanol üretim birim maliyetine katkısı 0,07 $/kg olarak hesaplanmaktadır. Ayrıca, türbinde üretilen yıllık 100 bin ton düşük basınçlı buhar ile tesiste gerekli buharın yaklaşık %25'i karşılanmakta ve toplam buhar maliyeti 3,7 milyon $'a düşmektedir. Böylece, buhar tasarrufundan elde edilen yaklaşık 1,2 milyon $'ın bütanol üretim maliyetine etkisi ise 0,10 $/kg olarak hesaplanmıştır. Uygulanan her iki yöntem ile yıllık yaklaşık 2,1 milyon $ tasarruf edilmekte ve bütanol birim maliyeti kg başına 0,17 $ azalarak 1,24 $/kg olmaktadır.

Yıllık işletme giderlerinin en önemli kalemlerinden olan ham madde giderleri, solvent üretiminde kullanılan atık pirinç ve kültür büyütme için kullanılan besiyeri giderlerini kapsamaktadır. Saatlik 10 ton atık pirinç işleme kapasiteli ABE tesisinin yıllık pirinç işleme kapasitesi yaklaşık 83 bin ton olmakta ve 50 $/ton birim maliyet ile yıllık maliyeti yaklaşık 4,2 milyon $'a ulaşmaktadır. Besiyeri maliyeti ise literatürde çalışmalara dayanarak 200 $/ton birim maliyet ile [161] yıllık 700 bin $'a erişmektedir. Böylece, ham madde giderleri tesis için yıllık toplam 4,9 milyon $ olarak elde edilmektedir. Tesis içerisinde çalışanların aylık masrafları ise ekipman başına gerekli personel sayılarının birim saat ücretleri ile çarpılması ile hesaplanmaktadır, yıllık 20 bin $ ücret ile toplam çalışan masrafı 1 milyon $ olarak öngörülmektedir [26]. Tesis bakım maliyetleri, tesis ekipman satın alma giderinin %1'i olarak belirlenmiş ve yıllık bakım maliyeti 787 bin $ olarak hesaplanmıştır. Diğer taraftan laboratuvar masrafları ise çalışan ücretlerinin %8'i ile yıllık yaklaşık 80 bin $ ve diğer giderler ise tesis giderlerinin %5'i olarak öngörülmüş yaklaşık 833 bin $ olarak hesaplanmıştır [20], [162]. Böylece işletme maliyeti yıllık toplam 15,4 milyon $'a ulaşmaktadır ve bu maliyetteki en büyük gider olan tesis harcamaları ise ile toplam işletme giderinin %50,8'ini oluşturmaktadır.

6.3.1.3 Tesis Gelirleri ve Karlılık Analizi

ABE üretim tesisinin gelirleri üretilen aseton, bütanol ve etanolün satışından elde edilmektedir. Diğer potansiyel gelir kaynaklarından olan gazlar (CO_2 ve H_2), asitler (asetik asit ve bütirik asit) ve fermantasyon atıklarından elde edilecek

gelirler ihmal edilmiştir. Saatlik 10 ton atık pirinç işleme kapasiteli ABE üretim tesisinin yıllık solvent üretimi aseton, bütanol ve etanol için sırasıyla 6,7 bin ton, 12,3 bin ton ve 215 ton olarak öngörülmekte ve 1,28 $/kg, 1,73 $/kg ve 1,05 $/kg birim satış fiyatları ile elde edilen yıllık toplam gelir yaklaşık 30,1 milyon $ olarak hesaplanmaktadır [163]. Tablo 6.8'de endüstriyel boyutta ABE üretim tesisinin ilk beş yıl için nakit akışı ve tesisin karlılık analizi verilmektedir.

Tablo 6.8 Saatlik 10 ton atık pirinç işleme kapasiteli ABE üretim tesisinin nakit akışı ve karlılık analizi

A. Toplam tesis maliyeti (milyon $)					78,7
Anapara (25%) (milyon $)					19,7
Kredi (75%) (milyon $)					59
Faiz oranı (%)					5
Kredi geri ödeme süresi (yıl)					10
İndirgeme oranı (%)					5
	Nakit akışı (milyon $/yıl)				
Proje Dönemi (yıl)	1	2	3	4	5
B. İşletme giderleri (milyon $/yıl)	15,4	15,4	15,4	15,4	15,4
Ham madde	4,9	4,9	4,9	4,9	4,9
Tesis giderleri	9,9	9,9	9,9	9,9	9,9
İşçilik	1	1	1	1	1
Bakım	0,8	0,8	0,8	0,8	0,8
Laboratuvar harcamaları	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
Diğer giderler	0,8	0,8	0,8	0,8	0,8
Tasarruflar	2,1	2,1	2,1	2,1	2,1
C. Gelirler (milyon $/yıl)	30,1	30,1	30,1	30,1	30,1
Aseton	8,5	8,5	8,5	8,5	8,5
Bütanol	21,3	21,3	21,3	21,3	21,3
Etanol	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2

Tablo 6.8 Saatlik 10 ton atık pirinç işleme kapasiteli ABE üretim tesisinin nakit akışı ve karlılık analizi (devamı)

D. FAVÖK	(C-B)	14,8	14,8	14,8	14,8	14,8
E. Amortisman	(A*%5)	3,9	3,9	3,9	3,9	3,9
F. Faiz ve diğer ücretler		3,0	2,7	2,4	2,1	1,8
G. Vergi öncesi kar	(D-(E+F))	7,9	8,2	8,5	8,8	9,1
H. Gelir vergisi (%20)	(G*%20)	1,6	1,6	1,7	1,8	1,8
I. Net kar	(D-(F+H))	10,2	10,5	10,8	11	11,2
Proje ömrü (yıl)		20				
Net bugünkü değer (milyon $)		64,9				
İç karlılık oranı (%)		13				
Geri ödeme süresi (yıl)		8				

İşletme yatırımları için kar hesaplamalarında önemli kavramlardan olan FAVÖK yabancı kökenli finansal bir terim olan EBITDA (Earnings Before Interest, Tax, Depreciation and Amortization) kelimesinin Türkçe karşılığı olan "Faiz, Amortisman ve Vergi Öncesi Kâr" anlamına gelmektedir [171]. Buna göre saatlik 10 ton atık pirinç işleyen ABE tesisinin FAVÖK hesaplaması elde edilen tesis gelirlerinden, tesis işletme giderlerinin çıkarılması ile 14,8 milyon $ olarak hesaplanmıştır. İşletmenin yapacağı net karın belirlenmesi için ise FAVÖK'ten faiz, vergi ve amortisman giderlerinin çıkarılması gerekmektedir. Amortisman ise bir işletmenin değerlerinin ya da bir malın varlığının yıllar içinde kullanım, aşınma, yıpranma ya da eskimeye bağlı olarak azalmasını ifade etmektedir [172], [173]. Bu azalma miktarı, işletmenin gelir kalemlerinden düşülerek net kar hesaplanmasında kullanılır ve gelirlerin vergilendirme işlemi net kar üzerinden yapılmaktadır. Yani işletmelerin vergi hesaplamalarında amortisman harcama kalemi olarak gösterilmektedir. Bu çalışmada amortisman değeri %5 kabul edilmiş ve yıllık 3,9 milyon $ olarak hesaplanmıştır [173], [174], [175].

Net bugünkü değer, iç karlılık oranı ve geri ödeme süresi ise yatırımları ilgilendiren, yatırımları kıyaslamada ya da değerlendirmede kullanılan diğer önemli göstergelerdendir. İlk kavram olan net bugünkü değer, bir işletmenin çalışma ömrü süresince ortaya çıkardığı gelir ve harcamalardan oluşan nakit akışlarının bugünkü değerlerini ifade etmektedir. Sermaye bütçelendirme, yatırım planlama amaçları ile kullanılır, paranın zamanla değişimi ise paranın değer kaybından ya da o para ile olası gelir alternatiflerinden kaynaklanmakta ve uygun bir indirgeme oranı ile paranın bugünkü değeri hesaplanmaktadır [176]. Bir nakit akışının net bugünkü değeri aşağıda verilen eşitlik (6.1) ile hesaplanmaktadır. Bu eşitlikte NPV net bugünkü değeri, CF nakit akışları, n dönem sayısını ve i ise indirgenme oranını ifade etmektedir. Yatırım ise tesis kurulumu için ayrılan tüm sermayeyi kapsamaktadır.

$$\mathrm{NPV} = \frac{\mathrm{CF}}{(1+\mathrm{i})^{\mathrm{n}}} - \mathrm{Yatırım} \tag{6.1}$$

Yukarıdaki formüle göre saatlik 10 ton atık pirinç işleme kapasiteli ABE üretim tesisinin nakit akışlarının 20 yıllık proje ömrü üzerinden ve %5 indirgeme oranı ile net bugünkü değeri 64,9 milyon $ olarak hesaplanırken, bu değerin pozitif olması önerilen projenin uygulanabilirliğini, değeri ise kar potansiyelini ifade etmektedir.

Nakit akışlarının zaman değerinin göz önünde bulundurularak hesaplanan iç karlılık oranı ya da paranın zaman değerinin göz önüne alınmadan hesaplanan yatırım getirisi kavramları ise yapılan yatırımın getiri oranını hesaplamak amacı ile kullanılmaktadır. Buna göre iç karlılık oranı, mevcut projenin ekonomik ömrü boyunca sağladığı nakit akışlarının bugünkü değerinin, yatırım harcamalarının bugünkü değerine eşit olduğu noktadır. Yani, tesis nakit akışlarının net bugünkü değer kavramını sıfıra eşit kılan indirgenme oranını vermekte, aşağıda verilen eşitlik ile (6.2) hesaplanmaktadır [177], [178], [179].

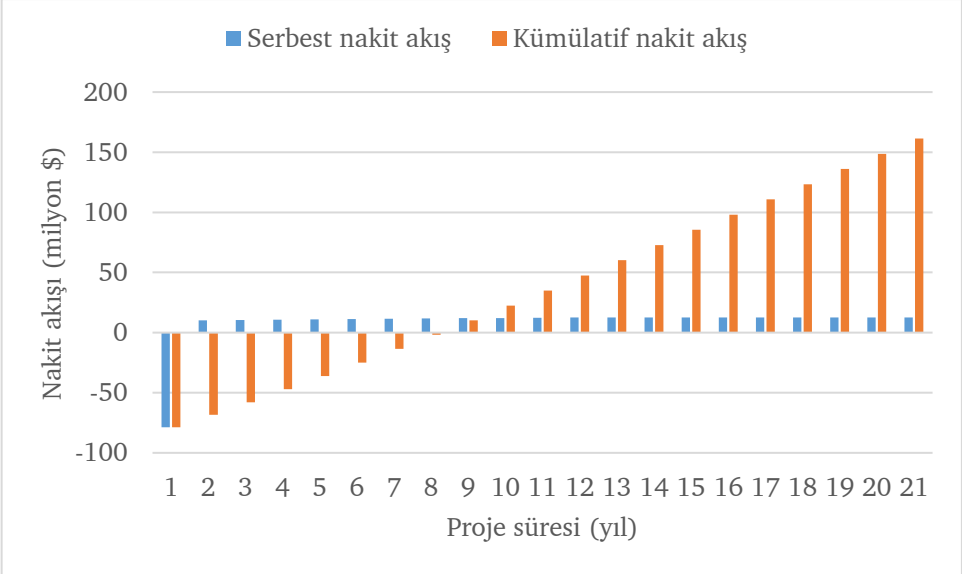
$$0 = \mathrm{NPV} = \sum_{\mathrm{n}=0}^{\mathrm{N}} \frac{\mathrm{CF_n}}{(1+\mathrm{IRR})^{\mathrm{n}}} \tag{6.2}$$

Verilen eşitlikte NPV net bugünkü değer, N operasyon süresi, n dönem, CF ise nakit akışlarını ifade etmektedir. Yani tesis ömrü boyunca ilgilenilen yıllık dönemlerdeki nakit akışlarının net bugünkü değerini sıfıra indirgeyen kavram olarak ifade edilmektedir.

Yukarıdaki verilen iç karlılık oranı eşitliğine göre saatlik 10 ton atık pirinç işleme kapasiteli ABE üretim tesisinin iç karlılık oranı %13 olarak hesaplanmıştır.

Yatırım değerlendirmesinde incelenen son kavram ise geri ödeme süresidir. Bu kavram yatırım için harcanmış fonların, projenin ekonomik ömrü boyunca elde edilen net karlar ile başa baş noktasına ulaşması için gerekli süreyi ifade etmektedir. Yani, projeye yapılan yatırımların ne kadar sürede geri alınabileceğini gösteren zaman kavramıdır, aşağıdaki eşitlik ile hesaplanmaktadır. Buna göre işletmenin geri ödeme süresi 8 yıl olarak öngörülmektedir [180], [181]. Eşitlik 3'te PB, geri ödeme süresini temsil etmekte ve (6.3) eşitliği ile belirlenebilmektedir. Yatırım kavramı tesis kurulumu için gerekli sermaye ya da tesisin ilk değerini, CF ise tesis ömrü boyunca incelenen operasyon sürelerinde net nakit akışlarını ifade etmektedir.

$$\mathrm{PB} = \frac{\text{Yatırım}}{\mathrm{CF}} \tag{6.3}$$



Şekil 6.4 Saatlik 10 ton atık pirinç işleme kapasiteli ABE üretim tesisinin nakit akışları ve başa baş noktası

Şekil 6.4'te saatlik 10 ton atık pirinç işleme kapasiteli ABE tesisinin nakit akışları gösterilmektedir. Proje ilk yılında gösterilen negatif nakit akışı tesis için yapılan yatırımı, diğer yıllardaki pozitif değerler ise tesisin elde ettiği net karları ifade etmektedir. Kümülatif nakit akışının sıfıra geldiği an ise tesis için başa baş noktasıdır ve geri ödeme süresini vermektedir.

6.3.2 Senaryo 2

6.3.2.1 Tesis Yatırım Maliyeti

Bu çalışmada yıllık üretim kapasitesinin tesis nakit akışlarına ve karlılık analizine etkilerini incelemek amacı ile SuperPro Designer'da ikinci kapasite olarak saatlik 20 ton atık pirinç işleme kapasiteli bütanol üretim tesisi tasarlanmış ve incelenmiştir. Buna göre akış diyagramındaki debilere ve ürün kapasitelerine göre ihtiyaç duyulan ekipman sayıları elde edilmiş ve bunlar da SuperPro Designer tarafından sunulan ekipman birim fiyatları ile çarpılarak toplam fiyat elde edilmiştir (Tablo 6.9). Ekipman birim fiyatlarına göre saatlik 20 ton atık pirinç işleme kapasiteli bütanol üretim tesisinin ihtiyaç duyacağı toplam satın alma miktarı saatlik 20 ton atık pirinç işleme kapasiteli bütanol üretim tesisine göre %91,2 artarak toplam 39,4 milyon $ olmuştur. Bu maliyette de en büyük pay %65,2 ile fermantöre aittir.

Tablo 6.9 Saatlik 20 ton atık pirinç işleme kapasiteli ABE üretim tesisi için gerekli ekipman sayıları ve satın alma maliyetleri

Ekipman	Açıklama	Adet	Birim Fiyat ($)	Toplam ($)
Fermantör	Hacim = 339 m3	54	475000	25650000
Vidalı pres	Kapasite = 92,8 ton/saat	2	1696000	3392000
Kültür fermantörü	Hacim = 40,9 m^3	12	159000	1908000
Düz tabanlı tank	Hacim = 184 m^3	7	280000	1960000
Düz tabanlı tank	Hacim = 117,8 m^3	8	156000	1248000
Isı değiştirici	Isı transfer alanı = 83,9 m^2	5	118000	590000
Silo	Hacim = 1882 m^3	1	506000	506000

Tablo 6.9 Saatlik 20 ton atık pirinç işleme kapasiteli ABE üretim tesisi için gerekli ekipman sayıları ve satın alma maliyetleri (devamı)

Türbin Jeneratör	Güç = 2235,8 kW	1	556000	556000
Buhar Jeneratörü	Kapasite = 24,9 ton/saat	1	367000	367000
Kurutucu	Kurutma alanı = 11,9 m^2	2	146000	292000
Distilasyon kolonu	Hacim = 20,7 m^3	1	157000	157000
Distilasyon kolonu	Hacim = 7,2 m^3	1	141000	141000
Öğütücü	Kapasite = 17,4 ton/saat	1	155000	155000
Karıştırma tankı	Hacim = 68,3 m^3	3	64000	192000
Distilasyon kolonu	Hacim = 25,3 m^3	1	90000	90000
Distilasyon kolonu	Hacim = 2,9 m^3	1	55000	55000
Dekanter	Hacim = 3,5 m^3	1	74000	74000
Isı değiştirici	Isı transfer alanı = 13,1 m^2	1	39000	39000
Isı değiştirici	Isı transfer alanı = 2,6 m^2	1	15000	15000
Diğer ekipman	-	-	-	1968000
			Toplam	39355000

Tüm tesis sermaye maliyetini oluşturan diğer kalemler, ekipman satın alma maliyeti üzerinden Tablo 6.2'de yer alan katsayılar ile çarpılarak belirlenmiş ve Tablo 6.10'da listelenmiştir. Buna göre tesis yatırımını doğrudan etkileyen maliyetler 82 milyon $, inşaat ve mühendislik gibi dolaylı tesis maliyetleri ise 49,2 milyon $ olmak üzere toplam tesis yatırım maliyeti 131,1 milyon $ olarak hesaplanmıştır. Tüm tesis sermaye maliyeti için son kalem olan yüklenici ücreti ve öngörülemeyen maliyetler ise 19,7 $ milyon ile saatlik 20 ton atık pirinç işleme kapasiteli bütanol üretim tesisinin tüm tesis sermaye maliyeti 150,9 milyon $ olarak hesaplanmıştır. İncelenen tüm senaryolarda, tesis yatırımını oluşturan kalemlerin aynı katsayılar ile çarpılmış ekipman satın alma maliyeti ile belirlendiği için, tüm tesis yatırım maliyeti benzer şekilde saatlik 10 ton atık pirinç işleme kapasiteli bütanol üretim tesisine göre %91,7 artmıştır.

Tablo 6.10 Saatlik 20 ton atık pirinç işleme kapasiteli ABE üretim tesisi için toplam sermaye maliyetleri

A. Doğrudan Tesis Yatırım Maliyetleri	**($)**
1. Ekipman satın alma	39355000
2. Kurulum	11941000
3. Proses borulama	7871000
4. Kontrol cihazları	3935000
5. Yalıtım	1181000
6. Elektrik	3935000
7. Bina	1968000
8. Arazi ıslahı	3935000
9. Yardımcı tesisler	7871000
Doğrudan Tesis Yatırım Maliyetleri	81992000
B. Dolaylı Tesis Yatırım Maliyetleri	
1. Mühendislik	20498000
2. İnşaat	28697000
Dolaylı Tesis Yatırım Maliyetleri	49195000
C. Toplam Tesis Yatırım Maliyeti (A+B)	131187000
D. Yüklenici Ücreti ve Öngörülemeyen Maliyetler	
1. Yüklenici ücreti	6559000
2. Öngörülemeyen maliyetler	13119000
Yüklenici Ücreti ve Öngörülemeyen Maliyetler	19678000
E. Tüm Tesis Sermaye Maliyeti (C+D)	150865000

6.3.2.2 Tesis İşletme Giderleri

ABE tesisinin yıllık işletme giderlerini tesis giderlerini oluşturan ısıtma, soğutma ve elektrik giderlerinin yanı sıra ham madde, işçilik, bakım gibi diğer giderler oluşturmaktadır. Buna göre tesiste soğutma işlemlerinde yıllık yaklaşık 85,8

milyon ton soğutma suyu (giriş sıcaklığı 25 °C, çıkış sıcaklığı 30 °C) ve 392,6 bin ton soğutulmuş su (giriş sıcaklığı 5 °C, çıkış sıcaklığı, 10 °C) kullanılarak toplam soğutma maliyeti 4,4 milyon $ olarak hesaplanmıştır.

Tablo 6.11 Saatlik 20 ton atık pirinç işleme kapasiteli ABE üretim tesisi için toplam sermaye maliyetleri

Harcamalar	**Birim maliyet ($)**	**Yıllık miktar**	**Toplam ($/yıl)**
Elektrik ($/kW-saat)	0,10	52213616	5221362
Buhar ($/ton)	12,00	821005	9852060
Soğutma suyu ($/ton)	0,05	85821115	4291056
Soğutulmuş su ($/ton)	0,40	392638	157055
		Toplam ($/yıl)	19521533
Tasarruf	**Birim fiyat ($)**	**Yıllık miktar**	**Toplam ($/yıl)**
Elektrik üretimi ($/kW-saat)	0,10	16096789	1609679
Buhar üretimi ($/ton)	12,00	200932	2411184
Isı kazanımı ($/ton)	0,05	7230019	361501
		Toplam ($/yıl)	4382364
		Net toplam ($/yıl)	15139169

Isıtma harcamaları kapsamında ise 821 bin ton (giriş ve çıkış sıcaklığı 152 °C) buhar kullanımı ile toplam maliyet yaklaşık 9,9 milyon $'a ulaşmıştır. Tablo 6.11'de listelenen tesis giderlerine göre saatlik 20 ton atık pirinç işleme kapasiteli ABE tesisinin toplam yıllık tesis gideri 19,5 milyon $ olarak hesaplanmıştır. Diğer taraftan, ısı entegrasyonu ile 361,5 bin $, elektrik üretimi ile 1,6 milyon dolar ve buhar üretimi ile 2,4 milyon $ tasarruf edilerek net tesis maliyeti 15,1 milyon $'a gerilemiştir. Buna göre yıllık tesis harcamaları, saatlik 10 ton atık pirinç işleme kapasiteli ABE üretim tesisine göre yaklaşık %93 artmıştır.

Tesis için, ham madde, işçilik, laboratuvar gibi diğer yıllık harcamalar da dahil edildiğinde, yıllık işletme maliyetlerinde en büyük pay %50,5 ile tesis harcamalarına ait olduğu Tablo 6.12'de görülmektedir. Saatlik 20 ton atık pirinç işleme kapasiteli ABE tesisinin üretimi sürdürebilmek için yıl boyunca işleyeceği

toplam ham madde miktarı 166 bin ton atık pirinç (ağırlıkça %20 nem içerikli) olarak hesaplanmış ve 50 $/ton birim alış fiyatı ile yıllık maliyeti 8,3 milyon $ olarak belirlenmiştir. Benzer şekilde besiyeri maliyeti de yıllık 1,4 milyon $ olarak hesaplanarak toplam ham madde maliyeti 9,7 milyon $'a erişmektedir. Diğer yıllık harcama kalemleri ise işçilik 1,8 milyon $, bakım 1,5 milyon $ (tüm tesis sermaye maliyetinin %1'i), laboratuvar harcamaları yaklaşık 144 bin $ (çalışan harcamalarının %8'i) ve diğer giderler 1,6 milyon $ (yıllık tesis işletme giderlerinin %5'i) olmak üzere toplam işletme giderleri 29,9 milyon $ olarak hesaplanmıştır. Buna göre, bütanol üretim maliyeti ise kg başına 0,18 $ tasarruf (tesis harcamalarından elde edilen) ile 1,21 $/kg olarak hesaplanmıştır.

6.3.2.3 Tesis Gelirleri ve Karlılık Analizi

Saatlik 20 ton atık pirinç işleme kapasiteli bütanol üretim tesisinin yıllık gelirleri aseton, bütanol ve etanol satışlarından elde edilen gelirlerden oluşmaktadır. Buna göre yıllık üretilen 13,4 bin ton aseton, 24,7 bin ton bütanol ve 429,6 ton etanolden tesisin elde ettiği toplam gelir 60,3 milyon $ olarak hesaplanmıştır. Tesis gelirlerinden 29,9 milyon $ işletme giderleri çıkarıldığında 20 ton/saat atık pirinç işleme kapasiteli bütanol üretim tesisi için FAVÖK 30,3 milyon $ olarak hesaplanmaktadır. Bu değerden ise %5 amortisman ve kredi giderleri de çıkarıldığında %20 gelir vergisi ilk yıl için yaklaşık 3,4 milyon $ olarak öngörülmektedir.

