

## **Lignoselülozik Biyokütlenin Ekstrüzyon ile Ön İşlemi ve Enzimatik Yolla Ksilooligosakkarit Üretimi**

### **Pretreatment of Lignocellulosic Biomass By Extrusion and Xylooligosaccharide Production By Enzymatic Process**

Rukiye ÇALIŞKAN, Sibel YAĞCI\*, Didem SUTAY KOCABAŞ

Gıda Mühendisliği Bölümü, Mühendislik Fakültesi, Karamanoğlu Mehmetbey  
Üniversitesi, Karaman, Türkiye

\*Sorumlu yazar: [syagci@kmu.edu.tr](mailto:syagci@kmu.edu.tr)

#### **Öz**

Son yıllarda orman, gıda işleme ve tarımsal atıkların, işlenerek katma değeri yüksek ürünlere dönüştürülmesi biyoekonomi kavramı açısından büyük önem kazanmıştır. Yapısında selüloz, hemiselüloz ve lignin gibi polisakkaritleri bulunduran bu atıklar lignoselülozik biyokütle olarak adlandırılırlar. Şeker üretimi sırasında enzimlerin selüloz ve hemiselüloza erişimini engelleyen fiziksel, kimyasal ve yapısal faktörün ortadan kaldırılması amacıyla biyokütleyle uygulanan bazı ön muamele işlemleri geliştirilmiştir. Biyokütlenin ekstrüder ile ön muamelesi yüksek verim ve düşük maliyet sağlaması gibi avantajlardan dolayı günümüzde kullanımı artmıştır. Ksilooligosakkaritler (KOS), bitki hemiselülozunun ana bileşeni olan ksilanın enzimatik hidrolizi sırasında üretilen şeker oligomerleri olup son yıllarda özellikle prebiyotik etkilerinden dolayı gıdalarda kullanılmaya başlanmıştır. Bu kapsamda ksilooligosakkarit üretim sürecinde yapılacak iyileştirmeler, alternatif kaynak (hammadde, enzim, vb.) bulunması, proses veriminin artırılması ve/veya proste elde edilecek yan ürünlerin katma değerli ürünlere (hemiselüloz ve fermente edilebilir şeker) dönüştürülerek ekonomik katkı sağlanması açısından oldukça önem taşımaktadır.

**Anahtar Kelimeler:** Lignoselülozik biyokütle, ön işlem, ekstrüzyon, hemiselüloz, ksilooligosakkarit.

**Abstract**

In recent years, the transformation of forest, food processing and agricultural wastes into high value-added products has gained great importance in terms of bioeconomy concept. These wastes containing basic polysaccharides such as cellulose, hemicellulose and lignin are called lignocellulosic biomass. There are some pretreatment processes applied to biomass to eliminate many physical, chemical and structural factors that prevent access of enzymes, which are used for hydrolysis of polysaccharides, to cellulose and hemicellulose. Among these methods, extrusion pretreatment process stands out because of its advantages such as high productivity and low cost. Xylooligosaccharides are sugar oligomers produced by the enzymatic hydrolysis of xylan, the main component of plant hemicellulose, and have been used in foods due to its prebiotic effects, in recent years. In this context, improvements to be made in xylooligosaccharide production process are very important in terms of finding alternative sources (raw material, enzyme, etc.), increasing process efficiency and / or converting by-products to value added products (hemicellulose and fermentable sugar) to provide economic contribution.

**Key words:** Lignocellulosic biomass, pretreatment, extrusion, hemicellulose, xylooligosaccharide (XOS).

**1. Giriş**

Dünya üzerinde toplam biyokütlenin %50'sini oluşturan lignoselülozik materyaller, direkt gıda olarak tüketime uygun olmayıp bitki kaynaklarından oluşmaktadır. Temel olarak yapısında üç temel polimer olan hemiselüloz ( $C_5H_8O_4$ )<sub>n</sub>, selüloz ( $C_6H_{10}O_5$ )<sub>n</sub> ve lignin [ $C_9H_{10}O_3$ ] ( $OCH_3$ )<sub>0.9-1.7</sub>]<sub>n</sub> bulunmaktadır [1]. Karmaşık lignoselüloz yapısı şeker üretimi sırasında enzimlerin selüloz ve hemiselüloza erişimini engellemektedir. Bu nedenden dolayı lignoselülozik materyale bazı ön işlemler uygulanması gerekir. Ön işlemdeki amaç lignoselülozik hammaddenin yapısını değiştirerek hammadde kullanımını zorlaştıran birçok fiziksel, kimyasal ve yapısal faktörün ortadan kaldırılmasını sağlamaktır [2,3]. Verimli bir şeker üretimi için lignoselülozik materyale fiziksel, kimyasal, termo-fiziko kimyasal ve biyolojik ön muamele işlemlerinin biri veya birkaçının beraberce kullanılması gerekmektedir. Fiziksel ön işleme parçacık

