



Düzce Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Dergisi

Araştırma Makalesi

Buhar Patlatma Uygulanmış Ayçiçeği Saplarından Enzimatik Hidroliz Yöntemiyle Fermente Şeker Üretimi

Yalcın Çöpür^{a,*}, Selva Kütük^b

^a Orman Endüstri Mühendisliği Bölümü, Orman Fakültesi, Düzce Üniversitesi, Düzce, TÜRKİYE

^b Standard Profil A.Ş, Konuralp Düzce, TÜRKİYE

* yalcincopur@duzce.edu.tr

ÖZET

Yenilenebilir enerji, sürekli devam eden doğal süreçlerdeki var olan enerji akışından elde edilen enerji olarak tanımlanmaktadır. Bu kapsamda dünyadaki enerji açığını azaltmak ve çevre kirliliğini en aza indirmek amacıyla yenilenebilir enerji kaynaklarına yönelim artış göstermiştir. Biyoetanol üretimi ile kömür, petrol ve doğalgaz gibi fosil yakıtlara bağımlılıkta azalma olacağı düşünülmektedir. Bu çalışma kapsamında yağ ve çekirdeği çeşitli alanlara kullanılan ayçiçeği bitki saplarında bulunan glukoz içeriğinin biyoetanol üretimi amacıyla glikoz dönüşümleri incelenmiştir. Ham numune, buhar patlatma işleminin ardından NaBH₄, NaOH ve bu kimyasalların üç farklı konsantrasyonlarda karışımları ile ön muamele edilerek enzimatik hidroliz işlemine tabi tutulmuştur. Çalışma sonucunda elde edilen veriler NaBH₄ ile ön muamele işlemine tabi tutulan örneklerde enzimatik hidroliz işlemi sonucunda glikoz ve ksiloz dönüşümlerinin %71,7 ve %59,7 (48 saat) olduğu belirlenmiştir. Diğer taraftan kimyasal ön muameleye tabi tutulmaksızın buhar patlatma işleminin lignini uzaklaştırmada (%21,2) en etkili yöntem olduğu görülmüştür.

Anahtar Kelimeler: Ayçiçeği, Buhar patlatma, Ön muamele, Enzimatik hidroliz, Glikoz, Ksiloz

Enzymatic Hydrolysis of Steam Exploded Sunflower Stalks to Produce Fermentable Sugars

ABSTRACT

Renewable energy is defined as energy derived from natural biomaterials. In this context, to reduce the energy deficit and to minimize the environmental pollution, the use of renewable energy sources must increase. It is expected to diminish the dependence on fossil fuels such as coal, petroleum products and gas by substituting them by biomaterials. In this study, seed oil stalks were steam exploded and then pretreated with NaBH₄, NaOH and the mixtures of three different concentrations of these chemicals. The material then hydrolyzed with enzymes to convert polymers sugars to monomers. Results showed that SE+%2 NaBH₄ pretreatment was the most effective method gave the higher glucose and xylose conversion (71,7% and 59,7%; 48 hours). On the other hand, steam explosion alone was the most effective method for removing the highest amount (21,2%) of lignin.

Keywords: Sunflower, Steam explosion, Pretreatment, Enzymatic hydrolysis, Glucose, Xylose

I. GİRİŞ

ENERJİ tüketimi hızlı sanayileşme, nüfus artışı ve kentleşme gibi faktörler nedeniyle her geçen gün artmakta ve buna bağlı olarak yeterli enerjiyi kendileri üretemeyen ülkelerin dışa bağımlı hale gelmektedirler. Yakın gelecekte ise küresel enerji talebinin karşılanması konusunda ciddi problemler yaşanacağı bir çok bilim adamı tarafından dile getirilmektedir [1]. Dünyada enerji tüketimi 1900’lü yılların başında 2×10^{18} J iken 1998 yılında 17 kat artarak $3,4 \times 10^{20}$ J değerine ulaşmıştır. Sonuç olarak dünyanın enerji tüketimi son yirmi yıl içerisinde beklenenden %57 daha fazla artmıştır. Tüm enerji kaynaklarında artış beklendiği gibi yenilenebilir enerji kaynakları payında da sınırlı olmakla birlikte artış olacağı söylenebilir [2].

Yenilenebilir enerji, sürekli devam eden doğal süreçlerde var olan enerji akışından elde edilen ürün olarak tanımlanmaktadır. Bu kapsamda dünyadaki enerji açığını azaltmak ve çevre kirliliğini en aza indirmek amacıyla yenilenebilir enerji kaynaklarına yönelim artış göstermiştir. Yenilenebilir enerji kaynaklarından enerji eldesi ile kömür, petrol ve doğalgaz gibi fosil yakıtlara bağımlılığa azalma olacağı düşünülmektedir.

Bu araştırmanın ilgisi dahilinde bulunan biyokütle, alternatif enerji kaynakları içerisinde önemli ölçüde büyük bir potansiyele sahiptir. Rüzgar ve güneş enerjisi gibi kesikli bir enerji kaynağı olmayıp, güneş ışığı var olduğu sürece fotosentez yolu ile sürekliliğini koruyan, kolay depolanabilir, çevre ile dost, her ölçekte enerji verimi için uygun bir kaynaktır. Biyokütle kullanılarak farklı ihtiyaç alanlarına yönelik katı, sıvı ve gaz formlarında değişik enerji ürünleri elde edilebilmektedir. Bu bağlamda yenilenebilir enerji kaynaklarına olan ilginin artması ile birlikte dünya genelinde en büyük karbon potansiyeline sahip fakat atıl durumda bulunan biyokütle enerji kaynakları, önemli ölçüde ar-ge çalışmalarının odak noktası haline gelmiştir.