Tablo 6.12 Saatlik 20 ton atık pirinç işleme kapasiteli ABE üretim tesisinin nakit akışı ve karlılık analizi

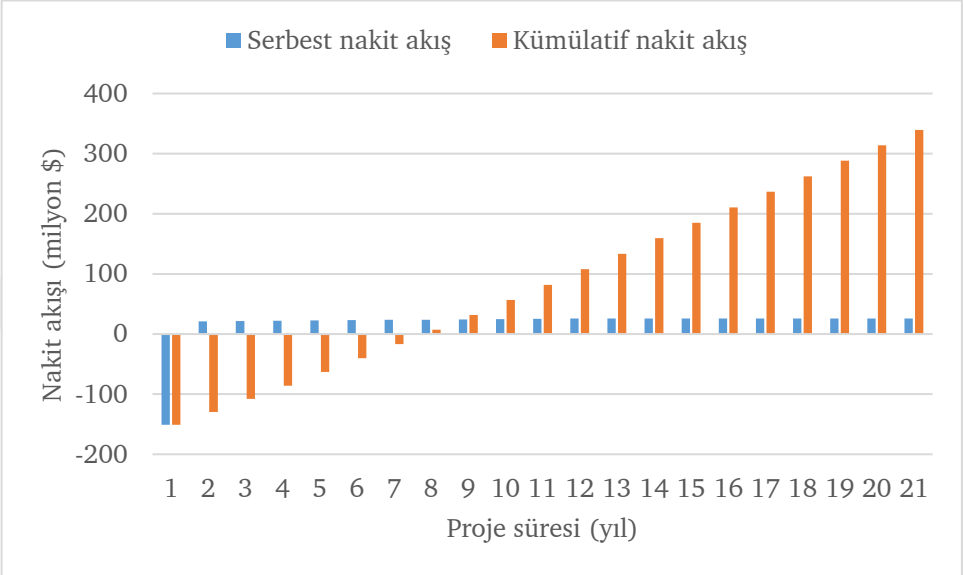
A. Toplam tesis maliyeti (milyon $)	150,9
Anapara (25%) (milyon $)	37,7
Kredi (75%) (milyon $)	113,2
Faiz oranı (%)	5
Kredi geri ödeme süresi (yıl)	10
İndirgeme oranı (%)	5
	Nakit akışı (milyon $/yıl)

Tablo 6.12 Saatlik 20 ton atık pirinç işleme kapasiteli ABE üretim tesisinin nakit akışı ve karlılık analizi (devamı)

Proje Dönemi (yıl)		1	2	3	4	5
B. İşletme giderleri (milyon $/yıl)		29,9	29,9	29,9	29,9	29,9
Ham madde		9,7	9,7	9,7	9,7	9,7
Tesis giderleri		19,5	19,5	19,5	19,5	19,5
İşçilik		1,8	1,8	1,8	1,8	1,8
Bakım		1,5	1,5	1,5	1,5	1,5
Laboratuvar harcamaları		0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
Diğer giderler		1,6	1,6	1,6	1,6	1,6
Tasarruflar		4,4	4,4	4,4	4,4	4,4
C. Gelirler (milyon $/yıl)		60,3	60,3	60,3	60,3	60,3
Aseton		17,1	17,1	17,1	17,1	17,1
Bütanol		42,7	42,7	42,7	42,7	42,7
Etanol		0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
D. FAVÖK	(C-B)	30,3	30,3	30,3	30,3	30,3
E. Amortisman	(A*%5)	7,5	7,5	7,5	7,5	7,5
F. Faiz ve diğer ücretler		5,7	5,1	4,5	4,0	3,4
G. Vergi öncesi kar	(D-(E+F))	17,1	17,7	18,3	18,7	19,4
H. Gelir vergisi (%20)	(G*%20)	3,4	3,5	3,7	3,8	3,9
I. Net kar	(D-(F+H))	21,2	21,7	22,2	22,6	23,1
Proje ömrü (yıl)		20				
Net bugünkü değer (milyon $)		142,6				
İç karlılık oranı (%)		14				
Geri ödeme süresi (yıl)		7				

Tesis yatırımı için ihtiyaç duyulan toplam 150,9 milyon $'lık sermayenin %25'i anapara olacak şekilde geriye kalan %75'inin %5 faiz oranı ile 10 yıl geri ödemeli

kredi çekildiği varsayımı üzerine, 20 ton/saat atık pirinç işleme kapasiteli bütanol üretim tesisi için 20 yıllık proje ömrü ve %5 indirgenme oranı göz önüne alındığında; net bugünkü değeri yaklaşık 142,5 milyon $, iç karlılık oranı %14 ve geri ödeme süresi 7 yıl olarak hesaplanmaktadır. Buna göre kapasitenin iki kat artışı ile iç karlılık oranı %13'ten %14'e yükselmiş, geri ödeme süresi ise 8 yıldan 7 yıla düşmektedir.



Şekil 6.5 Saatlik 20 ton atık pirinç işleme kapasiteli ABE üretim tesisinin nakit akışları ve başa baş noktası

Şekil 6.5'te saatlik 20 ton atık pirinç işleme kapasiteli ABE tesisinin 20 yıllık serbest ve kümülatif nakit akışları görülmektedir. İlk yıl yapılan 150,9 milyon $ yatırım ardından diğer yıllarda pozitif yönde gerçekleşen yıllık ortalama 21 milyon $'lık serbest nakit akışları ile kümülatif nakit akış değeri yaklaşık 7,5 yılda sıfıra ulaşmaktadır. Bu zaman dilimi tesis için başa baş noktasını ifade etmektedir ve yapılan yatırımın geri kazanım süresi yaklaşık 7 yıl olduğu görülmektedir.

6.3.3 Senaryo 3

6.3.3.1 Tesis Yatırım Maliyeti

Tesis kapasitesinin tesis nakit akışları, karlılık analizi ve yatırım fizibilitesine etkilerinin incelenmesinde hazırlanan üçüncü senaryoda tesisin kapasitesi saatlik 30 ton atık pirinç işlenmesi ile solvent üretimi olarak belirlenmiştir. Tablo 6.13'te

gösterilen ekipman birim fiyat ve adetleri SuperPro Designer'da hazırlanmış ve simülasyonu yapılmış tesis için yazılımdan alınmış gerekli ekipman bilgileridir. Buna göre, üçüncü senaryoda ürün kapasitesi ilk senaryoya göre göre üç kat artarken ihtiyaç duyulan fermantör sayısı 2,8 kat artarak 84 fermantöre ulaşmakta ve bu kalem için toplam 39 milyon $ ödenmesi öngörülmektedir. Bu miktar toplam ekipman satın alma maliyetinin yaklaşık %62,2'sine denk gelmektedir. Ayrıca, toplam ekipman satın alma maliyetinin tüm tesis sermaye maliyetinin %26,1'ini oluşturduğu görülmektedir. Bu senaryoda da, listelenmeyen ekipman yani öngörülemeyen ekipman satın alma maliyetleri için yaklaşık 3 milyon $ ayrılmaktadır.

Tablo 6.13 Saatlik 30 ton atık pirinç işleme kapasiteli ABE üretim tesisi için gerekli ekipman sayıları ve satın alma maliyetleri

Ekipman	Açıklama	Adet	Birim Fiyat ($)	Toplam ($)
Fermantör	Hacim = 327 m^3	84	465000	39060000
Vidalı pres	Kapasite = 92,8 ton/saat	3	1696000	5088000
Kültür fermantörü	Hacim = 46 m^3	16	171000	2736000
Düz tabanlı tank	Hacim = 193 m^3	10	306000	3060000
Düz tabanlı tank	Hacim = 176,7 m^3	8	260000	2080000
Isı değiştirici	Isı transfer alanı = 89,9 m^2	7	123000	861000
Silo	Hacim = 2823,5 m^3	1	1045000	1045000
Türbin Jeneratör	Güç = 3486,8 kW	1	950000	950000
Buhar Jeneratörü	Kapasite = 37,4 ton/saat	1	500000	500000
Kurutucu	Kurutma alanı = 17,9 m^2	2	173000	346000
Distilasyon kolonu	Hacim = 31 m^3	1	182000	182000
Distilasyon kolonu	Hacim = 10,9 m^3	1	157000	157000
Öğütücü	Kapasite = 26 ton/saat	1	193000	193000
Karıştırma tankı	Hacim = 76,9 m^3	4	68000	272000
Distilasyon kolonu	Hacim = 19 m^3	2	78000	156000

Tablo 6.13 Saatlik 30 ton atık pirinç işleme kapasiteli ABE üretim tesisi için gerekli ekipman sayıları ve satın alma maliyetleri (devamı)

Distilasyon kolonu	Hacim = 4,4 m^3	1	61000	61000
Dekanter	Hacim = 6,4 m^3	1	107000	107000
Isı değiştirici	Isı transfer alanı = 19,7 m^2	1	49000	49000
Isı değiştirici	Isı transfer alanı = 3,9 m^2	1	19000	19000
Diğer ekipman	-	-	-	2996000
			Toplam	59918000

SuperPro Designer'dan elde edilen simülasyon verileri ile belirlenen yaklaşık 60 milyon $'lık ekipman satın alma bedelinin ardından, diğer yatırım maliyet kalemleri bu bedelin Tablo 6.2'de verilen katsayılarla çarpılması ile hesaplanmıştır. Buna göre kurulum, kontrol cihazları, yalıtım, bina, elektrik ve bunun gibi doğrudan tesis yatırım maliyetleri çatısı altında bulunan maliyetler toplam 124,8 milyon $ olarak hesaplanmıştır. Dolaylı yatırım maliyetleri ise 74,9 milyon $ ile toplam tesis yatırım maliyetini 200 milyon $'a ulaştırmaktadır. Tesis yatırım sermaye harcamalarına ilişkin son kalem olan öngörülemeyen maliyetler ve yüklenici ücreti 29,9 milyon $ ile dahil edildiğinde tüm tesis sermaye maliyeti saatlik 30 ton atık pirinç işleme kapasiteli ABE tesisi için 229,9 milyon $ olarak elde edilmiştir. Yatırım maliyeti ile alakalı kalemler Tablo 6.14'te listelenmiştir. Saatlik 10 ton atık pirinç işleme kapasiteli tesise kıyasla, yıllık üretim kapasitesi üç kat artarken, yatırım maliyetinin yaklaşık 2,9 kat arttığı gözlemlenmiştir.

Tablo 6.14 Saatlik 30 ton atık pirinç işleme kapasiteli ABE üretim tesisi için toplam sermaye maliyetleri

A. Doğrudan Tesis Yatırım Maliyetleri	**($)**
1. Ekipman satın alma	59918000
2. Kurulum	18117000
3. Proses borulama	11984000
4. Kontrol cihazları	5992000
5. Yalıtım	1798000

Tablo 6.14 Saatlik 30 ton atık pirinç işleme kapasiteli ABE üretim tesisi için toplam sermaye maliyetleri (devamı)

6. Elektrik	5992000
7. Bina	2996000
8. Arazi ıslahı	5992000
9. Yardımcı tesisler	11984000
Doğrudan Tesis Yatırım Maliyetleri	124773000
B. Dolaylı Tesis Yatırım Maliyetleri	
1. Mühendislik	31193000
2. İnşaat	43671000
Dolaylı Tesis Yatırım Maliyetleri	74864000
C. Toplam Tesis Yatırım Maliyeti (A+B)	199637000
D. Yüklenici Ücreti ve Öngörülemeyen Maliyetler	
1. Yüklenici ücreti	9982000
2. Öngörülemeyen maliyetler	19964000
Yüklenici Ücreti ve Öngörülemeyen Maliyetler	29946000
E. Tüm Tesis Sermaye Maliyeti (C+D)	229583000

6.3.3.2 Tesis İşletme Giderleri

Endüstriyel boyutta saatlik 30 ton atık pirinç işleyen bütanol üretim tesisinin elektrik, ısıtma ve soğutma giderlerinden oluşan tesis yıllık giderleri yaklaşık 29 milyon $ olarak elde edilmiştir. Bu giderde en büyük pay %50,6 ile buhar kullanımına ait olduğu gözlemlenmiştir. Ayrıca, ilk senaryodaki yıllık 10 bin ton bütanol üretim kapasitesine kıyasla, kapasitenin 3 kat artmasına karşılık, tesis harcamaları da yaklaşık 2,9 kat artmıştır. Tesisin ısıtma, soğutma ve elektrik ihtiyacı için kullanım miktarları ve maliyetleri Tablo 6.15'te gösterilmektedir.

Sistem bünyesinde ortaya çıkan pirinç kekinin yakılması ile üretilen buhardan 3,6 milyon $, ısı entegrasyonu ile soğutma suyundan 542 bin $ ve türbinden üretilen elektrik ile 2,5 milyon $ tasarruf elde edilerek net yıllık tesis maliyeti toplam 6,7

milyon $ tasarruf ile 22,3 milyon $'a gerilemiştir. Tüm işletme giderleri Tablo 6.16'da verilmektedir. Tesis işletme maliyetlerinde en büyük pay yaklaşık %50 ile tesis giderlerine ait olduğu görülmektedir. Bu oran literatürde sunulan ham madde giderlerinin yıllık tesis harcamalarının yaklaşık 2/3'ünü oluşturduğu verisi ile örtüşmemektedir [12]. Yine de ham madde fiyatlarında oluşabilecek artış ya da farklı ham madde seçimleri, bu orana erişmeyi mümkün kılmaktadır. Saatlik 30 ton atık pirinç işleme için gerekli olan atık pirinç miktarı yıllık yaklaşık 249 bin ton olup, bu miktarın maliyeti de 50 $/ton birim fiyatı üzerinden 12,5 milyon $ olarak öngörülmektedir.

Tablo 6.15 Saatlik 30 ton atık pirinç işleme kapasiteli ABE üretim tesisi için yıllık tesis giderleri

Harcamalar	**Birim maliyet ($)**	**Yıllık miktar**	**Toplam ($/yıl)**
Elektrik ($/kW-saat)	0,10	76174949	7617495
Buhar ($/ton)	12,00	1231521	14778252
Soğutma suyu ($/ton)	0,05	128438061	6421903
Soğutulmuş su ($/ton)	0,40	588959	235584
		Toplam ($/yıl)	29053234
Tasarruf	**Birim fiyat ($)**	**Yıllık miktar**	**Toplam ($/yıl)**
Elektrik üretimi ($/kW-saat)	0,10	25102598	2510260
Buhar üretimi ($/ton)	12,00	301398	3616776
Isı kazanımı ($/ton)	0,05	10846426	542321
		Toplam ($/yıl)	6669357
		Net toplam ($/yıl)	22383877

Diğer taraftan, besiyeri maliyetleri de eklendiğinde toplam ham madde maliyeti 14,5 milyon $ olmaktadır. Ayrıca, işçilik ücretleri için 2,3 milyon $, bakım masrafları 2,3 milyon $ (tüm tesis sermaye maliyetinin %1'i), laboratuvar harcamaları 184 bin $ (işçilik giderlerinin %8'i) ve son olarak diğer giderler de 2,4 $ (yıllık işletme giderlerinin %5'i) ile işletme giderlerini yıllık 50,8 milyon $'a getirme ve tasarruf da dahil edildiğinde yıllık toplam işletme giderleri net 44,1

milyon $'a gerilemektedir. Yıllık maliyetin, yıllık üretilen bütanol miktarına oranlanması ile bütanol birim maliyeti ise 1,19 $/kg olarak hesaplanmaktadır. Tesis kapasitesinin üç kat artması ile bütanol maliyeti 1,24'ten 1,19'a düştüğü gözlemlenmiştir.

6.3.3.3 Tesis Gelirleri ve Karlılık Analizi

Saatlik 30 ton atık pirinç işleme kapasiteli tesisisin yıllık gelirleri üretilen 20 bin ton aseton, 37 bin ton bütanol ve 644 ton etanolün satışından oluşmaktadır. Buna göre 1,28, 1,73 ve 1,05 $/kg'lık birim fiyatlar yıllık gelir toplam 90,4 milyon $ olarak hesaplanmaktadır. Tesisin yıllık gelirlerinden 44,1 milyon $'lık işletme giderleri çıkarıldığında, işletmenin faiz, vergi ve amortisman öncesi karı 56,3 milyon $ olmakta ve bu miktardan amortisman ve diğer ücretler çıkarıldığında ise vergi öncesi kar ilk yıl için 32,4 milyon $'a ulaşmaktadır. Kar üzerinden %20 oranında ödenen vergi ile yıllık gelir vergisi miktarı 5,2 milyon $ ile başlamakta ve ilerleyen yıllarda artan kar oranları ile artış göstermektedir. İşletmenin yıllık net karı ise ilk yıl için 32,4 milyon $ olarak hesaplanmıştır.

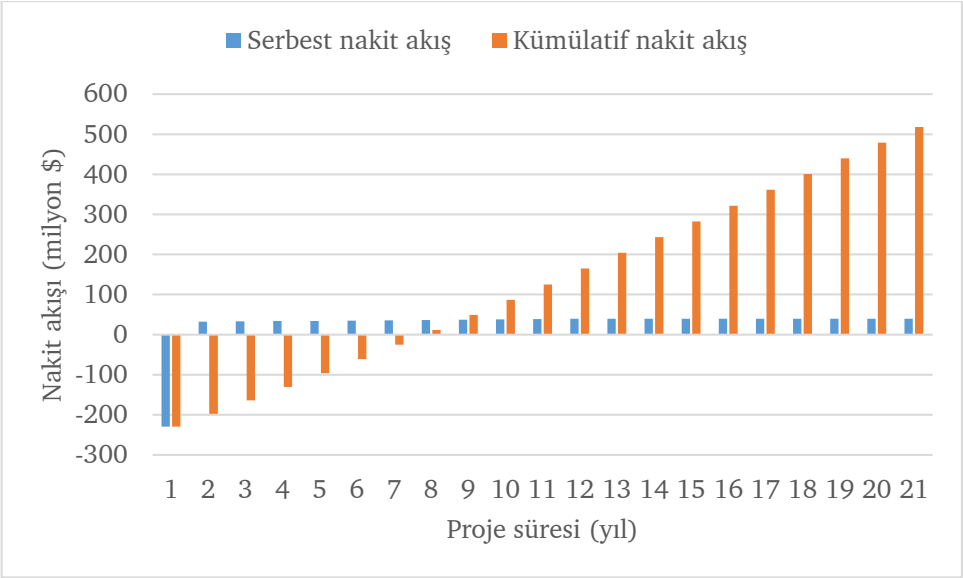
Tablo 6.16 Saatlik 30 ton atık pirinç işleme kapasiteli ABE üretim tesisinin nakit akışı ve karlılık analizi

A. Toplam tesis maliyeti (milyon $)					229,5
Anapara (25%) (milyon $)					57,4
Kredi (75%) (milyon $)					172,2
Faiz oranı (%)					5
Kredi geri ödeme süresi (yıl)					10
İndirgeme oranı (%)					5
	Nakit akışı (milyon $/yıl)				
Proje Dönemi (yıl)	1	2	3	4	5
B. İşletme giderleri (milyon $/yıl)	44,1	44,1	44,1	44,1	44,1
Ham madde	14,6	14,6	14,6	14,6	14,6
Tesis giderleri	29,1	29,1	29,1	29,1	29,1

Tablo 6.16 Saatlik 30 ton atık pirinç işleme kapasiteli ABE üretim tesisinin nakit akışı ve karlılık analizi (devamı)

İşçilik		2,3	2,3	2,3	2,3	2,3
Bakım		2,3	2,3	2,3	2,3	2,3
Laboratuvar harcamaları		0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
Diğer giderler		2,4	2,4	2,4	2,4	2,4
Tasarruflar		6,7	6,7	6,7	6,7	6,7
C. Gelirler (milyon $/yıl)		90,4	90,4	90,4	90,4	90,4
Aseton		25,7	25,7	25,7	25,7	25,7
Bütanol		64,1	64,1	64,1	64,1	64,1
Etanol		0,7	0,7	0,7	0,7	0,7
D. FAVÖK	(C-B)	46,2	46,2	46,2	46,2	46,2
E. Amortisman	(A*%5)	11,5	11,5	11,5	11,5	11,5
F. Faiz ve diğer ücretler		8,6	7,7	6,9	6,0	5,2
G. Vergi öncesi kar	(D-(E+F))	26,2	27	27,9	28,7	29,6
H. Gelir vergisi (%20)	(G*%20)	5,2	5,4	5,6	5,7	5,9
I. Net kar	(D-(F+H))	32,4	33,1	33,8	34,5	35,2
Proje ömrü (yıl)		20				
Net bugünkü değer (milyon $)		217,8				
İç karlılık oranı (%)		15				
Geri ödeme süresi (yıl)		7				

Saatlik 30 ton atık pirinç işleme kapasiteli ABE üretim tesisinin proje ömrü 20 yıl olarak kabul edildiğinde, önerilen senaryoda projenin nakit akışlarının net bugünkü değeri %5 indirgeme oranı ile 217,8 milyon $ olmakta ve projenin iç karlılık oranı ise %15 olarak hesaplanmaktadır. Bahsedilen şartlar altında çalışacak ABE tesisinin yapılan yatırımı geri ödeme süresi ise 7 yıl olarak hesaplanmıştır.



Şekil 6.6 Saatlik 30 ton atık pirinç işleme kapasiteli ABE üretim tesisinin nakit akışları ve başa baş noktası

Şekil 6.6'da projenin kurulum yatırımı ve 20 yıllık dönem için yıllık gelir giderlerinden oluşan pozitif yöndeki nakit akışları görülmektedir. Buna göre ilk yıl yatırım için harcanan yaklaşık 229 milyon $'lık sermayenin, yıllık yaklaşık 33 milyon $'lık pozitif nakit akışları ile birlikte başa baş noktası 7 yıl olarak görülmektedir. Bu sürede tesis için yapılan yatırımların geri kazanımları tamamlanmış ve projenin ilerleyen dönemlerindeki tüm pozitif yöndeki nakit akışları tesis için kar anlamına gelmektedir. Tesis kapasitesinin saatlik 10 ton atık pirinçten 30 ton atık pirince artması ile tesisin 20 yıllık proje ömründeki iç karlılık oranı %13'ten %15'e artmış geri ödeme süresinin 8 yıldan 7 yıla düştüğü ve net bugünkü değerin ise 64,9 milyon $'dan 217,8 milyon $'a yükseldiği gözlemlenmiştir.

6.3.4 Senaryo 4

6.3.4.1 Tesis Yatırım Maliyeti

Endüstriyel boyutta ABE üretim tesisinin simülasyonu çalışmasında yıllık kapasitenin tesis yatırım fizibilitesine etkisini incelemek amacıyla hazırlanan dördüncü senaryoda kapasite saatlik 40 ton atık pirinç işlenmesi olarak seçilmiştir. Bunun için gerekli giriş akımları SuperPro Designer'da hazırlanmış ve yazılımdan

elde edilen gerekli ekipman sayısı ve maliyetleri Tablo 6.17'de listelenmiştir. Buna göre ekipman satın alma maliyeti toplam 78,5 milyon $ olarak verilmekte ve en büyük pay %65,4 ile fermantöre ait olduğu görülmektedir.

Tablo 6.17 Saatlik 40 ton atık pirinç işleme kapasiteli ABE üretim tesisi için gerekli ekipman sayıları ve satın alma maliyetleri

Ekipman	Açıklama	Adet	Birim Fiyat ($)	Toplam ($)
Fermantör	Hacim = 339,1 m^3	108	475000	51300000
Vidalı pres	Kapasite = 92,8 ton/saat	4	1696000	6784000
Kültür fermantörü	Hacim = 49,1 m^3	20	177000	3540000
Düz tabanlı tank	Hacim = 198,4 m^3	13	322000	4186000
Düz tabanlı tank	Hacim = 157 m^3	12	217000	2604000
Isı değiştirici	Isı transfer alanı = 93,2 m^2	9	125000	1125000
Silo	Hacim = 3764,7 m^3	1	1230000	1230000
Türbin Jeneratör	Güç = 4756,8 kW	1	1205000	1205000
Buhar Jeneratörü	Kapasite = 49,9 ton/saat	1	622000	622000
Kurutucu	Kurutma alanı = 15,9 m^2	3	165000	495000
Distilasyon kolonu	Hacim = 41 m^3	1	204000	204000
Distilasyon kolonu	Hacim = 14,5 m^3	1	170000	170000
Öğütücü	Kapasite = 34,7 ton/saat	1	232000	232000
Karıştırma tankı	Hacim = 68,3 m^3	6	64000	384000
Distilasyon kolonu	Hacim = 25,3 m^3	2	90000	180000
Distilasyon kolonu	Hacim = 5,9 m^3	1	66000	66000
Dekanter	Hacim = 9,9 m^3	1	138000	138000
Isı değiştirici	Isı transfer alanı = 26,3 m^2	1	59000	59000
Isı değiştirici	Isı transfer alanı = 5,2 m^2	1	22000	22000
Diğer ekipman	-	-	-	3923000
			Toplam	78469000

Yıllık kapasitenin ilk senaryoya göre dört kat artmasına karşılık ekipman satın alma maliyeti yaklaşık 3,8 kat artmıştır. Bu değişimin sebebi olarak ekipman boyutlarındaki artışın eş oranda fiyat artışına sebep olmaması gösterilebilmektedir. Ayrıca, öngörülemeyen ekipman satın alma maliyetleri için ise 3,9 milyon $'lık kaynak ayrılması uygun görülmüştür (toplam ekipman satın alma maliyetinin %5'i).