boyutu küçültme ve ekstrüzyon işlemi, kimyasal ön işleme asit veya baz ile muamele, termofiziko kimyasal ön işleme ise karbondioksit, mikrodalga ve ultrason uygulamaları örnek olarak verilebilir [3]. Günümüzde ekstrüzyon işlemi sağladığı birçok avantajdan dolayı lignoselülozik materyalin ön işlenmesinde kullanılmaktadır [4]. Ekstrüzyon standart kesitsel bir profil oluşturmak amacıyla materyalin istenen özellikteki bir kalıptan çıkmaya zorlanması olarak tanımlanır. Lignoselülozik biyokütlenin ekstrüzyon ile ön işlemi sonrasında daha yüksek verimde şeker elde edilmesi, ayrıca ekstrüzyon işleminin kimyasal ön işlemi de (asit veya baz ilavesi gibi) beraberinde uygulayabilme imkanı sağlaması bu yöntemin ön işlem yöntemi olarak tercih edilmesine sebep olmuştur [5]. Lignoselülozik materyalin ön işlemi sırasında, çözünmeyen hemiselülozun çoğu, selüloz mikro iplikçiklerinin yüzeyinden çıkarılır ve çeşitli çözünebilir oligosakkaritlere dönüştürülür. Hemiselülozun hidrolizi sırasında oluşan en baskın oligosakkarit çeşiti ksilooligosakkaritlerdir. Günümüzde ksilooligosakkaritlerin üretimi için lignoselülozik biyokütle kullanılmaktadır. Üretim için kimyasal ve biyokimyasal yöntemlerden yararlanılmaktadır. Ancak bu yöntemlerin uygulanması neticesinde hidroliz sonrası birçok istenmeyen yan ürün açığa çıkmaktadır. Hidroliz aşamasında özel veya pahalı cihazlara ihtiyaç duyulmaması ve toksik maddelerin oluşmaması gibi avantajlardan dolayı ksilooligosakkarit üretimi günümüzde daha çok enzimatik yöntemle yapılmaktadır [6,7]. Ksilooligosakkaritlerin (KOS) prebiyotik etkilerinden dolayı son zamanlarda gıdalarda kullanımı artmıştır. Ksiloz birimlerinden oluşan bu oligomerler, kolon kanseri riskini azaltma, kolesterolü düşürme ve sindirim sistemini düzenleme gibi etkileri bulunduğu için önemli bir prebiyotik ürün grubundadır [8,9].

## **2.Lignoselülozik Biyokütle**

Lignoselülozik biyokütle kaynakları genel olarak; tarımsal kalıntılar, özel enerji bitkileri, belediye katı atıkları, ormancılık kalıntıları, gıda işleme ve diğer endüstriyel atıklardır[3]. Bir tarım ülkesi olan ülkemizde tarımsal atıklar oldukça büyük miktarda ortaya çıkmaktadır. Türkiye’de hububat bitkilerinden ortaya çıkan katı atık miktarı 39,2-52,3 milyon tonken, mısır için bu miktar 3,8-4,8 milyon ton, şeker pancarı için ise 1,3-1,5 milyon ton kadardır [10]. Bu katma değeri düşük olan ve ülkemizde bol miktarda bulunan lignoselülozik biyokütle genellikle ruminantların beslenmesi için yem sanayinde kullanılmakta veya geleneksel olarak doğrudan yakılmaktadır. Hasat sonrası tarlada kalan bitki atıklarını yok etmek için yapılan bu işlem anız yakma olarak

adlandırılmaktadır. Ancak bu işlem toprağın doğal yapısını bozmakla birlikte hava kirliliğine de sebep olmaktadır. Tüm bunlar neticesinde biyokütlece zengin ülkemizin bize sunduğu ekonomik değeri düşük olan lignoselülozik kaynakların işlenerek katma değeri yüksek olan ürünlere dönüştürülmesi giderek önem kazanmış ve bu alanda çalışmaların yapılarak ülke ekonomisine katkı sağlanması gerekliliği ortaya çıkmıştır. Bu katma değeri yüksek ürünler ise; gıdalarda lif içeriğinin artırılması amacıyla kullanılan hemiselülozlar, prebiyotik gıda katkı maddesi olan ksilooligosakkaritler ve biyoetanol üretimi için mikrobiyal üretimde kullanılan fermente edilebilir şekerlerdir. Lignoselülozik kaynaklar ve atıklar biyorafineriler vasıtasıyla biyoyakıtlara dönüştürülebilmektedir. Yağ atıkları veya lignoselülozik biyokütleden elde edilen biyoyakıtlar ikinci kuşak biyoyakıt olarak adlandırılmaktadır. İkinci nesil biyoyakıtların, birinci nesil biyoyakıtlara (şeker veya nişastalı hammaddelerden üretilen biyoyakıtlar) göre avantajı düşük maliyetli olmaları ve hammadde açısından gıda sektörü ile rekabet halinde olmamalarıdır [3]. Örneğin şeker pancarından elde edilen biyoyakıtlar birinci nesil biyoyakıt olarak adlandırılırken, şeker üretimi yan ürünü olan şeker pancarı küspesinden elde edilen biyoyakıtlar ikinci nesil biyoyakıttır. Lignoselülozik biyokütle içeriği türden türe farklılık gösterebilir genel olarak %35-50 oranında selülozdan, %20-35 oranında hemiselülozdan ve %10-25 oranında ligninden oluşmaktadır [3]. Bazı lignoselüloz yapısındaki materyallerin hemiselüloz, lignin ve selüloz içerikleri tablo 1’de gösterilmektedir.