Biyometanolün yakıt olarak motorlarda kullanımı otomobilin icadına kadar uzanmaktadır. ABD başta olmak üzere biyometanol katkılı yakıt kullanımı 1970’lerin başından itibaren yaygınlaşmıştır. Günümüzde ise Brezilya’da yılda 20 milyon ton, ABD’de 32 milyon ton, Avrupa Birliği ülkelerinde 3,7 milyon ton biyometanol üretimi gerçekleştirilmektedir. Çin’de dünyanın en büyük üretim tesisi 600,000 ton/yıl kapasite ile devreye girmiştir. Hindistan bazı eyaletlerinde biyometanol kullanımını zorunlu hale getirmiştir.

Türkiye’nin yerli kaynaklardan üretilebilecek biyometanol potansiyeli ise 3,5 milyon ton/yıl olarak belirlenmiştir. Ayrıca tarıma elverişli olup kullanılmayan arazilerden üretilebilecek 3,5 milyon ton biyometanol kaynağı bulunmaktadır [3]. Günümüzdeki üretim potansiyeli göz önüne alındığında üretilen biyometanolün benzine alternatif olması şu an için mümkün görülmemektedir.

Lignoselülozik maddeler bol ve ucuz hammadde kaynağı oluşturmalarına rağmen etanol üretimi için uygulanan işlemler oldukça maliyetlidir. Literatür çalışmaları incelendiğinde biyometanol üretimi için çok miktarda araştırma yapılan lignoselülozik hammaddelerden bazıları; ekin sapı, mısır koçanı, mısır sapı, su sümbülü, pirinç sapı ve ayçiçeği sapıdır.

Bu materyaller lignoselülozik maddeler olarak tanımlanmakta ve yapıları incelendiğinde selüloz, hemiselüloz, lignin, üronik asitler ve asetil grupları içerdikleri görülmektedir. Selüloz ve hemiselüloz kısımları glikoz, mannoz, galaktoz, ksiloz ve arabinozdan oluşan monosakkaritleri içermektedirler. Lignoselülozik maddelerden etanol üretimi kristal polimerinin çeşitli ön muameleler ile monosakkaritlere dönüştürülmesi ve sonrasında maya yardımıyla fermantasyon işlemi şeklinde gerçekleşir. Selüloz, lignoselülozik biyokütlenin ana bileşenidir ve %40-50’sini oluşturmaktadır [4].

Hemiselülozlar 5 karbonlu pentoz, 6 karbonlu heksoz ve üronik asitlerden oluşan heterojen polimerlerdir. Lignoselülozik odunsu biyokütlenin yaklaşık %30'unu oluştururlar ve selülozdan sonra ikinci en önemli odun polisakarit kısmıdır [5]. Yıllık bitkilerde bu oran %40'a kadar çıkabilir. Lignin, polisakaritlerden sonra hücre çeperinde yüksek oranda bulunan fenolik bir bileşiktir, otsu bitkilerde %10-40 arasında değere sahiptir [6].

Genel olarak biyoetanol üretimi dört aşamadan oluşmaktadır. Bu aşamalar; ön muamele, hidroliz, fermantasyon ve distilasyondur. Üretimde kullanılan hammaddeye ve bu hammaddenin kimyasal yapısına bağlı olarak ön muamele işlemleri farklılık göstermektedir.

Bu çalışma kapsamında ayçiçeği bitki saplarında bulunan glukoz içeriğinin biyoetanol üretimi amacıyla glikoz dönüşümleri incelenmiştir.

II. MATERYAL ve METOD

A. HAMMADDE

Çalışmada kullanılan ayçiçeği sapları Düzce yöresinden temin edilmiştir. Ayçiçeği sapları Düzce Üniversitesi Orman Fakültesi örnek hazırlama laboratuvarında bahçe makası yardımıyla yaklaşık olarak 3 cm uzunluğunda parçalara ayrılmıştır ve numuneler hava kurusu haline getirilmiştir. Numunelerin rutubet miktarları belirlenmiş (TAPPI T 264) ve kilitli plastik poşetlerde daha sonraki uygulamalar için -5°C'de muhafaza edilmiştir.

B. ÖN MUAMELE

Buhar patlatma (BP) işlemi için 500 gr numune (tam kuru) buhar patlatma haznesine yerleştirilerek patlatma işlemi yüksek basınçlı reaktörde gerçekleştirilmiştir. Buhar patlatma 198 – 200°C sıcaklık ve 15 bar basınç altında 5 dakika sürede gerçekleştirilmiştir (Tablo 1). İşlem sonunda vana açılarak basınç aniden düşürülüp materyalin alt kısımdaki haznede liflerin bireysel hale gelmesi sağlanmıştır.