SuperPro Designer'dan elde edilen ekipman satın alma maliyetlerinin ardından tesis yatırım maliyetlerinin diğer kalemleri, Tablo 6.2'de verilen katsayılar ile ekipman satın alma maliyetlerinin çarpılması ile belirlenmiştir. Buna göre Tablo 6.18'de listelenen bütanol üretimi için toplam sermaye maliyetlerine göre, doğrudan ve dolaylı tesis yatırım maliyetleri sırasıyla 163,4 milyon $ ve 98 milyon $ olarak hesaplanmakta ve böylece toplam tesis yatırım maliyeti 261,4 milyon $ olarak elde edilmiştir. Öngörülemeyen maliyetler ve yüklenici ücretinin de eklenmesi ile saatte 40 ton atık pirinç işleme kapasiteli ABE tesisinin tüm tesis sermaye maliyeti yaklaşık 300,7 milyon $ olarak hesaplanmıştır.

Tablo 6.18 Saatlik 40 ton atık pirinç işleme kapasiteli ABE üretim tesisi için toplam sermaye maliyetleri

A. Doğrudan Tesis Yatırım Maliyetleri	**($)**
1. Ekipman satın alma	78469000
2. Kurulum	23729000
3. Proses borulama	15694000
4. Kontrol cihazları	7847000
5. Yalıtım	2354000
6. Elektrik	7847000
7. Bina	3923000
8. Arazi ıslahı	7847000
9. Yardımcı tesisler	15694000
Doğrudan Tesis Yatırım Maliyetleri	163404000
B. Dolaylı Tesis Yatırım Maliyetleri	

Tablo 6.18 Saatlik 40 ton atık pirinç işleme kapasiteli ABE üretim tesisi için toplam sermaye maliyetleri (devamı)

1. Mühendislik	40851000
2. İnşaat	57191000
Dolaylı Tesis Yatırım Maliyetleri	98042000
C. Toplam Tesis Yatırım Maliyeti (A+B)	261446000
D. Yüklenici Ücreti ve Öngörülemeyen Maliyetler	
1. Yüklenici ücreti	13072000
2. Öngörülemeyen maliyetler	26145000
Yüklenici Ücreti ve Öngörülemeyen Maliyetler	39217000
E. Tüm Tesis Sermaye Maliyeti (C+D)	300663000

6.3.4.2 Tesis İşletme Giderleri

Tablo 6.19'da saatlik 40 ton pirinç işleme kapasiteli bütanol üretim tesisinin yıllık tesis giderleri verilmektedir. Buna göre tesisin ısıtma, soğutma ve elektrik için yıllık toplam harcaması 38,6 milyon $ olarak öngörülmektedir. Ayrıca, tesis bünyesinde yapılan buhar üretimi, elektrik üretimi ve atık ısının geri kazanımı işlemleri ile yaklaşık 9 milyon $ tasarruf öngörülerek toplam tesis maliyeti yıllık 29,6 milyon $ olarak hesaplanmıştır.

Tesis işletme maliyetlerinde en büyük pay ise bir önceki senaryolara paralel şekilde, tesis harcamalarından oluşmaktadır. Saatlik 40 ton pirinç işleme kapasiteli bütanol üretim tesisinin yıllık atık pirinç işleme kapasitesi 332,2 bin ton olup, 50 $/kg birim maliyet ile 16,6 milyon $'a ulaşmaktadır. Ek olarak 2,8 milyon $'lık besiyeri harcaması ile toplam ham madde gideri yıllık 19,4 milyon $ olması öngörülmektedir. Ham madde maliyeti, toplam tesis işletme giderlerinin yaklaşık %33'lük payını oluşturmaktadır. Başlıca diğer tesis giderleri ise 2,6 milyon $ olarak tahmin edilen işçilik, 3 milyon $ tesis bakımı, yaklaşık 208 bin $ laboratuvar harcamaları ve son olarak 3,2 milyon $ diğer giderler için ayrıldığında tesisin toplam yıllık işletme gideri 58 milyon $ olarak hesaplanmıştır.

Tablo 6.19 Saatlik 40 ton atık pirinç işleme kapasiteli ABE üretim tesisi için yıllık tesis giderleri

Harcamalar	**Birim maliyet ($)**	**Yıllık miktar**	**Toplam ($/yıl)**
Elektrik ($/kW-saat)	0,10	100381408	10038141
Buhar ($/ton)	12,00	1642088	19705056
Soğutma suyu ($/ton)	0,05	171094224	8554711
Soğutulmuş su ($/ton)	0,40	785280	314112
		Toplam ($/yıl)	38612020
Tasarruf	**Birim fiyat ($)**	**Yıllık miktar**	**Toplam ($/yıl)**
Elektrik üretimi ($/kW-saat)	0,10	34245738	3424574
Buhar üretimi ($/ton)	12,00	401864	4822368
Isı kazanımı ($/ton)	0,05	14468285	723414
		Toplam ($/yıl)	8970356
		Net toplam ($/yıl)	29641664

Yıllık işletme maliyetinin, yıllık üretilen bütanol miktarına oranlanması ile bütanol birim maliyeti 1,18 $/kg olarak hesaplanmaktadır. Buna göre tesis kapasitesi dört kat artarken, bütanol maliyeti ise 1,24'ten 1,18'e düştüğü gözlemlenmektedir.

6.3.4.3 Tesis Gelirleri ve Karlılık Analizi

Saatlik 40 ton pirinç işleme kapasiteli bütanol üretim tesisinin yatırım maliyeti, işletme giderleri, yıllık gelirleri ve karlılık analizi Tablo 6.20'da listelenmiştir. Buna göre tesisin yıllık ürün miktarı 26,7 bin ton aseton, 49,4 bin ton bütanol ve 859 bin ton etanolden oluşmaktadır, bu ürünlerin işletmeye kazandırdığı toplam yıllık gelir ise 120,5 milyon $ olarak hesaplanmıştır.

Tesisin yıllık gelirlerinden giderleri çıkarıldığında faiz, vergi ve amortisman öncesi kazanç değeri 62,5 milyon $ olmakta ve faiz ile kredi ödemelerinin çıkarılmasının ardından vergi öncesi kar ilk yıl için 36,2 milyon $ olarak hesaplanmaktadır. Tesis için öngörülen gelir vergisi ise kar üzerinden %20 hesaplanarak 7,2 milyon $ elde edilmiş ve son olarak tesisin net karı ilk yıl için 44 milyon $ olarak hesaplanmıştır.

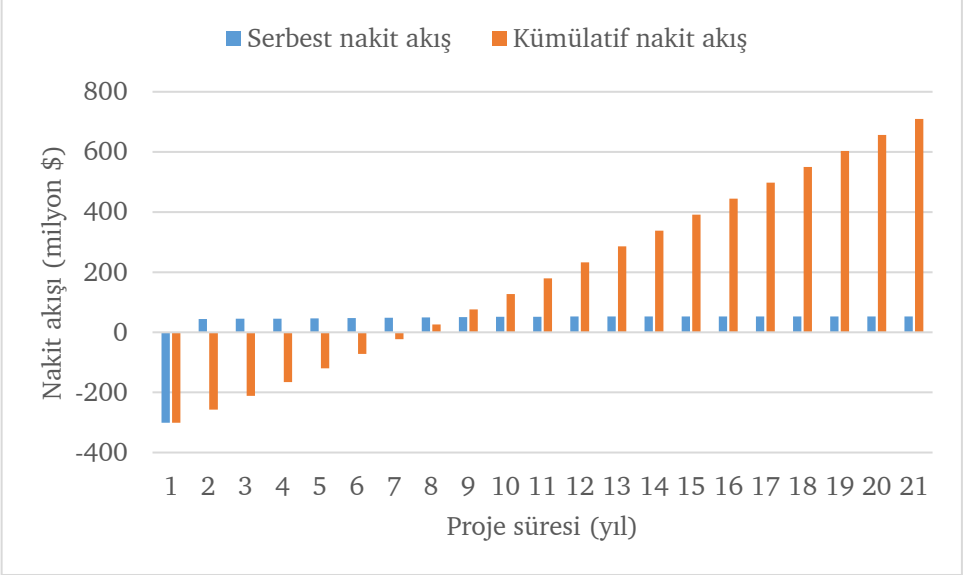
Tablo 6.20 Saatlik 40 ton atık pirinç işleme kapasiteli ABE üretim tesisinin nakit akışı ve karlılık analizi

A. Toplam tesis maliyeti (milyon $)		300,7				
Anapara (25%) (milyon $)		75,2				
Kredi (75%) (milyon $)		225,5				
Faiz oranı (%)		5				
Kredi geri ödeme süresi (yıl)		10				
İndirgeme oranı (%)		5				
		Nakit akışı (milyon $/yıl)				
Proje Dönemi (yıl)		1	2	3	4	5
B. İşletme giderleri (milyon $/yıl)		58,1	58,1	58,1	58,1	58,1
Ham madde		19,4	19,4	19,4	19,4	19,4
Tesis giderleri		38,6	38,6	38,6	38,6	38,6
İşçilik		2,6	2,6	2,6	2,6	2,6
Bakım		3,0	3,0	3,0	3,0	3,0
Laboratuvar harcamaları		0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
Diğer giderler		3,1	3,1	3,1	3,1	3,1
Tasarruflar		9,0	9,0	9,0	9,0	9,0
C. Gelirler (milyon $/yıl)		120,5	120,5	120,5	120,5	120,5
Aseton		34,2	34,2	34,2	34,2	34,2
Bütanol		85,4	85,4	85,4	85,4	85,4
Etanol		0,9	0,9	0,9	0,9	0,9
D. FAVÖK	(C-B)	62,5	62,5	62,5	62,5	62,5
E. Amortisman	(A*%5)	15,0	15,0	15,0	15,0	15,0
F. Faiz ve diğer ücretler		11,3	10,1	9,0	7,9	6,8
G. Vergi öncesi kar	(D-(E+F))	36,2	37,3	38,4	39,5	40,7
H. Gelir vergisi (%20)	(G*%20)	7,2	7,5	7,7	7,9	8,1

Tablo 6.20 Saatlik 40 ton atık pirinç işleme kapasiteli ABE üretim tesisinin nakit akışı ve karlılık analizi (devamı)

I. Net kar	(D-(F+H))	44,0	44,9	45,8	46,7	47,6
Proje ömrü (yıl)		20				
Net bugünkü değer (milyon $)		303,3				
İç karlılık oranı (%)		15				
Geri ödeme süresi (yıl)		7				

Dördüncü senaryoda incelenen saatlik 40 ton atık pirinç işleme kapasiteli ABE tesisinin planlanan 20 yıllık proje ömrü için oluşan nakit akışlarının net bugünkü değeri 303,3 milyon $ ve tesis yatırımı için ilk yıl yatırılması gereken anapara kadar net kar olarak elde edildiği görülmektedir. Projenin iç karlılık oranı %15, geri ödeme süresi ise 7 yıl olarak hesaplanmıştır. Buna göre tesis kapasitesi ilk senaryoya göre dört kat artarken, iç karlılık oranı %13'ten %15'e, geri ödeme süresi ise 8 yıldan 7 yıla düşmektedir.



Şekil 6.7 Saatlik 40 ton atık pirinç işleme kapasiteli ABE üretim tesisinin nakit akışları ve başa baş noktası

Şekil 6.7'de saatlik 40 ton atık pirinç işleme kapasiteli ABE tesisinin ilk 20 yıllık hesaplanan nakit akışları görülmektedir. Buna göre ilk yıl yapılan yaklaşık 300,7 milyon $'lık yatırımın ardından yıllık ortalama 44 milyon $'lık pozitif yöndeki

serbest nakit akışlarının ardından kümülatif nakit akışı sıfır değerine 7 ile 8 yıl arasında ulaşmaktadır. Bu süre ise tesis için başa baş noktasını vermekte ve yapılan yatırımın geri kazanıldığı süreyi ifade etmektedir.

6.3.5 Senaryo 5

6.3.5.1 Tesis Yatırım Maliyeti

Tesis kapasitesinin endüstriyel boyutta ABE üretim tesisinin nakit akışı, proses fizibilitesi ve karlılık analizlerine etkisini incelemek amacıyla hazırlanan beş ayrı senaryoda incelenen son senaryo ise saatlik 50 ton atık pirinç işleme kapasiteli bütanol üretim tesisidir. Buna göre Tablo 6.21'de tesis için gerekli ekipman sayıları ve bu ekipmanların satın alma maliyetleri verilmiştir. İlk senaryoya göre beş kat artan tesis kapasitesine karşılık, ihtiyaç duyulan fermantör sayısı 30'dan 132'ye yükselmiştir ve diğer ekipmanlar sayıları da benzer şekilde doğrusal olmayan biçimde artmıştır. SuperPro Designer'dan alınan satın alma maliyet raporlarına göre saatlik 50 ton atık pirinç işleme kapasiteli bütanol üretim tesisi için gerekli ekipman satın alma sermayesi yaklaşık 97,7 milyon $ olarak hesaplanmıştır. Buna göre, ekipman satın alma maliyeti, ilk senaryoya göre yaklaşık 4,7 kat arttığı gözlemlenmiştir.

Tablo 6.21 Saatlik 50 ton atık pirinç işleme kapasiteli ABE üretim tesisi için gerekli ekipman sayıları ve satın alma maliyetleri

Ekipman	Açıklama	Adet	Birim Fiyat ($)	Toplam ($)
Fermantör	Hacim = 346,8 m^3	132	482000	63624000
Vidalı pres	Kapasite = 92,8 ton/saat	5	1696000	8480000
Kültür fermantörü	Hacim = 43,8 m^3	28	166000	4648000
Düz tabanlı tank	Hacim = 189,6 m^3	17	295000	5015000
Düz tabanlı tank	Hacim = 196,3 m^3	12	315000	3780000
Isı değiştirici	Isı transfer alanı = 95,3 m^2	11	127000	1397000
Silo	Hacim = 4705,9 m^3	1	1415000	1415000
Türbin Jeneratör	Güç = 6042,9 kW	1	1446000	1446000

Tablo 6.21 Saatlik 50 ton atık pirinç işleme kapasiteli ABE üretim tesisi için gerekli ekipman sayıları ve satın alma maliyetleri (devamı)

Buhar Jeneratörü	Kapasite = 62,3 ton/saat	1	737000	737000
Kurutucu	Kurutma alanı = 19,8 m^2	3	181000	543000
Distilasyon kolonu	Hacim = 51,7 m^3	1	224000	224000
Distilasyon kolonu	Hacim = 18,1 m^3	1	182000	182000
Öğütücü	Kapasite = 43,4 ton/saat	1	270000	270000
Karıştırma tankı	Hacim = 73,2 m^3	7	66000	462000
Distilasyon kolonu	Hacim = 21,1 m^3	3	82000	246000
Distilasyon kolonu	Hacim = 7,3 m^3	1	71000	71000
Dekanter	Hacim = 13,9 m^3	1	169000	169000
Isı değiştirici	Isı transfer alanı = 32,8 m^2	1	67000	67000
Isı değiştirici	Isı transfer alanı = 6,6 m^2	1	25000	25000
Diğer ekipman	-	-	-	4884000
			Toplam	97685000

97,7 milyon $ olarak hesaplanan ekipman satın alma maliyetinin ardından, tesis yatırımını etkileyen diğer kalemler Tablo 6.2'de verilen katsayılar ile uygun parametrelerin çarpılması ile hesaplanmış ve Tablo 6.22'de listelenmiştir. Buna göre, saatlik 50 ton atık pirinç işleme kapasiteli ABE üretim tesisinin kurulumunda gerekli doğrudan tesis yatırımını ilgilendiren kalemlerin toplam maliyeti yaklaşık 203,5 milyon $, dolaylı tesis maliyetleri ise 122,1 milyon $ ile toplam tesis yatırım maliyetini 325,5 milyon $ olarak oluşturmaktadır. Son olarak, bu maliyetlere yüklenici ücreti ve öngörülemeyen maliyetler için de yaklaşık 48,8 milyon $ dahil edildiğinde tüm tesis sermaye maliyeti 374,3 milyon $ olarak hesaplanmıştır.

Tablo 6.22 Saatlik 50 ton atık pirinç işleme kapasiteli ABE üretim tesisi için toplam sermaye maliyetleri

A. Doğrudan Tesis Yatırım Maliyetleri	**($)**
1. Ekipman satın alma	97685000

Tablo 6.22 Saatlik 50 ton atık pirinç işleme kapasiteli ABE üretim tesisi için toplam sermaye maliyetleri (devamı)

2. Kurulum	29569000
3. Proses borulama	19537000
4. Kontrol cihazları	9769000
5. Yalıtım	2931000
6. Elektrik	9769000
7. Bina	4884000
8. Arazi ıslahı	9769000
9. Yardımcı tesisler	19537000
Doğrudan Tesis Yatırım Maliyetleri	203450000
B. Dolaylı Tesis Yatırım Maliyetleri	
1. Mühendislik	50863000
2. İnşaat	71208000
Dolaylı Tesis Yatırım Maliyetleri	122071000
C. Toplam Tesis Yatırım Maliyeti (A+B)	325521000
D. Yüklenici Ücreti ve Öngörülemeyen Maliyetler	
1. Yüklenici ücreti	16276000
2. Öngörülemeyen maliyetler	32552000
Yüklenici Ücreti ve Öngörülemeyen Maliyetler	48828000
E. Tüm Tesis Sermaye Maliyeti (C+D)	374349000

6.3.5.2 Tesis İşletme Giderleri

Saatlik 50 ton atık pirinç işleme kapasiteli ABE üretim tesisinin SuperPro Designer'da gerçekleştirilen simülasyonu sonucu elde edilen akım miktarları, akımların ısıtma-soğutma giderleri ve elektrik harcamaları Tablo 6.23'te verilmiştir. Buna göre önerilen tesisin yıllık tesis gideri yaklaşık 48,2 milyon $ olarak hesaplanmıştır. Bu harcamalara ek olarak tesis içerisinde elektrik üretimi,

buhar üretimi ve ısı entegrasyonu ile yıllık harcamalarda yaklaşık %25 oranında tasarruf edilmekte ve net yıllık tesis gideri 36,9 milyon $ olarak öngörülmektedir.

Tablo 6.23 Saatlik 50 ton atık pirinç işleme kapasiteli ABE üretim tesisi için yıllık tesis giderleri

Harcamalar	**Birim maliyet ($)**	**Yıllık miktar**	**Toplam ($/yıl)**
Elektrik ($/kW-saat)	0,10	124559267	12455927
Buhar ($/ton)	12,00	2052629	24631548
Soğutma suyu ($/ton)	0,05	213744119	10687206
Soğutulmuş su ($/ton)	0,40	981603	392641
		Toplam ($/yıl)	48167322
Tasarruf	**Birim fiyat ($)**	**Yıllık miktar**	**Toplam ($/yıl)**
Elektrik üretimi ($/kW-saat)	0,10	43504765	4350477
Buhar üretimi ($/ton)	12,00	502330	6027960
Isı kazanımı ($/ton)	0,05	18086954	904348
		Toplam ($/yıl)	11282785
		Net toplam ($/yıl)	36884537

ABE tesisinin yıllık giderlerini oluşturan ham madde maliyeti, işçilik, bakım ve laboratuvar harcamaları gibi diğer işletme giderleri Tablo 6.24'te listelenmiştir. Buna göre saatlik 50 ton atık pirinç işleme kapasiteli ABE tesisinin yıllık işletme gideri yaklaşık 72 milyon $ olarak hesaplanmıştır. Bu yıllık giderin içerisinde ise en büyük pay, 36,9 milyon $ ile tesisin ısıtma, soğutma ve elektrik giderlerinden oluşmaktadır. Yıllık giderlerde diğer harcamalara kıyasla büyük paya sahip olan bir diğer gider ise ham madde giderleridir. Buna göre yıllık 415 bin ton atık pirinç için ödenmesi gereken 20,8 milyon $ ve tahmini 3,5 milyon $ besiyeri ücreti ile toplam 24,3 milyon $'a erişmektedir. Böylelikle ham madde maliyeti toplam işletme giderinin yaklaşık %33,8'ini oluşturmaktadır. Bu pay ilk senaryo için %32,4 iken, kapasite arttıkça, ham madde giderinin yıllık işletme giderindeki payının yükselmesinin sebebi ise kapasite artışından doğrudan etkilenen ham madde maliyetlerine karşılık, diğer tesis giderlerinin eş oranda artış göstermemesi

olarak ifade edilebilir. Diğer taraftan, yıllık 3 milyon $ işçilik, 3,7 milyon $ bakım, 0,2 milyon $ laboratuvar ve 4 milyon $ diğer giderler öngörülmektedir. Tesis için yıllık gider olan 72 milyon $'ın, tesisin yıllık bütanol üretim kapasitesi olan 61,7 bin tona oranlanması ile bütanol üretim maliyeti kg başına 1,17 $ olarak hesaplanmaktadır. Buna göre tesis kapasitesinin beş kat artması ile bütanol üretim maliyeti 1,24 $'dan 1,17 $'a düştüğü gözlemlenmektedir.

6.3.5.3 Tesis Gelirleri ve Karlılık Analizi

Beşinci senaryo kapsamında incelenen saatlik 50 ton atık pirinç işleme kapasiteli ABE tesisinin gelirleri aseton, bütanol ve etanol satışlarından sağlanmaktadır, buna göre yıllık üretilen 33,4 bin ton aseton, 61,7 bin ton bütanol ve 1073,9 ton etanolden toplam yaklaşık 150,6 milyon $ gelir sağlanmaktadır. İşletmenin faiz, amortisman ve vergi öncesi karı ise yaklaşık 78,6 milyon $ olmakta ve bundan ödenmesi gereken diğer nakit akışları da göz önüne alındığında tesisin yıllık net karı ilk yıl için 55,4 milyon $ olmaktadır.

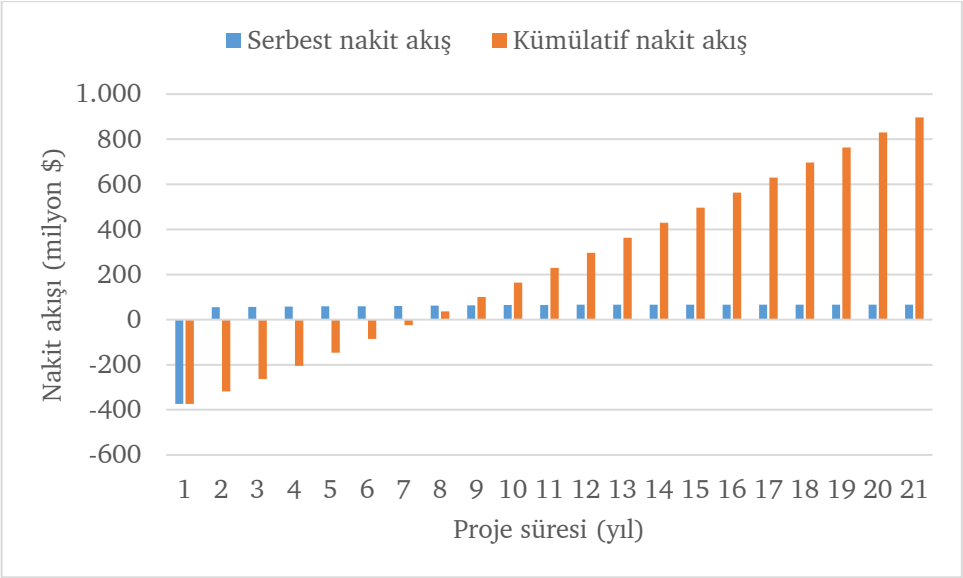
Tablo 6.24 Saatlik 50 ton atık pirinç işleme kapasiteli ABE üretim tesisinin nakit akışı ve karlılık analizi

A. Toplam tesis maliyeti (milyon $)					374,3
Anapara (25%) (milyon $)					93,6
Kredi (75%) (milyon $)					280,8
Faiz oranı (%)					5
Kredi geri ödeme süresi (yıl)					10
İndirgeme oranı (%)					5
	Nakit akışı (milyon $/yıl)				
Proje Dönemi (yıl)	1	2	3	4	5
B. İşletme giderleri (milyon $/yıl)	72,0	72,0	72,0	72,0	72,0
Ham madde	24,3	24,3	24,3	24,3	24,3
Tesis giderleri	48,2	48,2	48,2	48,2	48,2
İşçilik	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0

Tablo 6.24 Saatlik 50 ton atık pirinç işleme kapasiteli ABE üretim tesisinin nakit akışı ve karlılık analizi (devamı)

Bakım		3,7	3,7	3,7	3,7	3,7
Laboratuvar harcamaları		0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
Diğer giderler		4,0	4,0	4,0	4,0	4,0
Tasarruflar		11,3	11,3	11,3	11,3	11,3
C. Gelirler (milyon $/yıl)		150,6	150,6	150,6	150,6	150,6
Aseton		42,8	42,8	42,8	42,8	42,8
Bütanol		106,8	106,8	106,8	106,8	106,8
Etanol		1,1	1,1	1,1	1,1	1,1
D. FAVÖK	(C-B)	78,6	78,6	78,6	78,6	78,6
E. Amortisman	(A*%5)	18,7	18,7	18,7	18,7	18,7
F. Faiz ve diğer ücretler		14,0	12,6	11,2	9,8	8,4
G. Vergi öncesi kar	(D-(E+F))	45,8	47,3	48,7	50,1	51,5
H. Gelir vergisi (%20)	(G*%20)	9,2	9,5	9,7	10,0	10,3
I. Net kar	(D-(F+H))	55,4	56,5	57,6	58,8	59,9
Proje ömrü (yıl)		20				
Net bugünkü değer (milyon $)		385,5				
İç karlılık oranı (%)		15				
Geri ödeme süresi (yıl)		7				

Proje ömrünün 20 yıl olarak kabul edildiği ABE tesisinin, ilk yıl yatırımları ve proje süresince oluşturduğu pozitif ve negatif yönlü nakit akışlarının net bugünkü değeri ise yaklaşık 385,5 milyon $'a karşılık gelmektedir. Bu da, tesis için ilk durumda gerekli 374,3 milyon $'lık sermayenin 20 yıllık dönem sonunda yaklaşık %100'den fazla kar getirme potansiyeli olduğunu göstermektedir. Projenin iç karlılık oranı %15 ve geri ödeme süresi ise 7 yıl olarak hesaplanmıştır. Böylece saatlik 40 ton atık pirinç işleme kapasiteli ABE tesisine kıyasla iç karlılık oranı ve proje geri ödeme süresinde herhangi bir değişiklik gözlemlenmemiştir.