Muamele sonunda alt haznenin tahliye vanası açılarak elde edilen sıvı kısım plastik şişelerde muhafaza edilmek üzere toplandıktan sonra patlatma işlemi gören katı kısım kilitli poşetlerde rutubeti dengeye gelene kadar (ortalama 24 saat) muhafaza edilmiştir. Daha sonra katı materyalde rutubet tayini yapılmıştır. Bu işlemin sonucunda verim hesabı yapılmış ve buhar patlatma sonucunda yapıdan ne kadar maddenin çözündüğü ve uzaklaştığı hesaplanmıştır. Elde edilen katı numuneler sonraki kimyasal ön muamele işlemi için -20°C de saklanmıştır.

Buhar patlatma işlemi sonrasında hava kurusu hale getirilen katı numunelerden 10 gr (fırn kurusu) alınmıştır. Kimyasal ön muamele işlemi Tablo 2'de gösterildiği gibi 5 ayrı solüsyon kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Hazırlanan çözeltilerin katı madde/solüsyon oranı %10 (w/v) olacak şekilde düzenlenmiştir. Ön muamele işlemleri 121°C sıcaklık ve 15 psi (1,034 bar) basınç altında 30 dakika süreyle otoklav içerisinde gerçekleştirilmiştir. Süre sonunda numuneler vakum altında süzülerek katı kısım sıvı kısımdan ayrılmıştır. Enzimatik hidroliz aşamasına kadar, katı kısım kilitli plastik poşetlerde sıvı kısım ise plastik şişelerde +4°C'de muhafaza edilmiştir.

Tablo 1. Buhar Patlatma Parametreleri

Hammadde	Maksimum sıcaklığa çıkış (dk.)	Bekleme süresi (dk.)	Basınç (bar)	Sıcaklık (°C)
Ayçiçeği sapı	1,33	5	15	200

Katı materyaller hava kurusu haline geldikten sonra rutubetleri belirlenerek (Tappi T 264) kimyasal ön muamele sonrası verimleri hesaplanmıştır. Bu işlemin ardından katı materyaller öğütülüp elenerek, elek üzerinde kalan 40 ve 60 mesh'lik kısımlar kilitli poşetlerde muhafaza edilmiştir. Rutubet miktarı belirlenen numuneler enzimatik hidroliz işlemleri için muhafaza edilmiştir.

Tablo 2. Kimyasal ön muamelede kullanılan kimyasallar

Kimyasal	Konsantrasyon (%w/v)
NaBH ₄ (A)	2
NaOH (B)	2
NaBH ₄ + NaOH (C)	0,5+0,5
NaBH ₄ + NaOH (D)	1+1
NaBH ₄ + NaOH (E)	2+2

C. ENZİMATİK HİDROLİZ

Ham numuneye (HN) uygulanan buhar patlatma ve kimyasal ön muamele işlemlerinin ardından elde edilen hava kurusu örnekler öğütülerek 40 mesh'lik kısımdan tam kuru 1 g. olacak şekilde tartılmıştır. Tartılan bu materyallere Celluclast 1,5 (700 U/g) ve Novozym 188 (250 U/g) enzim karışımları (50 % v/v) % 2 katı madde oranı ile 50 ml 50mM sodyum asetat tamponuna % 0,02 (w/v) (0,0001 M) sodyum azid (mikrobiyal kontaminasyonu önlemek amacıyla) ilave edilerek pH 5,0 de muamele edilmiştir. Enzimatik hidroliz, çalkantılı inkübatörde 42°C'de ve 100 rpm' de 72 saat süreyle gerçekleştirilmiştir. Uygulamanın 0, 6, 24, 48 ve 72. saatlerinde 1 ml örnek alınarak Eppendorf tüplere konulmuştur. Alınan örneklerdeki enzimlerin etkinliğini sonlandırmak amacıyla örnekler kaynayan su banyosunda 10 dakika süreyle bekletilmiştir. Bunun ardından santrifüj cihazında 10 000 rpm' de numune işleme tabi tutulup örnek içinde katı madde var ise dibe çökmesi sağlanmıştır. Örnekler gerekli analizler uygulanıncaya kadar derin dondurucuda -5°C'de bekletilmiştir.

D. ANALİTİK METODLAR

Ayçiçeği saplarına uygulanan kimyasal analizler ve metotlar Tablo 3'te gösterilmiştir. Ham numune ve hidroliz sonrası elde edilen katı ve sıvı kısımlardaki şeker analizleri NREL yöntemine (Laboratory Analytical Procedures (LAP) from the National Renewable Energy Laboratory) göre belirlenmiştir [7]. HPLC analizleri Agilent 1200 sistemi ve bu sisteme bağlı RID (refractive index detector) ile gerçekleştirilmiştir. Enjeksiyon hacmi 20 µL olarak uygulanmıştır. Mobil faz olarak 5mM H₂SO₄ kullanılmış ve akış hızı dakikada 0,5 ml olacak şekilde ayarlanmıştır. Şekerlerin (sellobiyoz, glikoz, ksiloz ve arabinoz) kromatografik tayinleri amacıyla Shodex SH1011 No:H810110 kolonu kullanılmış ve kolon sıcaklığı 60°C olarak belirlenmiştir. Asitte çözünmeyen lignin içerikleri tartımla, asitte çözünen lignin içeriği ise 320 nm dalga boyunda saf su şahit olacak şekilde UV spektrofotometrede

belirlenmiştir. İndirgen şekerler 540 nm dalga boyunda DNS (3,5 - Dinitro salisilik asit 2-hidroksi - 3,5 dinitro benzoik asit) metoduyla belirlenmiştir. Farklı sürelerde uygulanan enzimatik hidrolizden sonra indirgen şeker içeriği tam kuru maddeye oranla yüzde olarak hesaplanmıştır. Ayrıca ham ve buhar patlatma uygulanmış numunelerde gerçekleştirilen diğer tüm analizler için, Wiley tipi değirmende öğütülen ayçiçeği sapları laboratuvar tipi sarsak elekte elenerek 60-80 mesh'lik elek üzerinde kalan kısımların rutubet miktarları belirlenerek kilitli plastik poşetlerde saklanmıştır.

Tablo 3. Uygulanan kimyasal analizler ve kullanılan yöntemler

Kimyasal analiz adı	Kullanılan yöntem
Soğuk Su Çözünürlüğü	TAPPI T 207 om-88
Sıcak Su Çözünürlüğü	TAPPI T 207 om 88
%1'lik NaOH Çözünürlüğü	TAPPI T 212 om 88
Alkol-Benzen Çözünürlüğü	TAPPI T 204 om 88
Holoseüloz Tayini	Wise'nin klorit metodu [8]
α - selüloz	TAPPI T 429 om 84
Lignin	TAPPI T 222 om 98
Kül	TAPPI T 211 om 85

III. BULGULAR ve TARTIŞMA

Ayçiçeği saplarının kimyasal içerikleri Tablo 4'te gösterilmiştir. Ayçiçeği saplarının alkol benzen çözünürlüğü, yapraklı ve iğne yapraklı ağaçların üst limitine yakın değerde fakat ekin sapı ile kıyaslandığında oldukça düşük orandadır. Ayçiçeği saplarının yapraklı ve iğne yapraklı ağaçlara nazaran daha yüksek oranda sıcak ve soğuk su çözünürlüğü gözlemlenmiştir [9]. Ayçiçeği saplarının selüloz (glikoz) oranı ekin sapına oranla fazla fark göstermemekle birlikte ekin sapının hemiselüloz (ksiloz+arabinoz) oranı ayçiçeği sapına göre daha yüksek oranda gözlemlenmiştir [10]. Buna karşın yapraklı ağaçların selüloz ve hemiselüloz oranı ayçiçeği sapına göre daha yüksek iken, iğne yapraklı ağaçların hemiselüloz oranı ayçiçeği sapına göre daha düşük oranda gözlemlenmiştir [11]. HPLC analizi sonucunda ayçiçeği saplarının toplam şeker miktarı %45,5 (glikoz+ksiloz+arabinoz) olarak bulunmuştur. Fakat ekin sapının hemiselüloz içeriği de göz önünde bulundurulduğunda toplam şeker miktarı ayçiçeği sapına göre daha fazladır. Odunsu materyaller yıllık bitkilere oranla daha fazla lignin içeriğine sahipken diğer taraftan kül oranları düşüktür.

Bu çalışmada %2'lik NaOH ve NaBH₄ çözeltilerinin ayrı ayrı, NaOH ve NaBH₄ karışımlarının farklı konsantrasyonlardaki çözeltilerinin kimyasal ön muamele sonrası yapısal içeriği incelenmiştir (Tablo 5). NaBH₄'ün bir katalizör etkisi göstererek seçici lignin delignifikasyonu sağlayan [12] aynı zamanda hemiselüloz degradasyonunu önleyen etkisi gözlemlenmiştir. Bu uygulamada elde edilen sonuçlara göre lignini uzaklaştırmada en etkin kimyasalın %2'lik NaOH çözeltisi olduğu, buna karşın %2'lik NaBH₄ çözeltisinin hemiselüloz yapısı üzerindeki koruyucu etkisi literatüre paralel bir bulgu olacak şekilde gözlemlenmiştir.

Tablo 4. Ayçiçeği saplarının kimyasal bileşiminin literatürle kıyaslanması

Kimyasal içerik (%)	Ayçiçeği sapı (%)*	Ekin sapı (%)**	Yapraklı ağaç (%)	İğne Yapraklı ağaç (%)
Alkol benzen çözünürlüğü	8,8±0,04	19,1	2-6***	2-8***
Sıcak su çözünürlüğü	9,1±0,28	-	2-7***	3-6***
Soğuk su çözünürlüğü	15,9±0,14	-	4-6***	2-3***
%1'lik NaOH çözünürlüğü	45,0±0,42	-	14-20***	9-16***
Holoselüloz tayini	75,6±0,24	50,5	70-78***	63-70***
Asitte çözünmeyen lignin	12,8±0,35	23,8	26,7****	27,67****
Asitte çözünen lignin	1,5±0,01	3,80	-	-
Glikoz	32,4±0,36	29,6	41,6****	44,5****
Ksiloz	12,6±0,02	17,5	13,9****	6,3****
Arabinoz	-	2,10	0,94****	1,6****
Kül	10,2±0,1	9,00	2,15****	0,32****

*: Tam kuru ağırlığa oranla yüzde değerler olup üç ölçümün ortalaması ve standart sapmasıdır. Değerlerde alkol benzen düzeltmesi yapılmıştır.