Şekil 6.8 Saatlik 50 ton atık pirinç işleme kapasiteli ABE üretim tesisinin nakit akışları ve başa baş noktası

Şekil 6.8'de Saatlik 50 ton atık pirinç işleme kapasiteli ABE üretim tesisinin ilk yıl yatırım sermayesi ve 20 yıllık proje faaliyetleri boyunca oluşan net nakit akışları gösterilmektedir. Buna göre ilk yıl sermaye olarak kullanılması gereken yaklaşık 373 milyon $'a karşılık, projenin yıllık pozitif yöndeki kredi ödeme dönemleri için 54 milyon $'lık net kar ile kümülatif nakit akışını 7 ile 8 yıl arasında sıfırlamaktadır. Bu da projenin yatırımı geri kazandırması için gerekli zaman dilimini yani projenin başa baş noktasını göstermektedir. İlk on yıl sonunda, kredi geri ödemeleri tamamlandığında ise net kar 65 milyon $ seviyelerine erişmektedir. İlk senaryoya göre tesis kapasitesinin beş kat artması ile projenin iç karlılık oranı %13'ten %15'e yükselmekte ve proje geri ödeme süresi 8 yıldan 7 yıla düşmektedir.

6.3.6 Senaryo 6

Tesis kapasitesinin saatlik 10 ton atık pirinçten 50 ton atık pirinç işlemeye dayanarak hazırlanmış beş ayrı senaryoya ek olarak, hazırlanan bu senaryoda son ürün konsantrasyonunun ve ABE fermantasyonu öncesi şeker konsantrasyonunun tesis nakit akışlarına ve karlılık analizine etkileri incelenmiştir. Buna göre, tesisin saatlik 10 ton atık pirinç işlediği kabulünden yola çıkarak, diğer ekipmanları, akışları değiştirmeden, ABE fermantasyonunun gerçekleştiği fermantör öncesinde

karıştırma tankında hazırlanan fermantasyon ortamına yaklaşık yarı oranında daha az su ekleyerek ABE fermantasyonu başlangıcında şeker konsantrasyonunun 100 g/L olduğu kabul edilmiştir. Böylece, fermantasyon sonunda üretilen aseton, bütanol ve etanol konsantrasyonları sırası ile 13 g/L, 24 g/L ve 0,2 g/L olmaktadır. Bu durum, karıştırma tankı, vidalı pres ve sonrası ekipmanların boyut ve sayılarının azalması, ilk distilasyon kolonunda suyun yaklaşık 90'ının uzaklaştırılması için gerekli ısıl yükün azaltılması ve diğer ekipmanlardaki ısıtma ve soğutma yüklerinin azaltılmasını sağlarken; sunulan senaryoda tesis geri ödeme süresi, iç karlılık oranı ve net bugünkü değerde gözlemlenen değişikliklerin incelenmesi hedeflenmektedir.

6.3.6.1 Tesis Yatırım Maliyeti

Tablo 6.25'te saatlik 10 ton atık pirinç işleme kapasiteli ABE tesisinde, ABE fermantasyonunu 100 g/l başlangıç şeker konsantrasyonu ile gerçekleştirilmesine dayanan senaryo için ekipman satın alma maliyetleri listelenmektedir. Buna göre ilk senaryo için incelenen 50 g/L şeker konsantrasyonu ile gerçekleştirilen ABE fermantasyonu sonucunda ekipman satın alma maliyeti 20,5 milyon $ olarak hesaplanmaktadır. Ancak, altıncı senaryo kapsamında, şeker konsantrasyonunun arttırılması, yani su beslemelerinin yarı yarıya düşürülmesi ile ekipman satın alma maliyeti 8,2 milyon $ azalarak 12,3 milyon $ olmuştur. SuperPro Designer'da oluşturulan tesis akış diyagramında silo, katı-hal fermantasyon tankı, kurutucu, öğütücü, buhar ve türbin jeneratörlerinin kapasite ve ekipman satın alma fiyatlarında bir değişiklik gözlemlenmemiştir. Diğer taraftan, akış diyagramlarındaki diğer ekipmanların saatlik işlem yapacağı kapasiteler azaldığı için ekipman boyutları yaklaşık yarıya inmekte ve böylelikle satın alma maliyeti azalmaktadır. ABE fermantasyonunun daha verimli şartlar altında gerçekleştirilmesi, son ürünün bütanol için 24 g/L ve toplam ABE için ise yaklaşık 37 g/L seviyelerine erişmesi durumunda tesisin ekipman satın alma maliyetlerini %40 oranında azalttığı öngörülmektedir. Ekipman satın alma maliyetinin 12,3 milyon $ olarak hesaplanmasının ardından, tesis yatırımını ilgilendiren diğer kalemler, Tablo 6.2'de verilen katsayılar kullanılarak hesaplanmıştır (Tablo 6.26).

Tablo 6.25 Saatlik 10 ton atık pirinç işleme kapasiteli iyileştirilmiş ABE üretim tesisi için gerekli ekipman sayıları ve satın alma maliyetleri

Ekipman	**Açıklama**	**Adet**	**Birim Fiyat ($)**	**Toplam ($)**
Fermantör	Hacim = 270,8 m^3	18	415000	7470000
Vidalı pres	Kapasite = 51,4 ton/saat	1	1056000	1056000
Kültür fermantörü	Hacim = 30,7 m^3	4	134000	536000
Düz tabanlı tank	Hacim = 168 m^3	2	240000	480000
Düz tabanlı tank	Hacim = 117 m^3	4	156000	624000
Isı değiştirici	Isı transfer alanı = 86,8 m^2	1	120000	120000
Silo	Hacim = 941 m^3	1	279000	279000
Türbin Jeneratör	Güç = 1026,9 kW	1	218000	218000
Buhar Jeneratörü	Kapasite = 12,5 ton/saat	1	217000	217000
Kurutucu	Kurutma alanı = 11,9 m^2	1	146000	146000
Distilasyon kolonu	Hacim = 5,2 m^3	1	105000	105000
Distilasyon kolonu	Hacim = 2,1 m^3	1	110000	110000
Öğütücü	Kapasite = 8,7 ton/saat	1	117000	117000
Karıştırma tankı	Hacim = 56,2 m^3	1	57000	57000
Distilasyon kolonu	Hacim = 6,5 m^3	1	52000	52000
Distilasyon kolonu	Hacim = 846,3 L	1	44000	44000
Dekanter	Hacim = 358,7 L	1	35000	35000
Isı değiştirici	Isı transfer alanı = 3,7 m^2	1	18000	18000
Isı değiştirici	Isı transfer alanı = 0,7 m^2	1	9000	9000
Diğer ekipman	-	-	-	615000
			Toplam	12308000

Buna göre ekipmanların satın alınması, kurulumu, yalıtım, bina ve arazi ıslahı gibi tesisi doğrudan ilgilendiren kalemlerin toplam maliyeti 25,7 milyon $ olurken, inşaat ve mühendislik gibi dolaylı maliyetler 15,4 milyon $ olarak hesaplanmıştır. Böylece toplam tesis maliyeti 41,1 milyon $'a ulaşmaktadır. Son olarak yüklenici

ücreti ve öngörülemeyen maliyetler için 6,2 milyon $ eklenmesi ile tüm tesis sermaye maliyeti 47,3 milyon $ olmaktadır. Diğer taraftan, aynı tesis kapasitesi ile çalışan ilk senaryo için hesaplanan tesis sermaye maliyeti 78,7 milyon $ iken, ABE fermantasyonundaki şeker ve ürün konsantrasyonları iki katına çıkarıldığında sermaye maliyetinin %39,9 azaldığı gözlemlenmiştir.

Tablo 6.26 Saatlik 10 ton atık pirinç işleme kapasiteli iyileştirilmiş ABE üretim tesisi için toplam sermaye maliyetleri

A. Doğrudan Tesis Yatırım Maliyetleri	**($)**
1. Ekipman satın alma	12308000
2. Kurulum	3819000
3. Proses borulama	2462000
4. Kontrol cihazları	1231000
5. Yalıtım	369000
6. Elektrik	1231000
7. Bina	615000
8. Arazi ıslahı	1231000
9. Yardımcı tesisler	2462000
Doğrudan Tesis Yatırım Maliyetleri	25728000
B. Dolaylı Tesis Yatırım Maliyetleri	
1. Mühendislik	6432000
2. İnşaat	9004000
Dolaylı Tesis Yatırım Maliyetleri	15436000
C. Toplam Tesis Yatırım Maliyeti (A+B)	41164000
D. Yüklenici Ücreti ve Öngörülemeyen Maliyetler	
1. Yüklenici ücreti	2058000
2. Öngörülemeyen maliyetler	4116000
Yüklenici Ücreti ve Öngörülemeyen Maliyetler	6174000
E. Tüm Tesis Sermaye Maliyeti (C+D)	47338000

6.3.6.2 Tesis İşletme Giderleri

Önerilen senaryoya uygun olarak SuperPro Designer'da tasarlanan ABE tesisinin yıllık tesis giderleri Tablo 6.27'de verilmektedir. Buna göre tesisin ısıtma, soğutma ve elektrik giderleri yıllık toplam 5,6 milyon $ olarak öngörülmektedir. Bu maliyet, aynı kapasitede çalışan ilk senaryo için 9,9 milyon $ olarak hesaplanmıştır. Yani, ABE fermantasyonunda şeker konsantrasyonu 100 g/L olması için daha az miktarda su beslemesi yapıldığında tesis harcamalarında %43,4'lük azalma görülmektedir. Bu da ürün konsantrasyonunun tesis işletim maliyetlerine etkisinin önemini göstermektedir. Diğer taraftan, tesis içerisinde üretilen buhardan 1,2 milyon $, elektrikten 739 bin $ ve ısı entegrasyonundan 96 bin $ tasarruf yapılarak net tesis gideri yıllık 3,6 milyon $'a düşmektedir. Böylece, yapılan 2 milyon $'ın üretilen bütanol miktarına oranlanması ile bütanol üretim maliyetinde kg başına yaklaşık 0,16 $'lık tasarruf elde edildiği görülmektedir.

Tablo 6.27 Saatlik 10 ton atık pirinç işleme kapasiteli iyileştirilmiş ABE üretim tesisi için yıllık tesis giderleri

Harcamalar	**Birim maliyet ($)**	**Yıllık miktar**	**Toplam ($/yıl)**
Elektrik ($/kW-saat)	0,10	18957551	1895755
Buhar ($/ton)	12,00	212760	2553120
Soğutma suyu ($/ton)	0,05	22475351	1123768
Soğutulmuş su ($/ton)	0,40	106946	42778
		Toplam ($/yıl)	5615421
Tasarruf	**Birim fiyat ($)**	**Yıllık miktar**	**Toplam ($/yıl)**
Elektrik üretimi ($/kW-saat)	0,10	7393529	739353
Buhar üretimi ($/ton)	12,00	100466	1205592
Isı kazanımı ($/ton)	0,05	1919890	95995
		Toplam ($/yıl)	2040940
		Net toplam ($/yıl)	3574481

Tesis giderlerini oluşturan diğer harcamalar ise Tablo 6.28'de listelenmektedir. Buna göre saatlik 10 ton atık pirinç işleme kapasiteli tesisin ham madde gideri

senaryo 1 ile benzer şekilde olup gerekli 83 bin ton atık pirincin yıllık maliyeti 4,2 milyon $ olmaktadır. Besiyeri için ayrılan 350 bin $ ile toplam ham madde maliyeti 4,6 milyon $'a erişmektedir. Daha az miktarda ekipman kullanımı sayesinde işçilik ücreti yıllık 650 bin $, işçilik ücretlerinin %8'i şeklinde hesaplanan laboratuvar masrafları 52 bin $, tüm tesis sermaye maliyetinin %1'i olarak hesaplanan bakım için 473 bin $ ve son olarak yıllık tesis harcamalarının %5'i olan tesis giderleri ise 565 bin $ ile tüm yıllık giderler toplam 9,8 milyon $'a erişmektedir. Bu maliyet yıllık bütanol kapasitesine oranlandığında ise bütanol üretim maliyeti 0,8 $/kg olarak hesaplanmaktadır. İlk senaryo ile eş kapasitede önerilen bu senaryoda, ABE fermantasyonunda şeker konsantrasyonunun arttırılması ile birim maliyet 1,24 $'dan 0,8 $'a düştüğü görülmektedir. Böylelikle, endüstriyel boyutta etkin şekilde ABE üretimi için yapılabilecek katı-hal fermantasyonu ile enzim maliyetlerinin giderimi, aerobik ABE fermantasyonu ile azot maliyetinin giderimi, tesis içinde uygulanabilecek tasarruf yöntemlerine ek olarak bütanole toleranslı suş çalışmaları ilerletilerek ABE fermantasyonun daha yüksek şeker konsantrasyonlarında gerçekleştirilmesi, bütanol konsantrasyonunun daha yüksek seviyelere çıkarılması gerekmektedir.

6.3.6.3 Tesis Gelirleri ve Karlılık Analizi

Tablo 6.28'de endüstriyel boyutta ABE üretim tesisinin ilk beş yıl için tesisin gelir ve gider kalemlerine ek olarak 20 yıllık proje ömrü sonunda net bugünkü değer, iç karlılık oranı ve geri ödeme süresi gibi ekonomik kavramlar listelenmektedir. Buna göre ABE üretim tesisinin gelirleri üretilen aseton, bütanol ve etanolün satışından sağlanmaktadır ve saatlik 10 ton atık pirinç işleme kapasiteli ABE üretim tesisinin yıllık solvent üretimi aseton, bütanol ve etanol için sırasıyla 6,7 bin ton, 12,3 bin ton ve 215 ton olarak hesaplanmıştır. Böylelikle elde edilen yıllık toplam gelir yaklaşık 30,1 milyon $ olarak öngörülmektedir. Tesis harcamaları ise yapılan 2 milyon $'lık tasarruf ile yıllık 9,8 milyon $'a ulaşmaktadır. Gelir ve gider kalemlerinin belirlenmesinin ardından, kredi faiz ödemeleri ve gelir vergisi de çıkarıldıktan sonra tesisin ilk yıl için net karı 15,3 milyon $ olarak tahmin edilmiştir. Buna göre 20 yıllık proje ömrü sonunda tesisin nakit akışlarının net bugünkü değeri 147,2 milyon $, iç karlılık oranı %33 ve geri ödeme süresi 4 yıl

olarak hesaplanmıştır. Hazırlanan ilk senaryo ile aynı kapasitede çalışan bu senaryoda 64,9 milyon $ olan net bugünkü değerde yaklaşık 2,3 kat artış, %13 olan iç karlılık oranında 2,5 kat artış ve 8 yıl olan geri ödeme süresinde ise 4 yıl düşüş gözlemlenmiştir. Bu durum, tesis kapasitesinin tesis karlılık analizine pozitif yöndeki etkilerine kıyasla, ABE fermantasyonun daha etkin şekilde gerçekleştirmenin daha önemli olduğunu göstermektedir.

Tablo 6.28 Saatlik 10 ton atık pirinç işleme kapasiteli iyileştirilmiş ABE üretim tesisinin nakit akışı ve karlılık analizi

A. Toplam tesis maliyeti (milyon $)					47,3
Anapara (25%) (milyon $)					11,8
Kredi (75%) (milyon $)					35,5
Faiz oranı (%)					5
Kredi geri ödeme süresi (yıl)					10
İndirgeme oranı (%)					5
	Nakit akışı (milyon $/yıl)				
Proje Dönemi (yıl)	1	2	3	4	5
B. İşletme giderleri (milyon $/yıl)	9,8	9,8	9,8	9,8	9,8
Ham madde	4,6	4,6	4,6	4,6	4,6
Tesis giderleri	5,6	5,6	5,6	5,6	5,6
İşçilik	0,7	0,7	0,7	0,7	0,7
Bakım	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Laboratuvar harcamaları	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
Diğer giderler	0,6	0,6	0,6	0,6	0,6
Tasarruflar	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0
C. Gelirler (milyon $/yıl)	30,1	30,1	30,1	30,1	30,1
Aseton	8,5	8,5	8,5	8,5	8,5
Bütanol	21,3	21,3	21,3	21,3	21,3
Etanol	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2

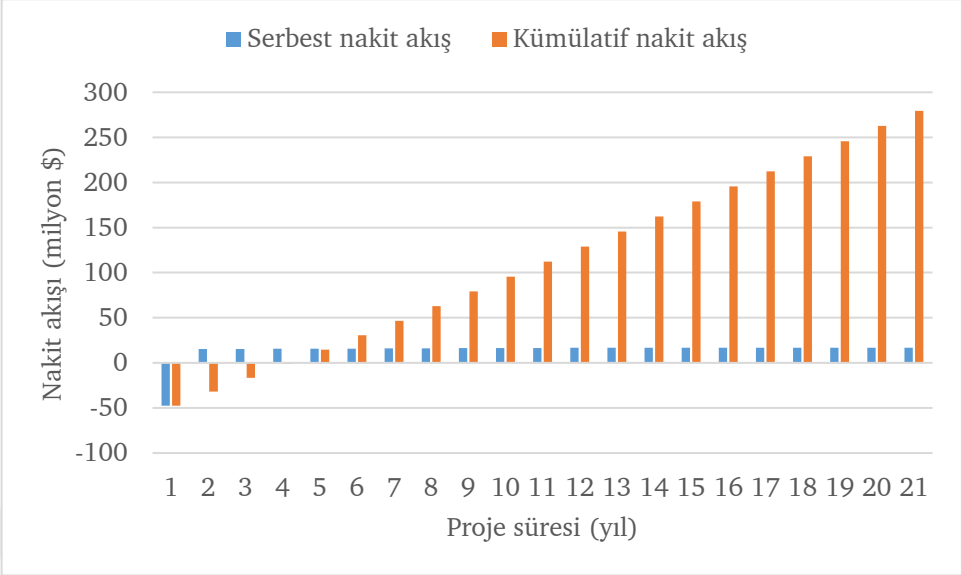
Tablo 6.28 Saatlik 10 ton atık pirinç işleme kapasiteli iyileştirilmiş ABE üretim tesisinin nakit akışı ve karlılık analizi (devamı)

D. FAVÖK	(C-B)	20,3	20,3	20,3	20,3	20,3
E. Amortisman	(A*%5)	2,4	2,4	2,4	2,4	2,4
F. Faiz ve diğer ücretler		1,8	1,6	1,4	1,2	1,1
G. Vergi öncesi kar	(D-(E+F))	16,2	16,3	16,5	16,7	16,9
H. Gelir vergisi (%20)	(G*%20)	3,2	3,3	3,3	3,3	3,4
I. Net kar	(D-(F+H))	15,3	15,4	15,6	15,7	15,9
Proje ömrü (yıl)		20				
Net bugünkü değer (milyon $)		147,2				
İç karlılık oranı (%)		33				
Geri ödeme süresi (yıl)		4				

Şekil 6.9'da önerilen senaryodaki ABE üretim tesisi için yatırım harcaması, yıllık serbest nakit akışları ve kümülatif nakit akışları gösterilmektedir. Buna göre ilk yıl için harcanan yaklaşık 47,3 milyon $ ardından yıllık ortalama 15 milyon $ net kar ile tesisin başa baş noktasına, yani kümülatif nakit akışlarının sıfıra ulaştığı sürenin 4 yıl olduğu gözlemlenmektedir. Proje ömrünün başa baş noktasından sonraki geri kalan sürede elde edilen gelirler ile 20 yıl sonunda kümülatif nakit akışı 280 milyon $'a erişmekte ve bu nakit akışlarının net bugünkü değeri 147,2 milyon $ olarak hesaplanmaktadır.

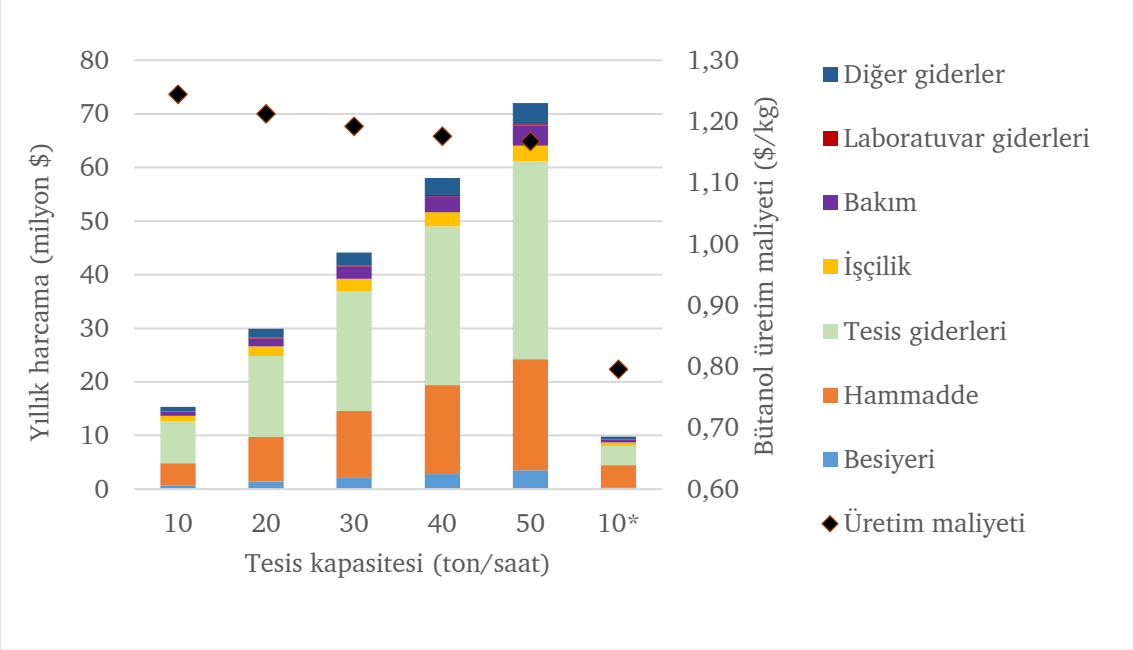
Şekil 6.10'da, hazırlanan 6 ayrı senaryoya göre tesislerin yıllık giderleri ve bu toplam yıllık tesis giderlerinin üretilen bütanol miktarlarına oranlanması ile hesaplanan birim kg için bütanol üretim maliyeti gösterilmektedir. Buna göre, saatlik 10 ton atık pirinç işleme kapasiteli bütanol üretim tesisinin yıllık gideri yaklaşık 15,3 milyon $ olup, bütanol üretim maliyeti ise 1,24 $/kg olarak hesaplanmıştır. Yıllık tesis harcamalarının tesis kapasite artışına eş oranda artmaması sebebiyle tesis kapasitesi arttıkça bütanol üretim maliyetlerinde düşüş

gözlemlenmektedir. Böylece tesis kapasitesi beş kat arttırıldığında ise bütanol üretim maliyeti 1,17 $/kg'a kadar düşüş göstermektedir.