**:[9]

***:[10]

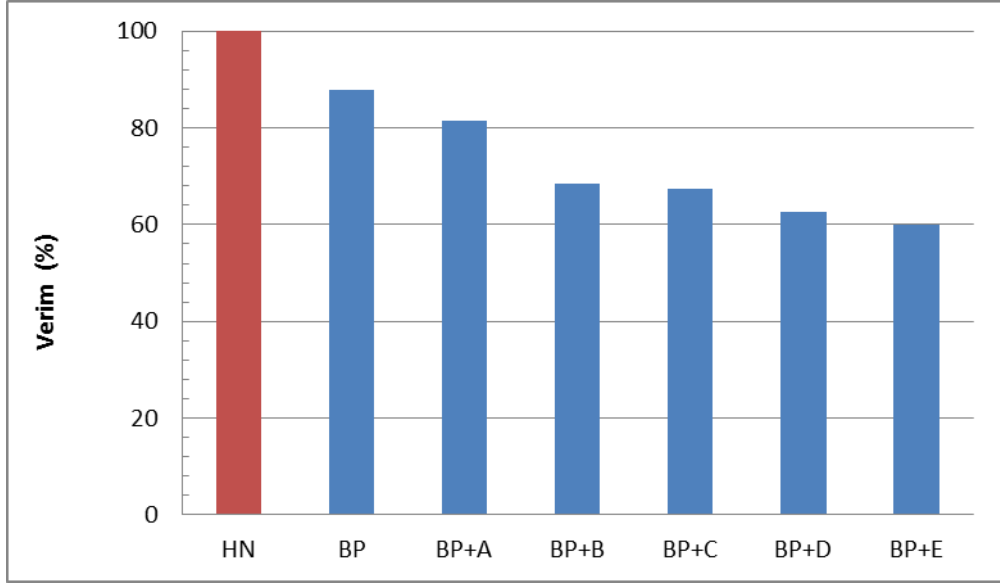
****:[11]

Tablo 5. Buhar patlatma ve kimyasal ön muamelelerin glikoz, ksiloz ve lignin üzerindeki etkisi

Ornek	Verim (%)	Glikoz (%)	Ksiloz (%)	Lignin (%)
HN	100	30,4±1,09	11,9±0,73	13,8±0,20
BP	87,8	34,2±1,66	10,1±0,48	21,2±0,23
BP+A	81,4	41,4±1,25	8,3±0,87	18,1±0,18
BP+B	68,5	29,8±1,31	4,5±0,35	14,6±0,97
BP+C	67,5	31,9±0,64	5,3±0,96	17,1±0,28
BP+D	62,5	27,8±0,37	4,1±0,81	13,5±0,79
BP+E	60,1	24,0±0,28	4,3±1,01	10,7±0,02

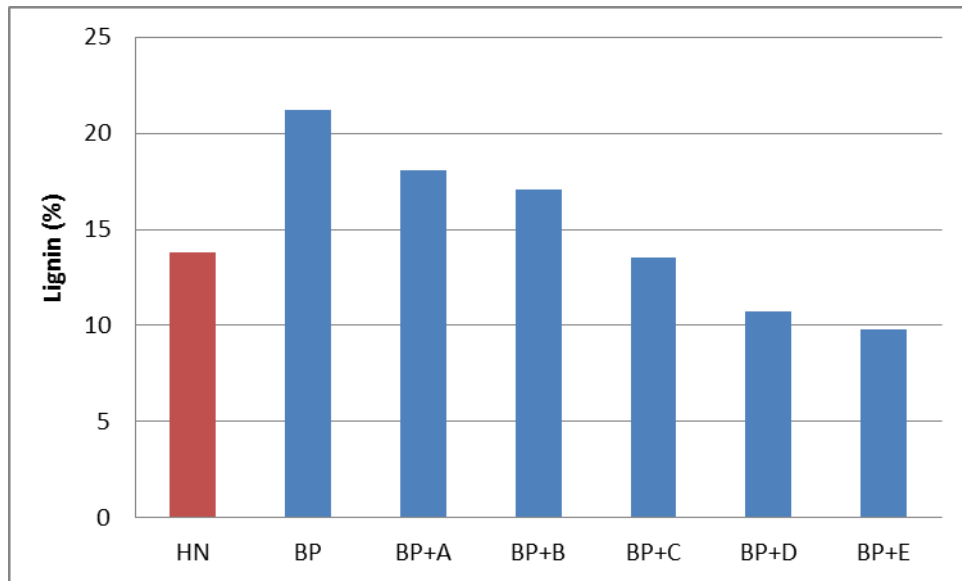
Materyale uygulanan işlemler sonucunda verim kaybı Şekil 1'de gösterilmiştir. Buhar patlatma işlemi sonucunda elde edilen ayçiçeği saplarındaki katı madde geri kazanımı %87,8 (w/w) olarak bulunmuştur. Yaklaşık %12,2'lik kütle kaybının yüksek sıcaklıkta buhar uygulaması ile lif yapısında bir kısım materyalin çözünmesi nedeniyle meydana geldiği düşünülmektedir. Buhar patlatma işlemi sonucunda katı maddeden ksiloz, lignin, ekstraktif vb. materyallerin uzaklaşmasına bağlı olarak yapıdaki glikoz ve lignin miktarının oransal artışı gözlemlenmiştir. Buhar patlatma işlemi sonucunda en yüksek katı madde geri kazanımı BP+A'da; buna karşın en fazla katı madde kaybı BP+E karışımında gözlemlenmiştir. Karışımlar kendi aralarında değerlendirildiğinde konsantrasyon arttıkça katı madde kaybında da artış meydana gelmiştir. BP+B ön muamelesinde gözlemlenen katı madde kaybı, BP+A ön muamelesine oranla oldukça yüksektir. BP+B ön muamelesinin bu şekilde sonuç vermesinin nedeni olarak; biyokütlerdeki selüloz ve hemiselülozların hidrojen bağlarına etki ederek