Şekil 6.9 Saatlik 10 ton atık pirinç işleme kapasiteli iyileştirilmiş ABE üretim tesisinin nakit akışları ve başa baş noktası

Ancak, üretim maliyetlerinde daha etkin düşüş gözlemlenmesi için ABE fermantasyonu son ürünlerinin arttırılması gerektiği Şekil 6.10'da açıkça görülmektedir.

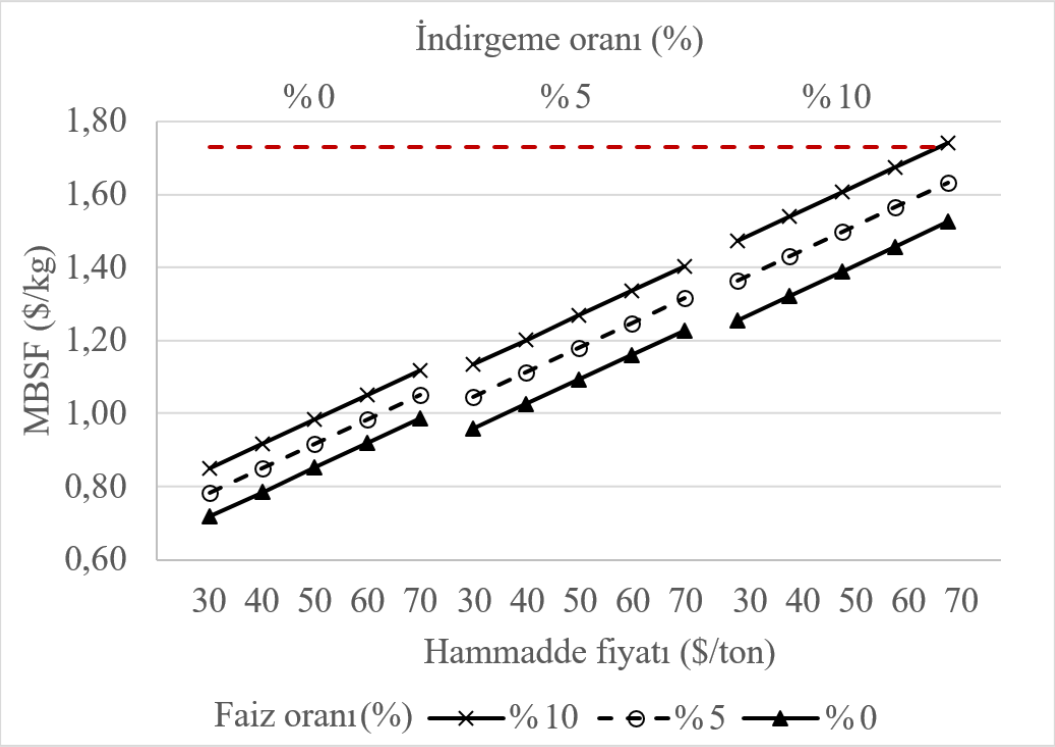


Şekil 6.10 Tesis kapasitesi ve ürün konsantrasyonlarına göre yıllık tesis gider miktarları ve bütanol üretim maliyetleri

Buna göre ABE fermantasyonunun 50 g/L indirgenmiş şeker yerine 100 g/L indirgenmiş şeker ile gerçekleştirilmesiyle yıllık tesis maliyeti %36 azalarak 9,8 milyon $'a düşmekte ve bütanol üretim birim maliyeti ise 0,80 $/kg olarak elde edilmektedir. Şekil 6.11'de tesis fizibilitesini etkileyebilecek kredi faiz oranı (%0-%10), ham madde fiyatı (30 $/ton-70 $/ton) ve indirgeme oranı (%0-%10) gibi dış etkilerin eş zamanlı olarak değişiminin bütanol satış fiyatına etkileri birleşik hassaslık analizi ile incelenmektedir. Buna göre grafikte verilen minimum bütanol satış fiyatı (MBSF), proje ömrü boyunca gerçekleşen tesis nakit akışlarının net bugünkü değerini sıfıra eşitleyen satış fiyatını ifade etmektedir. Yani, 20 yıllık tesis proje ömrü boyunca gerçekleşen tüm gelir ve gider nakit akışlarının net bugünkü değerinin sıfıra eşit olması için gerekli bütanol satış fiyatını göstermektedir. İncelenen senaryoda, %5 kredi faizi, %5 indirgeme oranı ve 50 $/ton ham madde fiyatı için MBSF değeri 1,18 $/kg olduğu görülmektedir. Buna göre, mevcut senaryoda (%5, %5, 50 $/ton) diğer maliyetler, ürün satış fiyatları gibi tüm etkenlerin sabit kalması durumunda bütanol satış fiyatının 1,18 $/kg'ın üzerinde kaldığı piyasa koşullarında tesis fizibilitesi pozitif yönde olmaktadır. MBSF'nin 1,18 $/kg'ın altında kaldığı durumlarda ise tesis nakit akışlarının net bugünkü değerinin negatif olması sebebiyle tesis ekonomik yönden uygun olmamaktadır.

Ayrıca grafikte gösterildiği gibi indirgeme oranı, faiz oranından daha etkili olmakta ve faiz oranında gerçekleşen %5'lik artış, MBSF'de yaklaşık 0,07 $/kg'lık artışa sebep olmaktadır. Diğer taraftan, indirgeme oranında gerçekleşen %5'lik artış ise MBSF için ortalama 0,30 $/kg'lık artışla sonuçlanmaktadır. Şekil 6.11'de kırmızı kesikli çizgi ile gösterilen değer ise önerilen çalışmada 1,73 $/kg olarak öngörülen bütanol satış fiyatını göstermektedir [163]. Yani MBSF ile bütanol satış fiyatının kesiştiği noktada tesisin net bugünkü değeri sıfıra eşitlenmektedir. MBSF'nin bütanol satış fiyatını aştığı şartlarda (70 $/ton ham madde satış fiyatı, %10 indirgeme oranı ve %10 faiz oranı) tesis fizibilitesi negatif yöne geçiş yapmaktadır. Bu durumda ise fizibilitenin tekrar pozitif yöne geçişi için gerçekleştirilebilecek önlemler, Şekil 6.10'da gösterildiği gibi bütanol üretim maliyetinin tesis kapasitesinin arttırılması ile azaldığı sonuçlarına dayanarak tesis

kapasitesinin arttırılması, uygun maliyetli ham madde seçimi ve fermantasyon veriminin arttırılması şeklinde listelenebilmektedir.

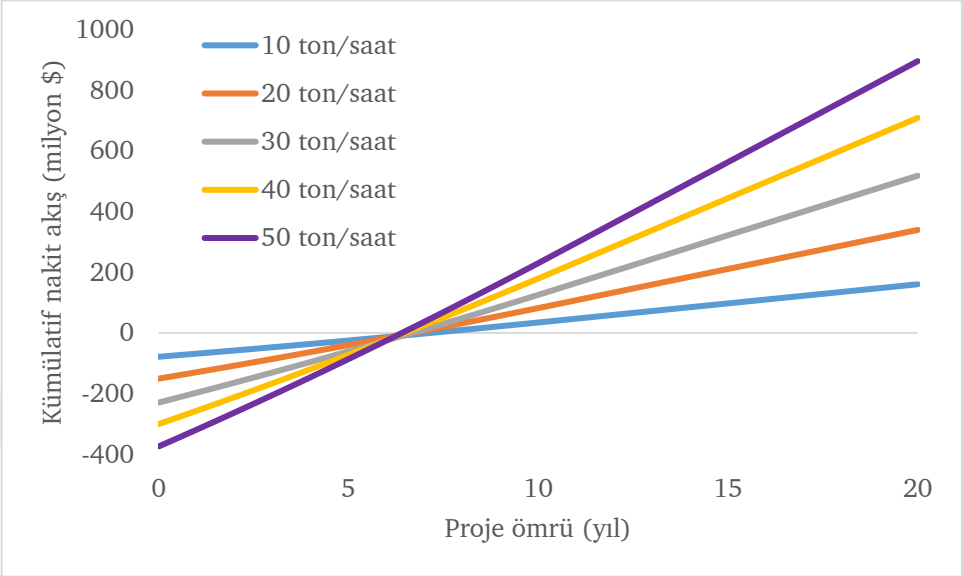


Şekil 6.11 Birleşik hassaslık analizi ile değişen piyasa şartlarına karşılık minimum bütanol satış fiyatının belirlenmesi

Şekil 6.12'de, bu çalışmada incelenen beş farklı tesis kapasitesi senaryosundan elde edilen yatırım maliyeti ve yıllık nakit akışlarından hazırlanan kümülatif nakit akış verileri toplu halde gösterilmektedir. Buna göre tesis kapasitesi saatlik 10 ton atık pirinç işleme üzerine tasarlandığında yatırım maliyeti olarak ihtiyaç duyulan yaklaşık 78 milyon $ 8 yıl içerisinde geri kazanıldığı, yani kümülatif nakit akışlarının sıfıra ulaştığı görülmektedir. Tesis kapasitesinin arttırılması ile ilk yatırım maliyetinin arttığı gözlemlenmekte fakat kapasite artışı ile birlikte 20 yıl sonunda ulaşılan kümülatif nakit akış değerinin de yükseldiği gözlemlenmektedir. Buna göre tesis kapasitesi saatlik 50 ton atık pirinç işlemek için tasarlandığı durumda tesisin yatırımını geri kazanması için gereken proje süresinin, yani başa baş noktasına erişimi için gerekli sürenin 7 yıl olduğu Şekil 6.12'de görülmektedir.

Buradan yola çıkılarak, tesis yatırımının yapıldığı ve faaliyetin sürdürüldüğü şartlarda, dışarıdan kaynaklı sebepler ile tesis fizibilitesinde olumsuz etkilenme

gözlemlendiği durumda, bu durumu tersine çevirmek ve tekrar olumlu görünüme dönebilmek için tesis kapasitesinin arttırılması gerçekleştirilebilecek önlemlerden birisi olmaktadır. Ancak bu durumda, tesis kapasitesini karşılayacak miktarda ham maddenin anlık olarak erişilebilirliğinin güvencesi sağlanmalıdır [182].



Şekil 6.12 Tesis kapasitesine göre kümülatif nakit akışları ve başa baş noktası

Literatürde birçok çalışma farklı ham maddeleri kullanarak bütanol üretim tesisi tasarlamış, karlılık analizi ve maliyet hesaplamaları gerçekleştirmiştir. Tablo 6.29'da görüldüğü gibi fermantasyon yoluyla üretilen bütanolün kg başına üretim maliyeti literatürde 0,59 $/kg ile 2,77 $/kg arasında değişkenlik göstermektedir. Gerçekleştirilen çalışmalarda bütanol üretim maliyeti açısından sunulan fiyatlardaki bu büyük farklılık, başlıca ham madde maliyetlerinden, ürün saflaştırma proseslerinin maliyetlerinden, ham maddenin ön işlem maliyeti ve elbette ihmal edilen ya da dahil edilen diğer proses harcamalarından kaynaklanmaktadır.

Tablo 6.29 Endüstriyel boyutta tasarlanmış bütanol üretim tesislerinin ham madde birim maliyeti ve bütanol üretim maliyetleri

Ham madde	Ham madde maliyeti ($/ton)	Tesis kapasitesi (10^6 kg bütanol/yıl)	Üretim maliyeti ($/kg)	Referans
Atık pirinç	50	12,3	1,24	Bu çalışma

Tablo 6.29 Endüstriyel boyutta tasarlanmış bütanol üretim tesislerinin ham madde birim maliyeti ve bütanol üretim maliyetleri (devamı)

Atık pirinç	-	12,3	0,90	Bu çalışma
Atık pirinç	50	24,7	1,21	Bu çalışma
Atık pirinç	50	37,0	1,19	Bu çalışma
Atık pirinç	50	49,4	1,18	Bu çalışma
Atık pirinç	50	61,7	1,17	Bu çalışma
Atık pirinç	50	12,3	0,80*	Bu çalışma
Atık pirinç	-	12,3	0,46*	Bu çalışma
Şeker kamışı	47	10,0	0,59	[12]
Arpa samanı	61	10,0	0,75	[12]
Mısır atığı	33	10,0	0,59	[12]
Dallı darı	40	10,0	0,63	[12]
Mısır atığı	58,5	113,3	1,19	[38]
Yağsız pirinç kepeği	20	100,0	1,03	[147]
Yağsız pirinç kepeği	50	100,0	1,41	[147]
Buğday samanı	24	150,0	1,30	[162]
Mısır atığı	60	9,1	2,77	[165]
Mısır atığı	60	25,5	1,75	[165]
Kahve ağacı kökü	18	57,8	1,36	[168]
Lignoselülozik biyokütle	60	80,0	1,43	[182]
Mısır atığı	58,5	74,9	1,09	[183]
Mısır atığı	110,5	91,9	1,85	[184]
Mısır	153,5	51,6	1,60	[185]

*ABE fermantasyonunun 100 g/L şeker konsantrasyonu ile gerçekleşme durumu

7
SONUÇ VE ÖNERİLER

Sunulan tez çalışması kapsamında FAO tarafından raporlanan yıllık gıda atığı verilerinde önemli bir paya sahip olan ve yüksek karbon içeriği sayesinde biyoyakıt üretimi için potansiyel bir kaynak olarak görülen pirinçten iki adımlı fermantasyon yoluyla biyobütanol üretimi gerçekleştirilmiştir. Bu kapsamda, mikrobiyolojik yöntem ile bütanol üretiminden sorumlu kültür olan *Clostridium*'un amilaz aktivitesinin zayıf olması sebebiyle, atık pirinçteki nişastanın parçalanarak fermente edilebilir şeker üretim işlemi, enzim maliyetlerinin ortadan kaldırılması amacıyla sıcaklık ve nem kontrollü ortamda katı-hal fermantasyonu ile gerçekleştirilmiştir. Katı-hal fermantasyonunda özellikle Asya kıtası gıda endüstrisinde *koji* küfü olarak da bilinen *A. oryzae* kullanılmıştır. Daha sonra, sakkarifikasyon işlemi tamamlanmış pirinçten hazırlanan numuneler ile farklı şartlar altında ABE fermantasyonu gerçekleştirilmiş ve *C. acetobutylicum* YM1'in biyobütanol üretim performansı incelenmiştir. İncelenen farklı parametrelerden elde edilen sonuçlara göre uygun seviyeler belirlenmiş ve zamana bağlı olarak solvent üretim profilleri hazırlanmıştır. Ayrıca, literatürde "zorunlu anaerob" olarak tanımlanan *Clostridium* ile anaerobik ve steril şartlar altında gerçekleştirilen geleneksel ABE fermantasyonu işlemlerinden farklı olarak, literatürde ilk kez aerobik ve steril olmayan koşullar altında bütanol üretimi tamamlanmış ve böylelikle azot ve sterilizasyon maliyetlerinin de ortadan kaldırılması hedeflenmiştir.

Deneysel çalışma sonucunda elde edilen veriler SuperPro Designer'da kullanılarak endüstriyel boyutta iki adımlı fermantasyon ile biyobütanol üretim tesisinin simülasyonu gerçekleştirilmiş ve farklı senaryolar kapsamında tesisin fizibilite analizleri yapılmıştır. Buna göre; tesis kapasitesinin, ham madde birim fiyatının, kredi faiz oranının ve nakit akışları indirgeme oranının tesis için geri ödeme süresi,

iç karlılık oranı ve net bugünkü değer gibi temel ekonomik kavramlara olan etkileri incelenmiş ve başa baş noktaları belirlenmiştir.

Tez çalışmasında elde edilen sonuçlar ve önerileri daha özelde listeleyecek olursak;

- Katı-hal fermantasyonu ile pirinç içerisindeki nişastanın şekere dönüşüm işleminde, nem ve havalandırmanın fermantasyon verimine doğrudan etkisi olduğu gözlemlenmiştir. Buna göre sıcaklığın, kontrollü ortamda 30-32 °C seviyelerinde kalmasına karşılık, nemin ve havalandırmanın tüm yüzeylere etkin şekilde ulaşımının sağlanamaması sebebiyle son üründeki indirgenmiş şeker miktarının istenilen seviyelere ulaşamadığı görülmüştür. Bu çalışmalarda 50 saat sonunda indirgenmiş şeker miktarı 0,22-0,45 g/g (sonuçlar verilmemiştir) olarak elde edilmiştir.
- Diğer taraftan, katı-hal fermantasyonu başlangıcında *A. oryzae* inokülasyonu sırasında ortamın yeterli seviyede nemli olmaması, pirincin sıcaklığının uygun seviyelere düşürülememesi ya da sterilizasyon şartlarında karşılaşılan olumsuz durumlar sebebiyle küflerin yeterince büyümesinin gerçekleşemediği, ürün dönüşümünün başlamadığı görülmüştür.
- Gerçekleştirilen deneyler kapsamında inoküle edilen *A. oryzae* miktarı da katı-hal fermantasyonu verimini doğrudan etkileyen bir parametre olarak görülmüştür. Bu kapsamda yetersiz miktarda mikroorganizma ekimi, küflerin büyümesinin tamamlanamamasına ve potansiyel olarak diğer kültürlerin büyümesiyle düşük verim alınmasına sebep olmaktadır. ABE fermantasyonu için *Clostridium*'un inokülasyon hacminin fermantasyon verimine etkilerini incelemek amacıyla gerçekleştirilen çalışmalar sonunda elde edilen yüksek miktarda kültür ekiminin fermantasyonu olumsuz yönde etkilemesi sonuçlarından farklı olarak, katı-hal fermantasyonunda yüksek miktarlarda canlı organizma inokülasyonu önerilmektedir.
- Fermantasyon başlangıcında GMMAY 88 standartlarına göre analizi gerçekleştirilen ve 100 g kuru temelde 87,34 ± 0,41 g nişasta bulunan pirinç numunesinde 50 saat sonunda 0,79 ± 0.02 g/g indirgenmiş şeker

dönüşümü elde edilmiştir. Böylece, literatürde önerilen nişasta-şeker dönüşümü için verilen 1,11 katsayısı ile indirgenmiş şeker üretim verimi %82 olarak hesaplanmıştır.

- ABE fermantasyonu; fermantasyonda kullanılan besiyeri tipi, karıştırma hızı, başlangıç pH değeri, başlangıç indirgenmiş şeker konsantrasyonu, anaerobik ve sterilizasyon durumu gibi farklı şartlar altında gerçekleştirilmiş buna göre aerotolerant kültür olan *C. acetobutylicum* YM1'in solvent üretim performansı incelenmiştir.
- Buna göre ilk aşamada besiyeri bileşiminin son ürün konsantrasyonuna etkisi incelendiğinde TYA besiyeri ile gerçekleştirilen deneylerde RCM'ye göre yaklaşık üç kat yüksek solvent üretimi gerçekleşmiştir. En uygun besiyeri tipinin kullanılan mikroorganizmaya göre değişkenlik gösterdiği literatürdeki birçok çalışmada sunulmuş olup, gerçekleştirdiğimiz çalışmada TYA'nın daha verimli sonuç vermesinin sebebi ise içerdiği KH2PO4 bileşeninin fermantasyon süresince ani pH değişimlerine karşı tampon görevi görmesinden kaynaklanmaktadır. Yani, fermantasyonun erken aşamalarında pH değerinin 4,5-5 seviyelerine gelerek solventojenik faza geçişi yerine, şeker tüketiminin daha yüksek olduğu, canlı mikroorganizma sayısının istenilen seviyelere eriştiği durumda faz geçişi sayesinde üretilen solvent konsantrasyonunda artış gözlemlenmiştir.
- ABE fermantasyonunda, karbon kaynağı olarak katı-hal fermantasyonu ürünü olan pirinçten elde edilen şeker kullanılmıştır. Buna göre indirgenmiş şeker konsantrasyonunun fermantasyon verimine etkisini gözlemlemek amacıyla 30, 40, 50, 60 g/L seviyelerinde şeker içeren numuneler hazırlanmış ve fermantasyon işleminin tamamlanması ile solvent üretimleri incelenmiştir. Fermantasyon sonuçlarına göre, indirgenmiş şeker miktarının artması ile solvent konsantrasyonunun arttığı gözlemlenmiş fakat başlangıç şeker konsantrasyonu 50 g/L'den 60 g/L'ye arttırıldığında ise şeker tüketim veriminde %98'den %92'ye düşüş gözlemlenmiştir. Bu durumun temel sebebi, bütanol konsantrasyonunun belirli seviyelere (10-12 g/L) ulaşmasının ardından *Clostridium* için toksik

etkiye sebep olması, yani fermantasyonun canlı mikroorganizma sayısındaki düşüş ya da stres altında kültürlerde endospor oluşumları ile sonlanmasından kaynaklanmaktadır. Ancak fermantasyonda kullanılabilecek optimum karbon kaynağı miktarı, besiyerine benzer şekilde kullanılan suşlara göre değişkenlik göstermektedir. Daha yüksek miktarlarda karbon kaynağı kullanımı ve elde edilen bütanol konsantrasyonunun arttırılabilmesi için gaz sıyırması, membran uygulamaları ya da pervaporasyon gibi eş zamanlı ayırma yöntemleri ile bütanolün ortamdan ayrılarak toplanması ve fermantasyon ortamındaki bütanol konsantrasyonunun 10 g/L'yi aşmasının önlenmesi önerilmektedir.

- ABE fermantasyonuna etkisinin incelendiği bir diğer parametre olan karıştırma hızında ise fermantasyon süresince uygulanan karıştırma işlemi sayesinde bölgesel konsantrasyon farkları, kültürün dibe çökmesi önlenmiş ve hem şeker tüketim miktarlarında, hem de üretilen solvent miktarlarında artış sağlanmıştır. Literatürde verilen, asidojenik fazda üretilen H_2 ve CO_2 gazlarının, fermantasyon ortamının yeterli seviyede karışmasını sağladığı, ekstra karıştırma işlemine gerek duyulmadığı ya da karıştırma etkisi ile mikroorganizma çoğalmalarının etkilenmesi sebebiyle solvent üretiminde düşük verim elde edilmesi gibi sonuçlardan farklı olarak karıştırma etkisinin ABE fermantasyonunu olumlu yönde etkilediği görülmüştür. Ancak, sürekli karıştırmaya maruz bırakılan numuneler arasındaki solvent üretimleri incelendiğinde ise uygulanan karıştırma hızı farklarının son ürün konsantrasyonunu ihmal edilebilir seviyelerde etkilediği gözlemlenmiştir.
- ABE fermantasyonunda optimum başlangıç pH değerinin kullanılan ham madde, besiyeri ve suşa bağlı olarak değişkenlik gösterdiği literatürdeki çalışmalarda belirtilmiştir. Literatürdeki çalışmalarda optimum pH değeri için 5,5 ya da 7,0 olarak veren çalışmalar olmasına rağmen, *C. acetobutylicum* YM1 ve TYA besiyeri ile atık pirinçten bütanol üretimi için gerçekleştirilen deneyler sonucunda optimum pH aralığı 6,1 ± 0,1 olarak belirlenmiştir. Ayrıca, başlangıç pH değerinin 6'nın altında belirlendiği durumlarda daha düşük miktarlarda asit üretimi ile

solventojenik faza erken dönemde geçiş yaşandığı, 7,0'nin üzerinde belirlendiğinde ise kültürün yeterli seviyede büyüyemediği için son ürün konsantrasyonlarının nispeten düşük olduğu görülmüştür.

- ABE fermantasyonu genel olarak *Clostridium*'un zorunlu anaerob sınıfında olması sebebiyle anaerobik koşullarda gerçekleştirilmektedir. Ayrıca, diğer biyolojik proseslerde de olduğu gibi kültür büyümesinin etkilenmemesi, istenmeyen yan ürünlerin üretilmemesi için steril koşullar gerekmektedir. Tez çalışmasında bütanol üretimi için kullanılan aerotolerant kültür ile fermantasyon aerobik şartlar altında gerçekleştirilmiş ve fermantasyon sonunda anaerobik şartlarla benzer şekilde solvent üretim verimi ve şeker tüketim verimleri elde edilmiştir (sırasıyla 0,98 g/g ve 0,35 g/g). Diğer taraftan, steril olmayan şartların solvent üretimine etkisini gözlemlemek amacıyla gerçekleştirilen deneyler sonucunda steril olmayan numunelerde de şeker tüketimi 0,99 g/g seviyelerine ulaşırken, solvent üretim verimi 0,33 g/g seviyelerinde kaldığı görülmüştür. Steril numunelere kıyasla solvent üretim veriminde ortaya çıkan bu küçük farklılıkların gerekçesi ise şekerin bir kısmının ortamda bulunan diğer mikroorganizmalar tarafından tüketilmesi olarak yorumlanmaktadır. Ancak, sterilizasyon ve aerobik durumlar konusunda uygulanan tüm şartlarda *C. acetobutylicum* YM1'in yeterince çoğalmış kültür inokülasyonu (OD_{600}>2,5) ile etkin performans gösterdiği görülmektedir. 40 g/L indirgenmiş şeker ile gerçekleştirilen deney sonucunda toplam ABE konsantrasyonları 12,73 g/L ile 13,80 g/L aralığında değişkenlik göstermiştir.
- İncelenen parametreler arasında en uygun koşulların belirlenmesinin ardından ABE fermantasyonu ile solvent üretimi aerobik ve steril olmayan şartlarda gerçekleştirilmiş; optik yoğunluk, pH, asit üretimi, şeker tüketimi ve kültür üretkenliği gibi çıktılar fermantasyon süresince belirli zaman aralıkları ile alınan numuneler yardımıyla takip edilerek zamana karşı profiller oluşturulmuştur.
- Buna göre 50 g/L indirgenmiş şeker ile başlatılan fermantasyonda, bakteriler tarafından fermantasyonun ilk 24 saatinde çoğalma ve asit

üretimi için şeker kullanımı yoğun şekilde gerçekleşmiştir. İndirgenmiş şekerin yaklaşık %25'i bu dönemde tüketilmiş ve üretilen asetik asit ile bütirik asit sebebiyle (toplam asit konsantrasyonu 4,43 g/L) pH değeri 4,78'e düşmüştür. Böylece, ortamdaki asit birikimi ve pH düşüşü sayesinde ABE fermantasyonunda faz geçişi gerçekleşerek solventojenik faz başlamıştır. Yani, ilk 24 saatin ardından solvent üretim hızı artmış ve 24-48 saat aralığında toplam ABE konsantrasyonu 3,5 g/L seviyesinden 12,4 g/L'ye ulaşmıştır. Bu dönemde solvent üretimi için şeker kullanımının yanı sıra asetik asitten aseton, bütirik asitten ise bütanol üretimleri gerçekleşmiştir. 48 saat sonunda toplam asit konsantrasyonu 1,54 g/L'ye gerilemiş ve pH değeri 4,97'ye yükselmiştir.

- 72. saatin sonunda şekerin yaklaşık %91'i kullanılmış ve toplam ABE konsantrasyonu 15,40 g/L'ye ulaşmıştır. Fermantasyonun kalan 48 saatlik dönemde ise şeker miktarında 2,5 g/L daha azalma gözlenerek, 120 saat sonunda 1,9 g/L'ye düşmüştür. ABE konsantrasyonu ise 16,68 g/L olarak ölçülmüştür. Anlık konsantrasyon değerinin (g/L), fermantasyon süresine (saat) oranlanması ile hesaplanan kültürlerin üretkenlik (g/L.saat) verileri ise 5 günlük süre için sırasıyla 0,14, 0,26, 0,21, 0,17 ve 0,14 g/L.saat değerlerine ulaşmıştır. Yani fermantasyon süresinin ilerlemesi ile birlikte solvent üretiminde yavaşlamalar görüldüğü, bu sayede üretkenlik değerinin azaldığı anlaşılabilmektedir. Bunun temel sebebi ise ortamda bulunan şeker miktarının azalması ve bütanol birikmesinden kaynaklanmaktadır. Eş zamanlı olarak bütanolün uzaklaştırılması ve taze çözelti beslemeleri ile fermantasyon sonunda üretilen bütanol miktarının arttırılabilmesi mümkün olmaktadır.
- Deneysel olarak gerçekleştirilen iki adımlı fermantasyon ile atık pirinçten biyobütanol üretimi sonunda elde edilen sonuçlar ve temel kabuller SuperPro Designer'da kullanılarak endüstriyel boyutta sistem tasarımı ve simülasyonu gerçekleştirilmiştir. Buna göre temel olarak saatlik 10 ton atık pirinç işleme kapasiteli tesis planlaması yapılmış ve 0,95 akım faktörü ile yıllık gerekli pirinç miktarı yaklaşık 83 bin ton olarak hesaplanmıştır. Yıllık

solvent üretim miktarları ise yaklaşık 6,7 bin ton aseton, 12,3 bin ton bütanol ve 215 ton etanol olarak hesaplanmıştır. SuperPro Designer'da bulunan aşamalı mod yani ekipmanlar arası geçişler ile yıllık gerçekleştirilebilecek kesikli işlem sayısı 109'dan 653'e yükselmiş ve böylece ekipmanların daha verimli kullanımı ile yatırım maliyetleri düşürülmüştür.

- Tesis için gelirleri üretilen solventlerin satışlarından sağlanmış ve üretilen gazlar ile asitlerden gelebilecek potansiyel gelir ihmal edilmiştir. Tesisin yıllık ısıtma, soğutma ve elektrik giderlerinin azaltılması için SuperPro Designer'da bulunan sanal ısı entegrasyonu kullanılmış ve buna göre bir ekipmanda gerçekleştirilen işlem sonucunda elde kalan ekstra ısının (soğutma ya da ısıtma işleminin) bir diğer ekipmanda değerlendirilmesi sağlanmıştır. Ek olarak, katı-hal fermantasyonu sonrası şeker dönüşümü tamamlanmış pirinçten şekerin alınması ile geriye kalan pirinç keki önce buhar, daha sonrada elektrik üretiminde kullanılmış ve tesis içi elektrik-ısıtma giderlerinin bir kısmını karşılamıştır.
- Solventlerin satışından elde edilen gelirlerden harcama kalemleri çıkarılarak faiz, amortisman ve vergi öncesi kar anlamına gelen FAVÖK ve tesis fizibilitesini belirleyen diğer kavramlar hesaplanmıştır.
- Saatlik 10 ton atık pirinç kapasiteli bütanol üretim tesisi için kurulum dönemi ödenen yatırım maliyeti ve 20 yıllık proje ömrü boyunca gerçekleşen nakit akışları ile projenin geri ödeme süresi 8 yıl, iç karlılık oranı %13 ve net bugünkü değeri 64,4 milyon $ olarak hesaplanmıştır.
- Tesis kapasitesinin fizibiliteye etkisini incelemek amacıyla hazırlanan beş ayrı kapasite sonunda elde edilen verilere göre, yıllık kapasite beş katına çıkarıldığında, proje geri ödeme süresi 7 yıl, iç karlılık oranı %15 ve net bugünkü değer 385,5 milyon $ olarak hesaplanmıştır. Ayrıca, tesis kapasitesinin beş katına çıkarılması ile bütanol üretim maliyeti de 1,24 $/kg'dan 1,17 $/kg'a gerilemiştir. Elde edilen sonuçlara dayanarak tesis kapasitesinin arttırılmasının tesis fizibilitesine olumlu yönde etkisi olduğu açıkça görülmektedir. Ancak yıl süresince ham madde temin

güvencesinin sağlanması konularında oluşabilecek tehlikeler nedeniyle, yıllık tesis kapasitesi ham madde erişimine uygun seviyelerde seçilmesi önerilmektedir.

- Saatlik 10 ton atık pirinç işleme kapasiteli tesiste 1,24 $/kg olarak hesaplanan bütanol üretim maliyetinde elde edilen tasarruflar ise literatürdeki çalışmalardan ve SuperPro Designer'dan elde edilen verilere dayanarak hesaplanmıştır. Sonuçlar bölümünde de ayrıntılı olarak bahsedilen ve literatürde sunulan bir çalışmaya göre, aynı kapasitede gıda atığının işlenmesiyle şeker şurubu üretimi için tasarlanan bir tesiste enzim maliyeti yaklaşık 5 milyon $, bir başka çalışmada ise yıllık azot maliyeti 250 bin $ olarak verilmiştir. Tez çalışmasında, tesis bünyesinde elektrik üretimi, buhar üretimi ve ısı entegrasyonu ile elde edilen yıllık tasarruf ise yaklaşık 2,2 milyon $'a ulaşmaktadır. Böylece, tesis içi edilen tasarruflara, enzimatik hidroliz yerine katı-hal fermantasyonunun uygulanması ve ABE fermantasyonunun aerobik şartlar altında gerçekleştirilmesi ile sağlanan tasarruflar da dahil edildiğinde, yıllık tesis giderinin yaklaşık 7,2 milyon $ azaldığı görülmektedir. Bu da üretilen 12,3 bin tonluk bütanol için üretim maliyetini 1,82 $/kg yerine 0,58 $/kg gibi önemli miktarda tasarruf ile 1,24 $/kg'a düşürmektedir.
- Son ürün olarak elde edilen solvent konsantrasyonlarının ve başlangıç şeker konsantrasyonunun tesis yatırım maliyeti ve nakit akışlarına etkilerini incelemek amacıyla ABE fermantasyonu başlangıç şeker konsantrasyonu 100 g/L olarak ayarlanmış ve gerekli ekipman boyutları ve sayıları tekrar belirlenmiştir. Böylece aynı kapasitede tasarlanan tesise kıyasla yatırım maliyeti %39,9 azalmış, bütanol üretim maliyeti ise 0,80 $/kg olarak hesaplanmıştır. Kullanılan şeker konsantrasyonunun iki katına çıkarılması ile tesisin 20 yıllık proje ömrü sonunda ise net bugünkü değeri 64,4 milyon $'dan 147,2 milyon $'a, iç karlılık oranı %13'ten %33'e yükselmiş ve tesis geri ödeme süresi 8 yıldan 4 yıla gerilemiştir. Yani, fermantasyonun solvent üretim performansının arttırılması, tesis kapasitesinin arttırılmasına göre fizibilite açısından daha olumlu sonuç verdiği görülmektedir.

- ABE üretim tesisinin değişen piyasa koşulları ya da biyoyakıt marketi şartlarına göre fizibilitesini incelemek amacıyla birleşik hassaslık analizi gerçekleştirilmiştir. Buna göre ham madde alış fiyatı, kredi faiz oranı ve indirgeme oranının eş zamanlı olarak değişkenlik gösterdiği koşullar altında mevcut proses verimi ve ürün satış fiyatları gibi diğer proses parametreleri sabit tutularak tesis fizibilitesi incelenmiştir. Buna göre, tesisin yatırım maliyeti ve 20 yıllık proje ömründe gerçekleşen nakit akışlarının net bugünkü değerini sıfıra eşitleyen satış fiyatı olarak ifade edilen minimum bütanol satış fiyatı temel alınmıştır. Bu değer çalışmada incelenen senaryoların neredeyse tamamında bütanol satış fiyatının altında kalmıştır. Yani tesisin net bugünkü değeri pozitif değer ile sonuç vermiştir. Ancak, kredi faiz oranının ve indirgeme oranının %10 olduğu, ham madde alış fiyatının ise 70 $/kg ve üzeri olduğu durumda minimum bütanol satış fiyatı 1,73 $/kg'ı aşmakta ve net bugünkü değer negatife dönmektedir. Bu durumda alınabilecek önlemler olarak ise tesis kapasitesinin arttırılması, satış gelirlerinin ihmal edildiği gaz ve asitlerin satışı ya da daha uygun maliyette ham madde tercihi gibi seçenekler olmaktadır.
- Çin'in bazı bölgelerinde ve Hawaii'de bulunan gıda işletmelerinin atıklarını elden çıkarmak için yasal olarak ödeme yapmak zorunda olması ya da Japonya'da 2030'dan sonra uygulamaya konulacak olan gıda atıklarının değerlendirilmesi yasalarına dayanarak; literatürde bulunan çalışmaların bir kısmı, gıda atıklarının biyoyakıt üretiminin yerel yönetimler ya da hükümet tarafından teşvik edildiği senaryosu üzerine kurgulanmış ve bu durumda ham maddenin ücretsiz olarak temin edildiği kabul edilmiştir. Benzer senaryoyu tez çalışmasına uyarlandığında; yani atık pirinç satın alım fiyatının 50 $/ton yerine ücretsiz kabul edildiğinde, saatlik 10 ton atık pirinç işleme kapasiteli ABE üretim tesisinde bütanol üretim maliyeti 1,24 $/kg yerine 0,80 $/kg olarak hesaplanmıştır. ABE fermantasyonunun başlangıcında şeker konsantrasyonunun 100 g/L olarak ayarlanması durumunda ise kullanılacak besiyeri miktarlarının, yani ısıtma soğutma giderlerinin, azalması sayesinde bütanol üretim maliyetinin 0,46 $/kg'a

düştüğü görülmüş, bu da literatürde sunulan tüm çalışmalardan daha düşük maliyet olarak elde edilmiştir.

KAYNAKÇA

[1] P. Dürre, “Biobutanol: An attractive biofuel”, Biotechnology Journal, c. 2, sy 12, ss. 1525-1534, Ara. 2007, doi: 10.1002/biot.200700168.

[2] C. Jin, M. Yao, H. Liu, C. F. Lee, ve J. Ji, “Progress in the production and application of n-butanol as a biofuel”, Renewable and Sustainable Energy Reviews, c. 15, sy 8, ss. 4080-4106, Eki. 2011, doi: 10.1016/j.rser.2011.06.001.

[3] P. Dürre, “Fermentative Butanol Production: Bulk Chemical and Biofuel”, Annals of the New York Academy of Sciences, c. 1125, sy 1, ss. 353-362, Mar. 2008, doi: 10.1196/annals.1419.009.

[4] N. Qureshi ve T. C. Ezeji, “Butanol, ‘a superior biofuel’ production from agricultural residues (renewable biomass): recent progress in technology”, Biofuels, Bioproducts & Biorefining, c. 2, sy 4, ss. 319-330, Tem. 2008, doi: 10.1002/bbb.85.

[5] F. Schreyer, G. Luderer, R. Rodrigues, R. C. Pietzcker, L. Baumstark, M. Sugiyama, R. J. Brecha, ve F. Ueckerdt, “Common but differentiated leadership: strategies and challenges for carbon neutrality by 2050 across industrialized economies”, Environmental Research Letters, c. 15, sy 11, s. 114016, Eki. 2020, doi: 10.1088/1748-9326/abb852.

[6] N. K. N. Al-Shorgani, M. S. Kalil, W. M. W. Yusoff, ve A. A. Hamid, “Impact of pH and butyric acid on butanol production during batch fermentation using a new local isolate of Clostridium acetobutylicum YM1”, Saudi Journal of Biological Sciences, c. 25, sy 2, ss. 339-348, Şub. 2018, doi: 10.1016/j.sjbs.2017.03.020.

[7] P. R. Nimbalkar, M. A. Khedkar, P. V. Chavan, ve S. B. Bankar, “Biobutanol production using pea pod waste as substrate: Impact of drying on saccharification and fermentation”, Renewable Energy, c. 117, ss. 520-529, Mar. 2018, doi: 10.1016/j.renene.2017.10.079.

[8] P. R. Nimbalkar, M. A. Khedkar, S. G. Gaikwad, P. V. Chavan, ve S. B. Bankar, “New Insight into Sugarcane Industry Waste Utilization (Press Mud) for Cleaner Biobutanol Production by Using C. acetobutylicum NRRL B-527”, Appl Biochem Biotechnol, c. 183, sy 3, ss. 1008-1025, Kas. 2017, doi: 10.1007/s12010-017-2479-3.

[9] M. H. Abd-Alla, A. N. A. Zohri, A.-W. E. El-Enany, ve S. M. Ali, “Acetone–butanol–ethanol production from substandard and surplus dates by Egyptian native Clostridium strains”, Anaerobe, c. 32, ss. 77-86, Nis. 2015, doi: 10.1016/j.anaerobe.2014.12.008.

[10] S. M. Harde, S. B. Jadhav, S. B. Bankar, H. Ojamo, T. Granström, R. S. Singhal ve S. A. Survase, “Acetone-butanol-ethanol (ABE) fermentation using the root

hydrolysate after extraction of forskolin from Coleus forskohlii", Renewable Energy, c. 86, ss. 594-601, Şub. 2016, doi: 10.1016/j.renene.2015.08.042.

[11]N. K. N. Al-Shorgani, M. H. M. Isa, W. M. W. Yusoff, M. S. Kalil, ve A. A. Hamid, "Isolation of a Clostridium acetobutylicum strain and characterization of its fermentation performance on agricultural wastes", Renewable Energy, c. 86, ss. 459-465, Şub. 2016, doi: 10.1016/j.renene.2015.08.051.

[12]M. Kumar, Y. Goyal, A. Sarkar, ve K. Gayen, "Comparative economic assessment of ABE fermentation based on cellulosic and non-cellulosic feedstocks", Applied Energy, c. 93, ss. 193-204, May. 2012, doi: 10.1016/j.apenergy.2011.12.079.

[13]I. Patraşcu, C. S. Bîldea, ve A. A. Kiss, "Eco-efficient butanol separation in the ABE fermentation process", Separation and Purification Technology, c. 177, ss. 49-61, Nis. 2017, doi: 10.1016/j.seppur.2016.12.008.

[14]Food wastage footprint: impacts on natural resources: summary report. Rome: FAO, 2013. http://www.fao.org/3/i3347e/i3347e.pdf, Erişim: 10 Şubat 2021.

[15]Global food losses and food waste – Extent, causes and prevention. Rome: FAO, 2011. http://www.fao.org/3/mb060e/mb060e00.htm, Erişim: 10 Şubat 2021.

[16]B. Ellison ve M. Kalaitzandonakes, "Food Waste and Covid-19: Impacts along the Supply Chain", farmdoc dailys, c. 10, ss. 164, Eyl. 2020.

[17]M. Takata, K. Fukushima, N. Kino-Kimata, N. Nagao, C. Niwa, ve T. Toda, "The effects of recycling loops in food waste management in Japan: Based on the environmental and economic evaluation of food recycling", Science of The Total Environment, c. 432, ss. 309-317, Ağu. 2012, doi: 10.1016/j.scitotenv.2012.05.049.

[18]M. K. Loke ve J. Mak, "Reducing Food Waste in Hawai'i: A Primer", s. 9, 2019.

[19]L. Mojovic, P. Dusanka, G. Olgica, M. Sinisa, P. Jelena, R. Marica, V. Maja, N. Svetlana ve S. Dragisa, "Progress in the production of bioethanol on starch-based feedstocks", Chemical Industry and Chemical Engineering Quarterly, c. 15, sy 4, ss. 211-226, 2009, doi: 10.2298/CICEQ0904211M.

[20]W. Han, J. Fang, Z. Liu, ve J. Tang, "Techno-economic evaluation of a combined bioprocess for fermentative hydrogen production from food waste", Bioresource Technology, c. 202, ss. 107-112, Şub. 2016, doi: 10.1016/j.biortech.2015.11.072.

[21]J. Ding, M. Xu, F. Xie, C. Chen, ve Z. Shi, "Efficient butanol production using corn-starch and waste Pichia pastoris semi-solid mixture as the substrate", Biochemical Engineering Journal, c. 143, ss. 41-47, Mar. 2019, doi: 10.1016/j.bej.2018.12.017.

[22]H. Li, L. Xiong, X. Chen, C. Wang, G. Qi, C. Huang, M. Luo ve X. Chen, "Enhanced enzymatic hydrolysis and acetone-butanol-ethanol fermentation of

sugarcane bagasse by combined diluted acid with oxidate ammonolysis pretreatment", Bioresource Technology, c. 228, ss. 257-263, Mar. 2017, doi: 10.1016/j.biortech.2016.12.119.

[23]M. F. Ibrahim, S. Abd-Aziz, Mohd. E. M. Yusoff, L. Y. Phang, ve M. A. Hassan, "Simultaneous enzymatic saccharification and ABE fermentation using pretreated oil palm empty fruit bunch as substrate to produce butanol and hydrogen as biofuel", Renewable Energy, c. 77, ss. 447-455, May. 2015, doi: 10.1016/j.renene.2014.12.047.

[24]H. T. M. Tran, B. Cheirsilp, B. Hodgson, ve K. Umsakul, "Potential use of Bacillus subtilis in a co-culture with Clostridium butylicum for acetone–butanol–ethanol production from cassava starch", Biochemical Engineering Journal, c. 48, sy 2, ss. 260-267, Oca. 2010, doi: 10.1016/j.bej.2009.11.001.

[25]I. S. Maddox, "The Acetone-Butanol-Ethanol Fermentation: Recent Progress in Technology", Biotechnology and Genetic Engineering Reviews, c. 7, sy 1, ss. 189-220, Ara. 1989, doi: 10.1080/02648725.1989.10647859.

[26]T. H. Kwan, K. L. Ong, M. A. Haque, S. Kulkarni, ve C. S. K. Lin, "Biorefinery of food and beverage waste valorisation for sugar syrups production: Techno-economic assessment", Process Safety and Environmental Protection, c. 121, ss. 194-208, Oca. 2019, doi: 10.1016/j.psep.2018.10.018.

[27]V. Zambare, "Solid State Fermentation of Aspergillus oryzae for Glucoamylase Production on Agro residues", International Journal of Life Sciences, c. 4, ss. 16-25, Mar. 2010, doi: 10.3126/ijls.v4i0.2892.

[28]A. Pandey, C. R. Soccol, ve D. Mitchell, "New developments in solid state fermentation: I-bioprocesses and products", Process Biochemistry, c. 35, sy 10, ss. 1153-1169, Tem. 2000, doi: 10.1016/S0032-9592(00)00152-7.

[29]J. A. V. Costa, H. Treichel, V. Kumar, ve A. Pandey, "Advances in Solid-State Fermentation", içinde Current Developments in Biotechnology and Bioengineering, Elsevier, 2018, ss. 1-17. doi: 10.1016/B978-0-444-63990-5.00001-3.

[30]M. Machida, O. Yamada, ve K. Gomi, "Genomics of Aspergillus oryzae: Learning from the History of Koji Mold and Exploration of Its Future", DNA Research, c. 15, sy 4, ss. 173-183, May. 2008, doi: 10.1093/dnares/dsn020.

[31]H. Hamajima, A. Fujikawa, M. Yamashiro, T. Ogami, S. Kitamura, M. Tsubata, S. Tan, H. Matsunaga, K. Sawada, S. Kumagai, N. Hayashi, K. Nagao, T. Yanagita, T. Oka, S. Mitsutake ve H. Kitagaki, "Chemical Analysis of the Sugar Moiety of Monohexosylceramide Contained in Koji, Japanese Traditional Rice Fermented with Aspergillus", Fermentation, c. 2, sy 4, s. 2, Oca. 2016, doi: 10.3390/fermentation2010002.

[32]R. Gomez-Flores, T. N. Thiruvengadathan, R. Nicol, B. Gilroyed, M. Morrison, L. M. Reid ve A. Margaritis, "Bioethanol and biobutanol production from sugarcorn juice", Biomass and Bioenergy, c. 108, ss. 455-463, Oca. 2018, doi: 10.1016/j.biombioe.2017.10.038.

[33]B. O. Abo, M. Gao, Y. Wang, C. Wu, Q. Wang, ve H. Ma, “Production of butanol from biomass: recent advances and future prospects”, Environmental Science and Pollution Research, c. 26, sy 20, ss. 20164-20182, Tem. 2019, doi: 10.1007/s11356-019-05437-y.

[34]M. K. Mahapatra, ve A. Kumar, “A Short Review on Biobutanol, a Second Generation Biofuel Production from Lignocellulosic Biomass”, Journal of Clean Energy Technology, c. 5, sy 1, ss. 27-30, 2017, doi: 10.18178/JOCET.2017.5.1.338.

[35]A. S. Rohani, “Multı-Objectıve Optımızatıon Of Butanol Productıon Durıng Abe Fermentatıon”, Yüksek Lisans Tezi, Kimya ve Biyoloji Mühendisliği Bölümü, Ottawa Üniversitesi, 2013.

[36]K. Gao, “ABE Fermentation From Low Cost Substrates”, Doktora Tezi, Kimya ve Biyoloji Mühendisliği Bölümü, Western Ontario Üniversitesi, 2016.

[37]M. K. Yeşi□lyurt, “The Effects of Different Higher Alcohols (1-Butanol, 1-Pentanol, 1-Hexanol) Addition into the Diesel Fuel on the Performance, Combustion, and Exhaust Emission Characteristics of a Single-Cylinder Diesel Engine”, Uluslararası Muhendislik Arastirma ve Gelistirme Dergisi, ss. 397-426, Haz. 2020, doi: 10.29137/umagd.704961.

[38]L. Tao, E. C. D Tan, R. McCormick, M. Zhang, A. Aden, X. He, ve B. T. Zigler, “Techno- economic analysis and life- cycle assessment of cellulosic isobutanol and comparison with cellulosic ethanol and n- butanol”, Biofuels, Bioproducts & Biorefining., c. 8, sy 1, ss. 30-48, Oca. 2014, doi: 10.1002/bbb.1431.

[39]P. R. Nimbalkar, M. A. Khedkar, P. V. Chavan, ve S. B. Bankar, “Biobutanol production using pea pod waste as substrate: Impact of drying on saccharification and fermentation”, Renewable Energy, s. 10, 2018, doi: 10.1016/j.renene.2017.10.079.