kopması, biyokütlenin prozitesinin artarak [13] selülozun şişmesi ve bir kısım lignin ve selülozları yapıdan çözerek uzaklaştırmış olması gösterilebilir [14].



Şekil 1. Kimyasal ön muamelelerin verime etkisi

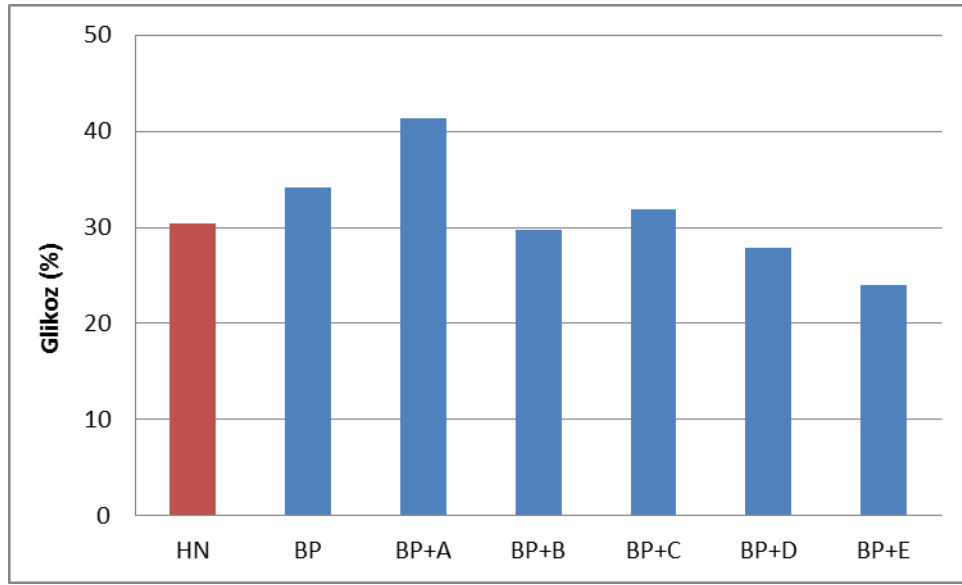
Buhar patlatma ön muamelesi, düşük molekül ağırlıklı karbonhidratları ve selülozları yapıdan uzaklaştırdığı için lignin oranı ham örneğe göre artış göstermiştir (bağıl fark=%53,6) (Şekil 2). Buhar patlatma sonrası uygulanan kimyasal ön muamelelerde lignini uzaklaştıran en etkili ön muamele BP+E olarak belirlenmiştir (bağıl fark=%31,5). Karışımlar kendi aralarında değerlendirildiğinde, konsantrasyon arttıkça ortamdan uzaklaşan lignin oranında da artış gözlemlenmiştir. BP+B ön muamelesi lignin miktarında ciddi bir azalmaya sebep olmuştur. NaOH, ligninde bulunan ester bağlarına etki ederek bir kısım lignin ve hemiselülozları yapıdan uzaklaştırmada önemli bir rol oynar [15].



Şekil 2. Kimyasal ön muamelelerin lignin miktarına etkisi

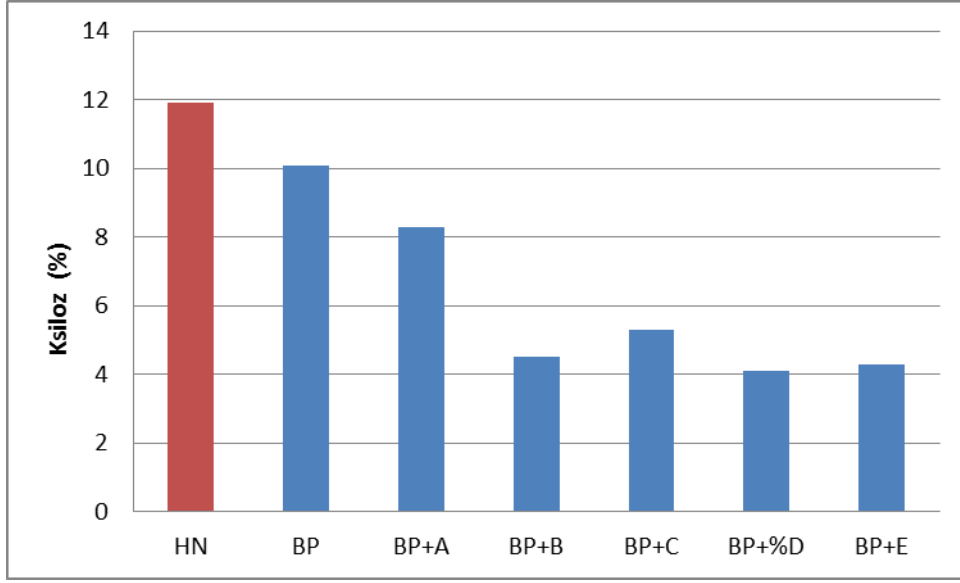
Buhar patlatma sonrası gerçekleştirilen kimyasal ön muameleler kullanılan kimyasal türüne ve karışım konsantrasyonlarına bağlı olarak birbirinden farklı etkiler göstermiş olup uygulanan ön muamelelere bağlı olarak glikoz içeriğindeki değişim Şekil 3'te gösterilmiştir. BP+A ve BP+B ön muamele işlemleri karşılaştırıldığında BP+B uygulamasının numunelerden fazla oranda glikoz uzaklaştırdığı görülmektedir. Diğer taraftan BP+A ön muamelesinin karbonhidratları koruyucu etkisi belirgin bir şekilde gözlemlenmiştir [16].

Ham numuneye oranla, buhar patlatma ön muamelesinin tek başına glikoz çözünürlüğüne çok fazla etkisi görülmemektedir (bağıl fark=%12,5). BP+A ön muamele işlemi glikoz çözünürlüğünde en etkin sonucu göstermektedir (bağıl fark=%21). BP+B ön muamelesi sonrasında ise ortamdan uzaklaşan glikoz miktarında artış görülmüştür. Bu da BP+A ön muamelesinin glikoz koruyucu özelliğini ön plana çıkardığı düşünülmektedir. Karışımlar kendi aralarında incelendiğinde; konsantrasyon arttıkça glikoz çözünürlüğünde azalma meydana geldiği gözlemlenmiştir. Karışımlardan BP+C, BP+E karışımına göre glikoz çözünürlüğünde etkin bir rol oynamıştır.



Şekil 3. Kimyasal ön muamelelerin glikoz miktarına etkisi

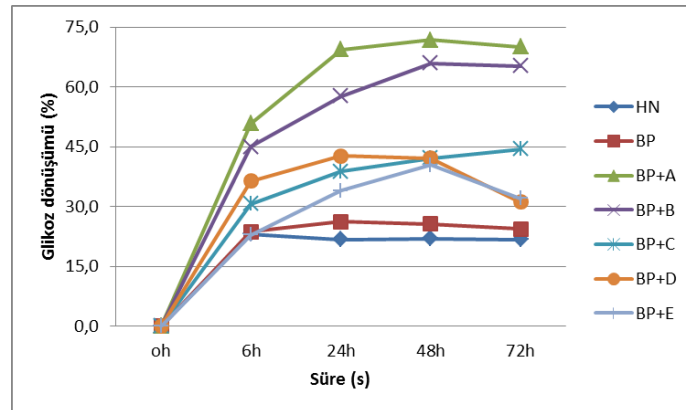
Buhar patlatma ön muamelesi sonrası yapıda kalan ksiloz oranı ham numuneye oranla azalma göstermiştir (bağıl fark=%17,8) (Şekil 4). BP+A ön muamele işlemi sonucunda ksiloz oranı diğer ön muamele işlemlerine nazaran önemli ölçüde korunmuştur. Karışımlar kendi aralarında değerlendirildiğinde konsantrasyon artışının ksiloz çözünürlüğü üzerinde önemli bir etkisi bulunmazken az miktarda azalma gözlemlenmiştir. BP+B ve BP+A ön muameleleri karşılaştırıldığında BP+B ön muamelesinin yapıdan oldukça fazla oranda ksilozu uzaklaştırdığı gözlemlenmektedir (bağıl fark=%84,4) [16].



Şekil 4. Kimyasal ön muamelelerin ksiloz miktarına etkisi

IV. SONUÇ

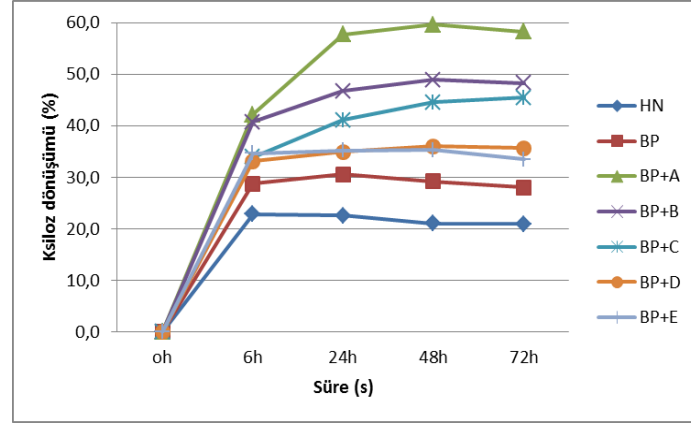
Enzimatik hidroliz süresince glikoz ve ksiloz konsantrasyonları Tablo 6’da gösterilmiştir. Enzimatik hidroliz işlemi sonrası örneklerdeki tam kuru maddeye oranla glikoz dönüşümü Şekil 5’te gösterilmiştir. Cellulast 1,5 L ve Novozyme 188 enzim karışımına bağlı enzimatik hidroliz işlemi sonucu en yüksek glikoz dönüşümü BP+A ön muamelesi uygulanan numunede 48 saat sonunda (%71,7) gözlemlenmiştir. $\text{NaBH}_4 + \text{NaOH}$ ’ın düşük konsantrasyondaki karışımının diğer karışımlara oranla şeker dönüşümü üzerinde oldukça etkili olduğu gözlemlenmiştir. NaOH ’ın enzimatik hidroliz üzerindeki etkileri bilinmektedir fakat NaBH_4 ’ün glikoz dönüşümü üzerindeki etkisi konusunda daha detaylı çalışmalara gereksinim görülmektedir.