[40]S.-H. Cho, J. Kim, J. Han, D. Lee, H. J. Kim, Y. T. Kim, X. Cheng, Y. Xu, J. Lee, ve E. E. Kwon, “Bioalcohol production from acidogenic products via a two-step process: A case study of butyric acid to butanol”, Applied Energy, c. 252, s. 113482, Eki. 2019, doi: 10.1016/j.apenergy.2019.113482.

[41]M. Kumar ve K. Gayen, “Developments in biobutanol production: New insights”, Applied Energy, c. 88, sy 6, ss. 1999-2012, Haz. 2011, doi: 10.1016/j.apenergy.2010.12.055.

[42]M. A. Khedkar, P. R. Nimbalkar, S. G. Gaikwad, P. V. Chavan, ve S. B. Bankar, “Sustainable biobutanol production from pineapple waste by using Clostridium acetobutylicum B 527: Drying kinetics study”, Bioresource Technology, s. 8, 2017, doi: 10.1016/j.biortech.2016.11.058.

[43]A. Demirbas, “Biofuels sources, biofuel policy, biofuel economy and global biofuel projections”, Energy Conversion and Management, c. 49, sy 8, ss. 2106-2116, Ağu. 2008, doi: 10.1016/j.enconman.2008.02.020.

[44]U. Kayaalp, “Two Stage ABE Fermentation With In Situ Pervaporation and High Cell Densıty”, Yüksek Lisans Tezi, Membran Mühendisliği Bölümü, Nova de Lisboa Üniversitesi, 2013.

[45]V. V. Zverlov, O. Berezina, G. A. Velikodvorskaya, ve W. H. Schwarz, “Bacterial acetone and butanol production by industrial fermentation in the Soviet Union: use of hydrolyzed agricultural waste for biorefinery”, Applied Microbiology and Biotechnology, c. 71, sy 5, ss. 587-597, Ağu. 2006, doi: 10.1007/s00253-006-0445-z.

[46]J. Chiao ve Z. Sun, “History of the Acetone-Butanol-Ethanol Fermentation Industry in China: Development of Continuous Production Technology”, Journal of Molecular Microbiology and Biotechnology, c. 13, sy 1-3, ss. 12-14, 2007, doi: 10.1159/000103592.

[47]A. Ranjan ve V. S. Moholkar, “Biobutanol: science, engineering, and economics: Review Essay”, International Journal of Energy Research, c. 36, sy 3, ss. 277-323, Mar. 2012, doi: 10.1002/er.1948.

[48]S. Y. Lee, J. H. Park, S. H. Jang, L. K. Nielsen, J. Kim, ve K. S. Jung, “Fermentative butanol production by clostridia”, Biotechnology and Bioengineering, c. 101, sy 2, ss. 209-228, Eki. 2008, doi: 10.1002/bit.22003.

[49]T. M. Potts, “The Production of Biobutanol from Biomass Via a Hybrid Biological/Chemical Process”, Doktora Tezi, Kimya Mühendisliği Bölümü, Arkansas Üniversitesi, 2015.

[50]H. Grupe ve G. Gottschalk, “Physiological Events in Clostridium acetobutylicum during the Shift from Acidogenesis to Solventogenesis in Continuous Culture and Presentation of a Model for Shift Induction”, Applied and Environmental Microbiology, c. 58, sy 12, ss. 3896-3902, 1992, doi: 10.1128/AEM.58.12.3896-3902.1992.

[51]M. J. Shaterzadeh ve S. A. Ataei, “The effects of temperature, initial pH, and glucose concentration on biohydrogen production from Clostridium acetobutylicum”, Energy Sources, Part A: Recovery, Utilization, and Environmental Effects, c. 39, sy 11, ss. 1118-1123, Haz. 2017, doi: 10.1080/15567036.2017.1297875.

[52]A. Ranjan, S. Singh, R. S. Malani, ve V. S. Moholkar, “Ultrasound-Assisted Bioalcohol Synthesis: Review and Analysis”, RSC Advances, c. 70, s. 58, 2016, doi: 10.1039/C6RA11580B.

[53]A. Bereketoglu, “Patatesten Bütanol Üretimi Üzerine Bir Çalışma”, Yüksek Lisans Tezi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Ankara Üniversitesi, 2013.

[54]R. Gheshlaghi, J. M. Scharer, M. Moo-Young, ve C. P. Chou, “Metabolic pathways of clostridia for producing butanol”, Biotechnology Advances, c. 27, sy 6, ss. 764-781, Kas. 2009, doi: 10.1016/j.biotechadv.2009.06.002.

[55]G. N. Bennett ve F. B. Rudolph, “The central metabolic pathway from acetyl-CoA to butyryl-CoA in Clostridium acetobutylicum”, FEMS Microbiology

Reviews, c. 17, sy 3, ss. 241-249, Eki. 1995, doi: 10.1111/j.1574-6976.1995.tb00208.x.

[56]J. Ballongue, J. Amine, H. Petitdemange, ve R. Gay, “Regulation of acetate kinase and butyrate kinase by acids in Clostridium acetobutylicum”, FEMS Microbiology Letters, c. 35, sy 2-3, ss. 295-301, Tem. 1986, doi: 10.1111/j.1574-6968.1986.tb01546.x.

[57]N. Hartmanis, “Butyrate Kinase from Clostridium acetobutylicum”, The Journal of Biological Chemistry, C. 262, sy 2, ss. 617-621, Ağu. 1986, doi: 10.1016/S0021-9258(19)75828-1.

[58]N. R. Palosaari ve P. Rogers, “Purification and properties of the inducible coenzyme A-linked butyraldehyde dehydrogenase from Clostridium acetobutylicum.”, Journal of Bacteriology, c. 170, sy 7, ss. 2971-2976, 1988, doi: 10.1128/JB.170.7.2971-2976.1988.

[59]T. Lütke-Eversloh ve H. Bahl, “Metabolic engineering of Clostridium acetobutylicum: recent advances to improve butanol production”, Current Opinion in Biotechnology, c. 22, sy 5, ss. 634-647, Eki. 2011, doi: 10.1016/j.copbio.2011.01.011.

[60]P. R. Nimbalkar, M. A. Khedkar, P. V. Chavan, ve S. B. Bankar, “Enhanced Biobutanol Production in Folic Acid-Induced Medium by Using Clostridium acetobutylicum NRRL B-527”, ACS Omega, c. 4, sy 7, ss. 12978-12982, Tem. 2019, doi: 10.1021/acsomega.9b00583.

[61]B. Pratto, V. Chandgude, R. de Sousa, A. J. G. Cruz, ve S. Bankar, “Biobutanol production from sugarcane straw: Defining optimal biomass loading for improved ABE fermentation”, Industrial Crops and Products, c. 148, s. 112265, Haz. 2020, doi: 10.1016/j.indcrop.2020.112265.

[62]L. J. Visioli, E. A. Alves, A. Trindade, R. C. Kuhn, M. Schwaab, ve M. A. Mazutti, “Evaluation of biobutanol production by Clostridium beijerinckii NRRL B-592 using sweet sorghum as carbon source”, Ciencia Rural, c. 45, sy 9, ss. 1707-1712, Tem. 2015, doi: 10.1590/0103-8478cr20140520.

[63]N. K. N. Al-Shorgani, M. S. Kalil, W. M. W. Yusoff, ve A. A. Hamid, “Biobutanol production by a new aerotolerant strain of Clostridium acetobutylicum YM1 under aerobic conditions”, Fuel, c. 158, ss. 855-863, Eki. 2015, doi: 10.1016/j.fuel.2015.05.073.

[64]N. K. N. Al-Shorgani, M. S. Kalil, W. M. W. Yusoff, ve A. A. Hamid, “Impact of pH and butyric acid on butanol production during batch fermentation using a new local isolate of Clostridium acetobutylicum YM1”, Saudi Journal of Biological Sciences, c. 25, sy 2, ss. 339-348, Şub. 2018, doi: 10.1016/j.sjbs.2017.03.020.

[65]N. K. Nasser Al-Shorgani, M. H. Mohd Isa, W. M. W. Yusoff, M. S. Kalil, ve A. A. Hamid, “Response Surface Methodology for Biobutanol Optimization Using Locally Isolated Clostridium acetobutylicum YM1”, International Journal of

Green Energy, c. 12, sy 12, ss. 1236-1243, Ara. 2015, doi: 10.1080/15435075.2014.895738.

[66]R. Jalil, M. S. Kalil, N. A. Rahman, A. Ibrahim, A. A. Hamid, ve M. F. Ahmad, "Effect of Initial Fermentation Medium on Bioacetone, Biobutanol, and Bioethanol (BioABE) Production from Fermentable Sugars of Acacia mangium using Clostridium acetobutylicum YM1", Bioresources, c. 15, sy 3, s. 16, 2020.

[67]S. Jamek, E. Fazlin, N. Masngut, A. Ideris, ve R. C. Man, "Effect of Substrate Concentration and Agitation Rate on Butanol Production from Palm Oil Mill Effluent (POME) using Clostridium Beijerinckii", Malaysian Technical Universities International Conference on Engineering & Technology, s. 8, 2011.

[68]R. J. Lamed, J. H. Lobos, ve T. M. Su, "Effects of Stirring and Hydrogen on Fermentation Products of Clostridium thermocellum", Applied and Environmental Microbiology, c. 54, sy 5, ss. 1216-1221, 1988, doi: 10.1128/AEM.54.5.1216-1221.1988.

[69]Y. Zhou, L. R. Han, H. W. He, B. Sang, D. L. Yu, J. T. Feng, ve X. Zhang, "Effects of Agitation, Aeration and Temperature on Production of a Novel Glycoprotein GP-1 by Streptomyces kanasenisi ZX01 and Scale-Up Based on Volumetric Oxygen Transfer Coefficient", Molecules, c. 23, sy 1, s. 125, Oca. 2018, doi: 10.3390/molecules23010125.

[70]M. Kumar ve K. Gayen, "Developments in biobutanol production: New insights", Applied Energy, c. 88, sy 6, ss. 1999-2012, Haz. 2011, doi: 10.1016/j.apenergy.2010.12.055.

[71]P. Dürre, "New insights and novel developments in clostridial acetone/butanol/isopropanol fermentation", Applied Microbiology and Biotechnology, c. 49, sy 6, ss. 639-648, Haz. 1998, doi: 10.1007/s002530051226.

[72]T. C. Ezeji, N. Qureshi, ve H. P. Blaschek, "Continuous butanol fermentation and feed starch retrogradation: butanol fermentation sustainability using Clostridium beijerinckii BA101", Journal of Biotechnology, c. 115, sy 2, ss. 179-187, Oca. 2005, doi: 10.1016/j.jbiotec.2004.08.010.

[73]C. Virunanon, C. Ouephanit, V. Burapatana, ve W. Chulalaksananukul, "Cassava pulp enzymatic hydrolysis process as a preliminary step in bio-alcohols production from waste starchy resources", Journal of Cleaner Production, c. 39, ss. 273-279, Oca. 2013, doi: 10.1016/j.jclepro.2012.07.055.

[74]S. Farmanbordar, K. Karimi, ve H. Amiri, "Municipal solid waste as a suitable substrate for butanol production as an advanced biofuel", Energy Conversion and Management, c. 157, ss. 396-408, Şub. 2018, doi: 10.1016/j.enconman.2017.12.020.

[75]N. Qureshi, B. Saha, S. Liu, ve R. Harry- O'kuru, "Production of acetone–butanol–ethanol (ABE) from concentrated yellow top presscake using

Clostridium beijerinckii P260", Journal of Chemical Technology and Biotechnology, c. 95, sy 3, ss. 614-620, Mar. 2020, doi: 10.1002/jctb.6242.

[76]W. Hui, Y. Zhou, Y. Dong, Z. J. Cao, F. Q. He, M. Z. Cai, ve D. J. Tao, "Efficient hydrolysis of hemicellulose to furfural by novel superacid SO4H-functionalized ionic liquids", Green Energy & Environment, c. 4, sy 1, ss. 49-55, Oca. 2019, doi: 10.1016/j.gee.2018.06.002.

[77]O. Sanchez, R. Sierra, ve C. J. Almeciga-Diaz, "Delignification Process of Agro-Industrial Wastes an Alternative to Obtain Fermentable Carbohydrates for Producing Fuel", Alternative Fuel, M. Manzanera, Ed. InTech, 2011. doi: 10.5772/22381.

[78]N. W. Dulie, B. Woldeyes, H. D. Demsash, ve A. S. Jabasingh, "An Insight into the Valorization of Hemicellulose Fraction of Biomass into Furfural: Catalytic Conversion and Product Separation", Waste and Biomass Valorization, Şub. 2020, doi: 10.1007/s12649-020-00946-1.

[79]E. Novaes, M. Kirst, V. Chiang, H. Winter-Sederoff, ve R. Sederoff, "Lignin and Biomass: A Negative Correlation for Wood Formation and Lignin Content in Trees", Plant Physiology, c. 154, sy 2, ss. 555-561, Eki. 2010, doi: 10.1104/pp.110.161281.

[80]J. Pérez, J. Muñoz-Dorado, T. de la Rubia, ve J. Martínez, "Biodegradation and biological treatments of cellulose, hemicellulose and lignin: an overview", International Microbiology, c. 5, sy 2, ss. 53-63, Haz. 2002, doi: 10.1007/s10123-002-0062-3.

[81]E. Achinivu, "Protic Ionic Liquids for Lignin Extraction—A Lignin Characterization Study", International Journal of Molecular Sciences, c. 19, sy 2, s. 428, Oca. 2018, doi: 10.3390/ijms19020428.

[82]H. M. N. Iqbal, G. Kyazze, ve T. Keshavarz, "Advances in the Valorization of Lignocellulosic Materials by Biotechnology: An Overview", BioResources, c. 8, sy 2, ss. 3157-3176, Nis. 2013, doi: 10.15376/biores.8.2.3157-3176.

[83]F. Sabathe, A. Belaich, ve P. Soucaille, "Characterization of the cellulolytic complex (cellulosome) of Clostridium acetobutylicum", FEMS Microbiology Letters, c. 217, sy 1, ss. 15-22, Kas. 2002, doi: 10.1111/j.1574-6968.2002.tb11450.x.

[84]S. M. Gaida, A. Liedtke, A. H. W. Jentges, B. Engels, ve S. Jennewein, "Metabolic engineering of Clostridium cellulolyticum for the production of n-butanol from crystalline cellulose", Microbial Cell Factories, c. 15, sy 1, s. 6, Ara. 2016, doi: 10.1186/s12934-015-0406-2.

[85]W. Judiawan, Y. Sudiyani, ve E. Nurnasari, "Conversion of hemicellulose from kenaf core fiber to xylose through dilute sulfuric acid hydrolysis", Indonesian Journal of Applied Chemistry., c. 21, sy 1, ss. 14-22, Haz. 2019, doi: 10.14203/jkti.v21i1.412.

[86]P. Mahmoodi, K. Karimi, ve M. J. Taherzadeh, "Efficient conversion of municipal solid waste to biofuel by simultaneous dilute-acid hydrolysis of

starch and pretreatment of lignocelluloses", Energy Conversion and Management, c. 166, ss. 569-578, Haz. 2018, doi: 10.1016/j.enconman.2018.04.067.

[87]Y. Jafari, K. Karimi, ve H. Amiri, "Efficient bioconversion of whole sweet sorghum plant to acetone, butanol, and ethanol improved by acetone delignification", Journal of Cleaner Production, c. 166, ss. 1428-1437, Kas. 2017, doi: 10.1016/j.jclepro.2017.08.132.

[88]P. Alvira, E. Tomás-Pejó, M. Ballesteros, ve M. J. Negro, "Pretreatment technologies for an efficient bioethanol production process based on enzymatic hydrolysis: A review", Bioresource Technology, c. 101, sy 13, ss. 4851-4861, Tem. 2010, doi: 10.1016/j.biortech.2009.11.093.

[89]L. Jiang. L. Zhu, X. Xu, M. Lin, Y. Li, X. Li, H. Cui ve H. Huang, "Bioproduction of hydrogen by simultaneous saccharification and fermentation of cassava starch with 2-deoxyglucose-resistant mutant strains of Clostridium tyrobutyricum", International Journal of Hydrogen Energy, c. 38, sy 15, ss. 6349-6356, May. 2013, doi: 10.1016/j.ijhydene.2013.02.109.

[90]C. Sasaki, Y. Kushiki, C. Asada, ve Y. Nakamura, "Acetone–butanol–ethanol production by separate hydrolysis and fermentation (SHF) and simultaneous saccharification and fermentation (SSF) methods using acorns and wood chips of Quercus acutissima as a carbon source", Industrial Crops and Products, c. 62, ss. 286-292, Ara. 2014, doi: 10.1016/j.indcrop.2014.08.049.

[91]N. K. N. Al-Shorgani, H. Shukor, P. Abdeshahian, M. S. Kalil, W. M. W. Yusoff, ve A. A. Hamid, "Enhanced butanol production by optimization of medium parameters using Clostridium acetobutylicum YM1", Saudi Journal of Biological Sciences, c. 25, sy 7, ss. 1308-1321, Kas. 2018, doi: 10.1016/j.sjbs.2016.02.017.

[92]M. N. Abdul Razak, M. F. Ibrahim, P. L. Yee, M. A. Hassan, ve S. Abd-Aziz, "Statistical Optimization of Biobutanol Production from Oil Palm Decanter Cake Hydrolysate by Clostridium acetobutylicum ATCC 824", BioResources, c. 8, sy 2, ss. 1758-1770, Şub. 2013, doi: 10.15376/biores.8.2.1758-1770.

[93]P. R. Nimbalkar, M. A. Khedkar, S. G. Gaikwad, P. V. Chavan ve S. B. Bankar, "New Insight into Sugarcane Industry Waste Utilization (Press Mud) for Cleaner Biobutanol Production by Using C. acetobutylicum NRRL B-527", Applied Biochemistry and Biotechnology, s. 18, 2017.

[94]N. K. Al-Shorgani, A. Abdul Hamid, W. M. Wan Yusoff, ve M. S. Kalil, "Pre-optimization of Medium for Biobutanol Production by a New Isolate of Solvent-producing Clostridium", BioResources, c. 8, sy 1, ss. 1420-1430, Oca. 2013, doi: 10.15376/biores.8.1.1420-1430.

[95]D. A. Mitchell, M. Berovic, ve N. Krieger, "Overview of solid state bioprocessing", içinde Biotechnology Annual Review, c. 8, Elsevier, 2002, ss. 183-225. doi: 10.1016/S1387-2656(02)08009-2.

[96]A. K. Mathew, B. Parameshwaran, R. K. Sukumaran, ve A. Pandey, “An evaluation of dilute acid and ammonia fiber explosion pretreatment for cellulosic ethanol production”, Bioresource Technology, c. 199, ss. 13-20, Oca. 2016, doi: 10.1016/j.biortech.2015.08.121.

[97]C. Chancharoonpong, P.-C. Hsieh, ve S.-C. Sheu, “Enzyme Production and Growth of Aspergillus oryzae S. on Soybean Koji Fermentation”, APCBEE Procedia, c. 2, ss. 57-61, 2012, doi: 10.1016/j.apcbee.2012.06.011.

[98]M. A. Manan, “Design Aspects Of Solid State Fermentation”, Yüksek Lisans Tezi, Proses Mühendisliği Bölümü Bölümü, Manchester Üniversitesi, 2014.

[99]B. J. Naveena, Md. Altaf, K. Bhadriah, ve G. Reddy, “Selection of medium components by Plackett–Burman design for production of l(+) lactic acid by Lactobacillus amylophilus GV6 in SSF using wheat bran”, Bioresource Technology, c. 96, sy 4, ss. 485-490, Mar. 2005, doi: 10.1016/j.biortech.2004.05.020.

[100]L. P. S. Vandenberghe, C. R. Soccol, A. Pandey, ve J.-M. Lebeault, “Solid-state fermentation for the synthesis of citric acid by Aspergillus niger”, Bioresource Technology, c. 74, sy 2, ss. 175-178, Eyl. 2000, doi: 10.1016/S0960-8524(99)00107-8.

[101]C. T. Tran ve D. A. Mitchell, “Pineapple waste - a novel substrate for citric acid production by solid-state fermentation”, Biotechnology Letters, c. 17, sy 10, ss. 1107-1110, Eki. 1995, doi: 10.1007/BF00143111.

[102]D. Chakradhar, S. Javeed, ve A. P. Sattur, “Studies on the production of nigerloxin using agro-industrial residues by solid-state fermentation”, Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology, c. 36, sy 9, ss. 1179-1187, Eyl. 2009, doi: 10.1007/s10295-009-0599-7.

[103]M. Y. El-Naggar, S. A. El-Assar, ve S. M. Abdul-Gawad, “Solid-State Fermentation for the Production of Meroparamycin by Streptomyces sp. strain MAR01”, Journal of Microbiology and Biotechnology, c. 19, sy 5, ss. 468-473, May. 2009, doi: 10.4014/jmb.0807.457.

[104]R. da Silva, E. S. Lago, C. W. Merheb, M. M. Macchione, Y. K. Park, ve E. Gomes, “Production of xylanase and CMCase on solid state fermentation in different residues by Thermoascus aurantiacus miehe”, Brazilian Journal of Microbiology, c. 36, sy 3, Eyl. 2005, doi: 10.1590/S1517-83822005000300006.

[105]T. Ano, G. Y. Jin, S. Mizumoto, R. Mohammad Shahedur, K. Okuno, ve M. Shoda, “Solid state fermentation of lipopeptide antibiotic iturin A by using a novel solid state fermentation reactor system”, Journal of Environmental Sciences, c. 21, ss. S162-S165, Oca. 2009, doi: 10.1016/S1001-0742(09)60064-4.

[106]H. Nagaoka, “Treatment of Germinated Wheat to Increase Levels of GABA and IP6 Catalyzed by Endogenous Enzymes”, Biotechnology Progress, c. 21, sy 2, ss. 405-410, Eyl. 2008, doi: 10.1021/bp0496777.

[107]H. R. Valera, J. Gomes, S. Lakshmi, R. Gururaja, S. Suryanarayan, ve D. Kumar, “Lovastatin production by solid state fermentation using Aspergillus flavipes”, Enzyme and Microbial Technology, c. 37, sy 5, ss. 521-526, Eki. 2005, doi: 10.1016/j.enzmictec.2005.03.009.

[108]M. Suto ve F. Tomita, “Induction and Catabolite Repression Mechanisms of Cellulase in Fungi”, Journal of Bioscience and Bioengineering, c. 92 s. 4, ss. 305-311, Tem. 2001, doi: 10.1016/S1389-1723(01)80231-0.

[109]C. N. Aguilar, C. Augur, E. Favela-Torres, ve G. Viniegra-Gonzalez, “Production of tannase by Aspergillus niger Aa-20 in submerged and solid-state fermentation: influence of glucose and tannic acid”, Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology, c. 26, sy 5, ss. 296-302, May. 2001, doi: 10.1038/sj.jim.7000132.

[110]J. A. Rodríguez-León, J. C. de Carvalho, A. Pandey, C. R. Soccol, ve D. E. Rodríguez-Fernández, “Kinetics of the Solid-State Fermentation Process”, içinde Current Developments in Biotechnology and Bioengineering, Elsevier, 2018, ss. 57-82. doi: 10.1016/B978-0-444-63990-5.00004-9.

[111]L. P. S. Vandenberghe, A. Pandey, J. C. Carvalho, L. A. J. Letti, A. L. Woiciechowski, S. G. Karp, V. T. Soccol, W. H. M. Burgos, R. O . Penha, L. W. Herrmann, A. O. Rodrigues, ve C. R. Soccol, “Solid-state fermentation technology and innovation for the production of agricultural and animal feed bioproducts”, Systems Microbiology and Biomanufacturing, Eki. 2020, doi: 10.1007/s43393-020-00015-7.

[112]M. Machida, O. Yamada, ve K. Gomi, “Genomics of Aspergillus oryzae: Learning from the History of Koji Mold and Exploration of Its Future”, DNA Research, c. 15, sy 4, ss. 173-183, May. 2008, doi: 10.1093/dnares/dsn020.

[113]A. B. Ozturk, N. K. N. Al-Shorgani, S. Cheng, T. Arasoglu, J. Gulen, H. Habaki, R. Egashira, M. S. Kalil, W. M. W. Yusoff, ve J. S. Cross, “Two-step fermentation of cooked rice with Aspergillus oryzae and Clostridium acetobutylicum YM1 for biobutanol production”, Biofuels, ss. 1-7, Eyl. 2020, doi: 10.1080/17597269.2020.1813000.

[114]M. K. Park, J.-A. Seo, ve Y.-S. Kim, “Comparative study on metabolic changes of Aspergillus oryzae isolated from fermented foods according to culture conditions”, International Journal of Food Microbiology, c. 307, s. 108270, Eki. 2019, doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2019.108270.