Şekil 5. Enzimatik hidroliz sonrası glikoz dönüşümü

Enzimatik hidroliz işlemi sonrası örneklerdeki tam kuru maddeye oranla ksiloz dönüşümü Şekil 6’da gösterilmiştir. Cellulast 1,5 L ve Novozyme 188 enzim karışımına bağlı enzimatik hidroliz işlemi sonucu en yüksek ksiloz dönüşümü BP+A ön muamelesi uygulanan numunede 48 saat sonunda

(%59,7) gözlemlenmiştir [15]. $\text{NaBH}_4 + \text{NaOH}$ 'ın düşük konsantrasyondaki karışımının diğer karışımlara oranla şeker dönüşümü üzerinde oldukça etkili olduğu gözlemlenmiştir.



Şekil 6. Enzimatik hidroliz sonrası ksiloz dönüşümü

Tablo 6. Enzimatik hidroliz süresince glikoz ve ksiloz konsantrasyonları (%)

On muamele şartları	0 saat	6 saat	24 saat	48 saat	72 saat					
HN	Glikoz	Ksiloz	Glikoz	Ksiloz	Glikoz	Ksiloz	Glikoz	Ksiloz	Glikoz	Ksiloz
HN	0,0	0,0	23,1	22,9	21,7	22,6	21,9	21,1	21,7	20,9
BP	0,0	0,0	23,6	28,7	26,2	30,6	25,6	29,2	24,4	28,0
BP+A	0,0	0,0	50,8	42,2	69,4	57,7	71,7	59,7	70,1	58,3
BP+B	0,0	0,0	45,0	40,8	57,7	46,7	65,9	48,9	65,2	48,3
BP+C	0,0	0,0	30,6	33,9	38,8	41,1	42,1	44,6	44,4	45,5
BP+D	0,0	0,0	36,4	33,2	42,7	34,9	42,1	36,0	31,1	35,7
BP+E	0,0	0,0	22,9	34,6	34,0	35,2	40,4	35,3	32,0	33,5

V. KAYNAKLAR

- [1] S. Shafiee, E. Topal *Energy Policy* **37(1)** (2009) 181-187.
- [2] M. Melikoğlu, A. Albostan *Gazi Üniversitesi Müh. Mim. Fak. Dergisi* **26(1)** (2011) 151-160.
- [3] Ç. Karadağ, I. Gülsaç, A. Ersöz, M. Çalışkan *Bilim ve Teknik* **5(498)** (2011) 24-27.
- [4] T. Granstörn, H. Ojama, M. Leisola *Applied Microbiology and Biotechnology* **55(1)** (2001) 36-42.
- [5] J.D McMillan, *Pretreatment of Lignocellulosic Biomass*, 566, American Chemical Society, (1994)
- [6] S. Yaman *Energy Conversion and Management* **45(5)** (2004) 651-671.

- [7] A. Sluiter, B. Hames, R. Ruiz, C. Scarlata, J. Sluiter, D. Templeton, D. Crocker *Technical report NRELL/TP-510-42618* (2004).
- [8] L.E Wise, H.L Karl, *Cellulose and Hemicellulose in Pulp and Paper Science and Technology*, 1, Mc Graw Hill Book Co., (1962).
- [9] D. Fengel, G. Wegener *Wood Chemistry*, 566, American Chemical Society, (1984).
- [10] F. Ruiz, S. Bolado, G. Gonzales-Benito, M.T. Garcia-Cubero, G. Gonzáles-Benito *Chemical Engineering Transactions* (**17**) (2009) 1131-1136.
- [11] C.N Hamelinck, G. Van Hooijdonk, A.P.C. Faaij *Biomass&Bioenergy* **28(4)** (2005) 384-410.
- [12] Y. Çöpür, A. Tozluoğlu *International Biodeterioration and Biodegradation* **60(2)** (2007) 126-131.
- [13] R.A. Silverstein, Y. Chen, R.R. Sharma-Shivappa, M.D. Boyette, J. Osborne *Bioresource Technology* **98(16)** 3000-3011.
- [14] Y. Chen, R.R. Sharma-Shivappa *Applied Biochemistry and Biotechnology* **142** (2007) 276-290.
- [15] Y. Çöpür, A. Tozluoğlu, Ö. Özyürek *Bioresource Technology* **107** (2012) 258-266.
- [16] Z. Wang, D.R. Keshwani, A.P. Redding, J.J. Cheng *Bioresource Technology* **101(10)** (2010) 3583-3585.