[115]J. G. Anderson ve J. E. Smith, “The Production of Conidiophores and Conidia by Newly Germinated Conidia of Aspergillus niger (Microcycle Conidiation)”, Journal of General Microbiology, c. 69, sy 2, ss. 185-197, Ara. 1971, doi: 10.1099/00221287-69-2-185.

[116]C.-S. Hwang ve P. E. Kolattukudy, “Isolation and characterization of genes expressed uniquely during appressorium formation by Colletotrichum gloeosporioides conidia induced by the host surface wax”, Molecular and General Genetics MGG, c. 247, sy 3, ss. 282-294, May. 1995, doi: 10.1007/BF00293196.

[117]M. R. van Leeuwen, P. Krijgsheld, R. Bleichrodt, H. Menke, H. Stam, J. Stark, H. A. B. Wösten, ve J. Dijksterhuis, “Germination of conidia of Aspergillus niger is accompanied by major changes in RNA profiles”, Studies in Mycology, c. 74, ss. 59-70, Mar. 2013, doi: 10.3114/sim0009.

[118]H.-S. Park, S.-C. Jun, K.-H. Han, S.-B. Hong, ve J.-H. Yu, “Diversity, Application, and Synthetic Biology of Industrially Important Aspergillus Fungi”, içinde Advances in Applied Microbiology, c. 100, Elsevier, 2017, ss. 161-202. doi: 10.1016/bs.aambs.2017.03.001.

[119]C. Chancharoonpong, P.-C. Hsieh, ve S.-C. Sheu, “Enzyme Production and Growth of Aspergillus oryzae S. on Soybean Koji Fermentation”, APCBEE Procedia, c. 2, ss. 57-61, 2012, doi: 10.1016/j.apcbee.2012.06.011.

[120]C. Z. Blumenthal, “Production of toxic metabolites in Aspergillus niger, Aspergillus oryzae, and Trichoderma reesei: justification of mycotoxin testing in food grade enzyme preparations derived from the three fungi”, Regulatory Toxicology and Pharmacology, c. 39, sy 2, ss. 214-228, Nis. 2004, doi: 10.1016/j.yrtph.2003.09.002.

[121]J. Sargantanis, M. N. Karim, V. G. Murphy, D. Ryoo, ve R. P. Tengerdy, “Effect of operating conditions on solid substrate fermentation”, Biotechnology and Bioengineerig, c. 42, sy 2, ss. 149-158, Haz. 1993, doi: 10.1002/bit.260420202.

[122]K. Aikat ve B. C. Bhattacharyya, “Optimization of some parameters of solid state fermentation of wheat bran for protease production by a local strain ofRhizopus oryzae”, Acta Biotechnologica, c. 20, sy 2, ss. 149-159, 2000, doi: 10.1002/abio.370200209.

[123]C. Krishna, “Solid-State Fermentation Systems—An Overview”, Critical Reviews in Biotechnology, c. 25, sy 1-2, ss. 1-30, Oca. 2005, doi: 10.1080/07388550590925383.

[124]L. Thomas, C. Larroche, ve A. Pandey, “Current developments in solid-state fermentation”, Biochemical Engineering Journal, c. 81, ss. 146-161, Ara. 2013, doi: 10.1016/j.bej.2013.10.013.

[125]G. M. Smith ve C. T. Calam, “Variations in inocula and their influence on the productivity of antibiotic fermentations”, Biotechnology Letters, c. 2, sy 6, Haz. 1980, doi: 10.1007/BF00239854.

[126]J. Sekiguchi ve G. M. Gaucher, “Conidiogenesis and secondary metabolism in Penicillium urticae.”, Applied and Environmental Microbiology, c. 33, sy 1, ss. 147-158, 1977, doi: 10.1128/AEM.33.1.147-158.1977.

[127]A. Pandey, C. R. Soccol, ve D. Mitchell, “New developments in solid state fermentation: I-bioprocesses and products”, Process Biochemistry, c. 35, sy 10, ss. 1153-1169, Tem. 2000, doi: 10.1016/S0032-9592(00)00152-7.

[128]S. Rodríguez Couto, “Exploitation of biological wastes for the production of value- added products under solid- state fermentation conditions”,

Biotechnology Journal, c. 3, sy 7, ss. 859-870, Tem. 2008, doi: 10.1002/biot.200800031.

[129]S. R. Couto ve M. Á. Sanromán, "Application of solid-state fermentation to food industry—A review", Journal of Food Engineering, c. 76, sy 3, ss. 291-302, Eki. 2006, doi: 10.1016/j.jfoodeng.2005.05.022.

[130]C. N. Aguilar, G. Gutierrez-, Pl. A. rado-Barra, R. Rodriguez-, J. L. Martinez-H, ve J. C. Contreras-, "Perspectives of Solid State Fermentation for Production of Food Enzymes", American Journal of Biochemistry and Biotechnology, c. 4, sy 4, ss. 354-366, Nis. 2008, doi: 10.3844/ajbbsp.2008.354.366.

[131]R. Rani ve S. Ghosh, "Production of phytase under solid-state fermentation using Rhizopus oryzae: Novel strain improvement approach and studies on purification and characterization", Bioresource Technology, c. 102, sy 22, ss. 10641-10649, Kas. 2011, doi: 10.1016/j.biortech.2011.08.075.

[132]S. Ramachandran, S. K. Singh, C. Larroche, C. R. Soccol, ve A. Pandey, "Oil cakes and their biotechnological applications – A review", Bioresource Technology, c. 98, sy 10, ss. 2000-2009, Tem. 2007, doi: 10.1016/j.biortech.2006.08.002.

[133]F. A. S. Dairo ve A. O. Fasuyi, "Evaluation Of Fermented Palm Kernel Meal And Fermented Copra Meal Proteins As Substıtute For Soybean Meal Protein In Laying Hens Diets", Journal of Central European Agriculture, c. 9, sy 1, s. 11, 2008.

[134]D. M. Peričin, S. Z. Mađarev-Popović, ve L. M. Radulović-Popović, "Optimization of conditions for acid protease partitioning and purification in aqueous two-phase systems using response surface methodology", Biotechnology Letters, c. 31, sy 1, ss. 43-47, Oca. 2009, doi: 10.1007/s10529-008-9830-2.

[135]H. Chen ve Q. He, "Value-added bioconversion of biomass by solid-state fermentation", Journal of Chemical Technology and Biotechnology, c. 87, sy 12, ss. 1619-1625, Ara. 2012, doi: 10.1002/jctb.3901.

[136]F. J. Weber, J. Oostra, J. Tramper, ve A. Rinzema, "Validation of a model for process development and scale-up of packed-bed solid-state bioreactors", Biotechnology and Bioengineering, c. 77, sy 4, ss. 381-393, Şub. 2002, doi: 10.1002/bit.10087.

[137]E. Villegas, S. Aubague, L. Alcantara, R. Auria, ve S. Revah, "Solid state fermentation: Acid protease production in controlled CO_2 and O_2 environments", Biotechnology Advances, c. 11, sy. 3, s. 387-397, Kas. 2002, doi:10.1016/0734-9750(93)90008-B.

[138]A. A. Assamoi, J. Destain, F. Delvigne, G. Lognay, ve P. Thonart, "Solid-state Fermentation of Xylanase from Penicillium canescens 10–10c in a Multi-layer-packed Bed Reactor", Biotechnology for Fuels and Chemicals, c. 145, sy 1-3, ss. 87-98, Mar. 2008, doi: 10.1007/s12010-007-8077-z.

[139]M. L. E. Gutarra, E. D. C. Cavalcanti, L. R. Castilho, D. M. G. Freire, ve G. L. Sant'Anna, "Lipase Production by Solid-State Fermentation: Cultivation Conditions and Operation of Tray and Packed-Bed Bioreactors", içinde Twenty-Sixth Symposium on Biotechnology for Fuels and Chemicals, B. H. Davison, B. R. Evans, M. Finkelstein, ve J. D. McMillan, Ed. Totowa, NJ: Humana Press, 2005, ss. 105-116. doi: 10.1007/978-1-59259-991-2_10.

[140]Y. S. P. Rahardjo, F. Jolink, S. Haemers, J. Tramper, ve A. Rinzema, "Significance of bed porosity, bran and specific surface area in solid-state cultivation of Aspergillus oryzae", Biomolecular Engineering, c. 22, sy 4, ss. 133-139, Eki. 2005, doi: 10.1016/j.bioeng.2005.05.002.

[141]Y. S. P. Rahardjo, J. Tramper, ve A. Rinzema, "Modeling conversion and transport phenomena in solid-state fermentation: A review and perspectives", Biotechnology Advances, c. 24, sy 2, ss. 161-179, Mar. 2006, doi: 10.1016/j.biotechadv.2005.09.002.

[142]S. Rollero, S. Roberts, F. F. Bauer, ve B. Divol, "Agitation impacts fermentation performance as well as carbon and nitrogen metabolism in Saccharomyces cerevisiae under winemaking conditions: Influence of agitation on yeast metabolism", Australian Journal of Grape and Wine Research, c. 24, sy 3, ss. 360-367, Tem. 2018, doi: 10.1111/ajgw.12338.

[143]A. Kunamneni, K. Permaul, ve S. Singh, "Amylase production in solid state fermentation by the thermophilic fungus Thermomyces lanuginosus", Journal of Bioscience and Bioengineering, c. 100, sy 2, ss. 168-171, Ağu. 2005, doi: 10.1263/jbb.100.168.

[144]G. Deepa, V. Singh, ve K. A. Naidu, "A comparative study on starch digestibility, glycemic index and resistant starch of pigmented ('Njavara' and 'Jyothi') and a non-pigmented ('IR 64') rice varieties", Journal of Food Science and Technology, c. 47, sy 6, ss. 644-649, Ara. 2010, doi: 10.1007/s13197-010-0106-1.

[145]G. L. Miller, "Use of Dinitrosalicylic Acid Reagent for Determination of Reducing Sugar", Analytical Chemistry, c. 31, sy 3, ss. 426-428, Mar. 1959, doi: 10.1021/ac60147a030.

[146]C. M. Schweinberger, J. O. Trierweiler, ve L. F. Trierweiler, "A Simple Equation For Total Reducing Sugars (Trs) Estımation On Sweet Potato and Ethanol Yield Potential", Brazilian Journal of Chemical Engineering, c. 36, sy 1, ss. 33-41, Mar. 2019, doi: 10.1590/0104-6632.20190361s20170404.

[147]N. K. N. Al-Shorgani, A. I. Al-Tabib, A. Kadier, M. F. Zanil, K. M. Lee, ve M. S. Kalil, "Continuous Butanol Fermentation of Dilute Acid-Pretreated De-oiled Rice Bran by Clostridium acetobutylicum YM1", Scientific Reports, c. 9, sy 1, s. 4622, Ara. 2019, doi: 10.1038/s41598-019-40840-y.

[148]H. Amiri, K. Karimi, ve H. Zilouei, "Organosolv pretreatment of rice straw for efficient acetone, butanol, and ethanol production", Bioresource Technology, c. 152, ss. 450-456, Oca. 2014, doi: 10.1016/j.biortech.2013.11.038.

[149]S. Linggang, L. Y. Phang, H. Wasoh, ve S. Abd-Aziz, “Acetone–Butanol–Ethanol Production by Clostridium acetobutylicum ATCC 824 Using Sago Pith Residues Hydrolysate”, Bioenergy Research, c. 6, sy 1, ss. 321-328, Mar. 2013, doi: 10.1007/s12155-012-9260-9.

[150]C.-R. He, C.-L. Huang, Y.-C. Lai, ve S.-Y. Li, “The utilization of sweet potato vines as carbon sources for fermenting bio-butanol”, Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers, c. 79, ss. 7-13, Eki. 2017, doi: 10.1016/j.jtice.2017.02.022.

[151]T. Ezeji, N. Qureshi, ve H. P. Blaschek, “Butanol production from agricultural residues: Impact of degradation products on Clostridium beijerinckii growth and butanol fermentation”, Biotechnology and Bioengineering, c. 97, sy 6, ss. 1460-1469, Ağu. 2007, doi: 10.1002/bit.21373.

[152]R. Sillers, M. A. Al-Hinai, ve E. T. Papoutsakis, “Aldehyde-alcohol dehydrogenase and/or thiolase overexpression coupled with CoA transferase downregulation lead to higher alcohol titers and selectivity in Clostridium acetobutylicum fermentations”, Biotechnology and Bioengineering, c. 102, sy 1, ss. 38-49, Oca. 2009, doi: 10.1002/bit.22058.

[153]P. Sukwong, I. Y. Sunwoo, T. H. Nguyen, G.-T. Jeong, ve S.-K. Kim, “R-phycoerythrin, R-phycocyanin and ABE production from Gelidium amansii by Clostridium acetobutylicum”, Process Biochemistry, c. 81, ss. 139-147, Haz. 2019, doi: 10.1016/j.procbio.2019.03.023.

[154]Y. Wu, Z. Wang, X. Ma, ve C. Xue, “High temperature simultaneous saccharification and fermentation of corn stover for efficient butanol production by a thermotolerant Clostridium acetobutylicum”, Process Biochemistry, c. 100, ss. 20-25, Oca. 2021, doi: 10.1016/j.procbio.2020.09.026.

[155]E. I. Khamaiseh, S. K. Mohd, D. Olujimi, E.-S. Ibrahim, ve W. M. W. Yusoff, “Date fruit as carbon source in RCM-Modified medium to produce biobutanol by Clostridium acetobutylicum NCIMB 13357.”, Journal of Applied Sciences, c. 12, sy 11, ss. 1160-1165, 2012.

[156]W.-H. Chen, “Evaluation of biobutanol production from non-pretreated rice straw hydrolysate under non-sterile environmental conditions”, Bioresource Technology, s. 7, 2013.

[157]M. Kumar, Y. Goyal, A. Sarkar, ve K. Gayen, “Comparative economic assessment of ABE fermentation based on cellulosic and non-cellulosic feedstocks”, Applied Energy, c. 93, ss. 193-204, May. 2012, doi: 10.1016/j.apenergy.2011.12.079.

[158]S. Niglio, A. Procentese, M. E. Russo, G. Sannia ve A. Marzocchella, “Investigation of Enzymatic Hydrolysis of Coffee Silverskin Aimed at the Production of Butanol and Succinic Acid by Fermentative Processes”, Bioenergy Research, s. 13, 2019.

[159]F. Moradi, H. Amiri, S. Soleimanian-Zad, M. R. Ehsani, ve K. Karimi, “Improvement of acetone, butanol and ethanol production from rice straw by acid and alkaline pretreatments”, Fuel, c. 112, ss. 8-13, Eki. 2013, doi: 10.1016/j.fuel.2013.05.011.

[160]J. Gustavsson, C. Cederberg, ve U. Sonesson, Global food losses and food waste: extent, causes and prevention ; study conducted for the International Congress Save Food! at Interpack 2011, [16 - 17 May], Düsseldorf, Germany. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2011.

[161]N. Mahmud ve K. A. Rosentrater, “Techno-Economic Analysis (TEA) of Different Pretreatment and Product Separation Technologies for Cellulosic Butanol Production from Oil Palm Frond”, Energies, c. 13, sy 1, s. 181, Oca. 2020, doi: 10.3390/en13010181.

[162]N. Qureshi, B. C. Saha, M. A. Cotta, ve V. Singh, “An economic evaluation of biological conversion of wheat straw to butanol: A biofuel”, Energy Conversion and Management, c. 65, ss. 456-462, Oca. 2013, doi: 10.1016/j.enconman.2012.09.015.

[163]K. F. Haigh, A. M. Petersen, L. Gottumukkala, M. Mandegari, K. Naleli, ve J. F. Görgens, “Simulation and comparison of processes for biobutanol production from lignocellulose via ABE fermentation: A range of scenarios for biobutanol production from lignocellulose and molasses are compared on the basis of energy efficiency and economic potential”, Biofuels, Bioproducts & Biorefining, c. 12, sy 6, ss. 1023-1036, Kas. 2018, doi: 10.1002/bbb.1917.

[164]H. Wang, C. W. Tsang, M. H. To, G. Kaur, S. L. K. W. Roelants, C. V. Stevens, W. Soetaert, ve C. S. K. Lin, “Techno-economic evaluation of a biorefinery applying food waste for sophorolipid production – A case study for Hong Kong”, Bioresource Technology, c. 303, s. 122852, May. 2020, doi: 10.1016/j.biortech.2020.122852.

[165]A. Roussos, N. Misailidis, A. Koulouris, F. Zimbardi, ve D. Petrides, “A Feasibility Study of Cellulosic Isobutanol Production—Process Simulation and Economic Analysis”, Processes, c. 7, sy 10, s. 667, Eyl. 2019, doi: 10.3390/pr7100667.

[166]K. Tao, W. Yu, S. Prakash, ve R. G. Gilbert, “High-amylose rice: Starch molecular structural features controlling cooked rice texture and preference”, Carbohydrate Polymers, c. 219, ss. 251-260, Eyl. 2019, doi: 10.1016/j.carbpol.2019.05.031.

[167]T. H. Lee, Y. Lin, X. Meng, Y. Li, ve K. Nithyanandan, “Combustion Characteristics of Acetone, Butanol, and Ethanol (ABE) Blended with Diesel in a Compression-Ignition Engine”, SAE International, Nis. 2016, ss. 2016-01-0884. doi: 10.4271/2016-01-0884.

[168]E. Carmona-Garcia, M. Ortiz-Sánchez, ve C. A. Cardona Alzate, “Analysis of the Coffee Cut Stems as Raw Material for the Production of Sugars for Acetone–Butanol–Ethanol (ABE) Fermentation: Techno-Economic Analysis”,

Waste and Biomass Valorization, c. 10, sy 12, ss. 3793-3808, Ara. 2019, doi: 10.1007/s12649-019-00632-x.

[169]E. R. S. Dantas, J.-C. Bonhivers, R. Maciel Filho, ve A. P. Mariano, "Biochemical conversion of sugarcane bagasse into the alcohol fuel mixture of isopropanol-butanol-ethanol (IBE): Is it economically competitive with cellulosic ethanol?", Bioresource Technology, c. 314, s. 123712, Eki. 2020, doi: 10.1016/j.biortech.2020.123712.

[170]A. Koulouris, N. Misailidis, ve D. Petrides, "Applications of process and digital twin models for production simulation and scheduling in the manufacturing of food ingredients and products", Food and Bioproducts Processing, c. 126, ss. 317-333, Mar. 2021, doi: 10.1016/j.fbp.2021.01.016.

[171]D. Cormier, S. Demaria, ve M. Magnan, "Beyond earnings: do EBITDA reporting and governance matter for market participants?", Managerial Finance, c. 43, sy 2, ss. 193-211, Şub. 2017, doi: 10.1108/MF-07-2016-0205.

[172]A. K. Sahu, H. K. Narang, A. K. Sahu, ve N. K. Sahu, "Machine economic life estimation based on depreciation-replacement model", Cogent Engineering, c. 3, sy 1, Eki. 2016, doi: 10.1080/23311916.2016.1249225.

[173]S. Dutta ve S. J. Reichelstein, "Controlling Investment Decisions: Depreciation- and Capital Charges", SSRN Journal, 2002, doi: 10.2139/ssrn.354701.

[174]S. Goel ve R. Sharma, "Optimal sizing of a biomass–biogas hybrid system for sustainable power supply to a commercial agricultural farm in northern Odisha, India", Environment, Development and Sustainability, c. 21, sy 5, ss. 2297-2319, Eki. 2019, doi: 10.1007/s10668-018-0135-x.

[175]S. Sadeghi, S. Ghandehariun, ve M. A. Rosen, "Comparative economic and life cycle assessment of solar-based hydrogen production for oil and gas industries", Energy, c. 208, s. 118347, Eki. 2020, doi: 10.1016/j.energy.2020.118347.

[176]Y. Kawabata, E. Kato, H. Yokota, ve M. Iwanami, "Net present value as an effective indicator leading to preventive maintenance of port mooring facilities", Structure and Infrastructure Engineering, c. 16, sy 4, ss. 714-725, Nis. 2020, doi: 10.1080/15732479.2019.1676792.

[177]J. C. Hartman ve I. C. Schafrick, "The Relevant Internal Rate of Return", The Engineering Economist, c. 49, sy 2, ss. 139-158, Oca. 2004, doi: 10.1080/00137910490453419.

[178]A. de S. Range, J. C. de S. Santos, ve J. R. F. Savoia, "Modified Profitability Index and Internal Rate of Return", Journal of International Business and Economics, c. 4, sy 2, 2016, doi: 10.15640/jibe.v4n2a2.

[179]D. A. Mellichamp, "Internal rate of return: Good and bad features, and a new way of interpreting the historic measure", Computers & Chemical Engineering, c. 106, ss. 396-406, Kas. 2017, doi: 10.1016/j.compchemeng.2017.06.005.

[180]T. M. I. Mahlia, H. A. Razak, ve M. A. Nursahida, “Life cycle cost analysis and payback period of lighting retrofit at the University of Malaya”, Renewable and Sustainable Energy Reviews, c. 15, sy 2, ss. 1125-1132, Şub. 2011, doi: 10.1016/j.rser.2010.10.014.

[181]W. M. Lin, K. C. Chang, ve K. M. Chung, “Payback period for residential solar water heaters in Taiwan”, Renewable and Sustainable Energy Reviews, c. 41, ss. 901-906, Oca. 2015, doi: 10.1016/j.rser.2014.09.005.

[182]M.-O. Jang ve G. Choi, “Techno-economic analysis of butanol production from lignocellulosic biomass by concentrated acid pretreatment and hydrolysis plus continuous fermentation”, Biochemical Engineering Journal, c. 134, ss. 30-43, Haz. 2018, doi: 10.1016/j.bej.2018.03.002.

[183]L. Tao, X. He, E. C. D. Tan, M. Zhang, ve A. Aden, “Comparative techno-economic analysis and reviews of n-butanol production from corn grain and corn stover”, Biofuels, Bioproducts & Biorefining, c. 8, sy 3, ss. 342-361, May. 2014, doi: 10.1002/bbb.1462.

[184]N. R. Baral ve A. Shah, “Techno-Economic Analysis of Cellulosic Butanol Production from Corn Stover through Acetone–Butanol–Ethanol Fermentation”, Energy Fuels, c. 30, sy 7, ss. 5779-5790, Tem. 2016, doi: 10.1021/acs.energyfuels.6b00819.

[185]H. K. Abdi, K. F. Alanazi, A. S. Rohani, P. Mehrani, ve J. Thibault, “Economic comparison of a continuous ABE fermentation with and without the integration of an in situ vacuum separation unit”, Canadian Journal of Chemical Engineering, c. 94, sy 5, ss. 833-843, May. 2016, doi: 10.1002/cjce.22461.

TEZDEN ÜRETİLMİŞ YAYINLAR

Konferans Bildirileri

1. A. B. Öztürk, T. Arasoğlu, F. J. Gülen, ve J. S. Cross, (2019). "Production of Biobutanol from Cooked Rice by Two Step Fermentation," JAPAN CHINA KOREA Joint Symposium on Energy and Environment, Nagano, Japonya.

2. A. B. Öztürk, F. J. Gülen, ve T. Arasoğlu, (2021). "Nişasta İçerikli Ham Maddelerden İki Adımlı Fermantasyon Yoluyla Biyobütanol Üretimi için Endüstriyel Boyutta Tesis Tasarımı ve Ekonomik Analizi", 14. Ulusal Kimya Kongresi, Konya, Türkiye.

Makaleler

1. A. B. Ozturk, N. K. N. Al-Shorgani, S. Cheng, T. Arasoglu, J. Gulen, H. Habaki, R. Egashira, M. S. Kalil, W. M. W. Yusoff, ve J. S. Cross, "Two-step fermentation of cooked rice with *Aspergillus oryzae* and *Clostridium acetobutylicum* YM1 for biobutanol production", Biofuels, ss. 1-7, Eyl. 2020, doi: 10.1080/17597269.2020.1813000.

2. A. B. Ozturk, T. Arasoglu, J. Gulen, S. Cheng, N. K. N. Al-Shorgani, H. Habaki, R. Egashira, M. S. Kalil, W. M. W. Yusoff, ve J. S. Cross, "Techno-economic analysis of a two-step fermentation process for bio-butanol production from cooked rice", Sustainable Energy & Fuels, ss. 1-14, Haz. 2021, doi: 10.1039/D1SE00496D.

Projeler

1. A. B, Öztürk (Araştırmacı), T. Arasoğlu, ve F. J. Gülen (Yürütücü), "İki Adımlı Fermantasyon ile Atık Pirinçten Sürdürülebilir Biyoyakıt Üretimi" (2020-2022), YTU BAPK - FBA-2020-3968.