Tablo 1. Bazı lignoselülozik biyokütlelerin selüloz, hemiselüloz ve lignin içerikleri

<b>Lignoselülozik Biyokütle</b>	<b>Selüloz (%)</b>	<b>Hemiselüloz (%)</b>	<b>Lignin (%)</b>	<b>Kaynak</b>
Arpa Samanı	14-15	24-29	31-34	[13]
Zeytin Ağacı	25,2	15,8	19,1	[14]
Mısır sapı	7-18,4	16,8-35	35-39,6	[15]
Çimenler	-	25-50	25-40	[15]
Yulaf Samanı	16-19	27-38	31-37	[13]
Şeker Kamışı Küspesi	18,4	26,9	38,1	[13]
Şeker Pancarı Küspesi	20-24	25-36	-	[16]
Buğday Kepeği	16-21	26-32	29-35	[13]

Hücre çeperinin ana yapı elemanı olan selüloz, lignoselülozik biyokütlenin %40-50’sini oluşturmaktadır. Glikoz birimlerinin b-1,4 glikozidik bağlarla bağlanması neticesinde oluşmaktadır. Binlerce glikoz birimlerinin birleşmesiyle selüloz zincirleri oluşur ve bu zincirlerdehidrojen ve Van der Waals bağları bulunmaktadır [11,2]. Hemiselüloz,

lignoselülozik biyokütle içinde selülozdan sonra en bol bulunan (%20-30) yenilenebilir bir heteropolisakkarittir. Temel olarak hemiselüloz üronik asitler, heksoz (mannoz, glikoz, galaktoz) vepentoz (ksiloz ve arabinoz) şekerlerden oluşmaktadır [3]. Hemiselülozlar üç ana alt gruba ayrılmaktadır. Bunlar mannanlar, ksilanlar ve ksiloglukanlardır [11]. Ksilan bitki hücre duvarında bulunan hemiselülozun temel bileşenidir. Bir heteropolimer olan ksilan temel zinciri birbirlerine Beta 1-4 glikosidik bağlarıyla bağlı 5 karbonlu bir şeker olan ksiloz ünitelerinden oluşmaktadır [1]. Mannanlar mannoz ünitelerinden meydana gelen hemiselülozlardır. Ksiloglukanlar ise,  $\beta$ -1-4 bağlı glikoz kalıntılarından oluşmuştur [11]. Lignin fenolik bir polimer olup, bitkilerin sap ve gövdelerine mekanik direnç ve sağlamlık kazandırmaktadır [12].

### **3.Ön İşleme Genel Bakış**

Önceki bölümde de bahsedildiği gibi selüloz ve hemiselülozun hidrojen ve kovalent bağlar ile lignine sıkıca bağlanması sonucu kompleks lignoselüloz yapısı oluşmaktadır. Bu karmaşık yapı şeker üretimi sırasında enzimlerin selüloz ve hemiselüloza erişimini engellemektedir. Bu amaçla da lignoselülozik biyokütleye bazı ön işlemler uygulanmaktadır. Bu uygulanan ön işlemler ile hammadde kullanımını zorlaştıran birçok fiziksel, kimyasal ve yapısal faktör ortadan kaldırılmakta ve enzimatik erişilebilirlik artmaktadır [3]. Ön işlemin başarılı olarak kabul edilebilmesi için; şekerleri sonrasında gerçekleştirilecek olan hidroliz işlemi için uygun hale getirmesi, hidroliz (yapının su molekülü ilavesi ile parçalanması) ve fermantasyon işlemi esnasında en az düzeyde inhibitör madde oluşması, karbonhidrat kaybının engellenmesi ve proses maliyetinin düşük olması gerekmektedir [2]. Ön-işlem süreci sonrasında elde edilecek ürünler için üretim maliyetinin önemli bir kısmını oluşturmaktadır. Ön muamele yöntemleri fiziksel, kimyasal, termo fiziko kimyasal ve biyolojik olmak üzere dört grupta sınıflandırılmaktadır.

Kimyasal ön işlem çok yaygın kullanılan bir metot olmakla birlikte asidik ve alkali olmak üzere iki grupta kategorize edilmektedir. Proses maliyeti düşük olan bir tekniktir [3]. Lignoselülozik biyoküteller alkali çözeltiler içinde bekletilerek belirli bir süre inkübasyona bırakılır ve alkali uygulaması ile yapılan kimyasal ön işlem gerçekleşmiş olur. Bu sırada çözünme reaksiyonları gerçekleşirken hemiselülozlar ve diğer bileşenler arasındaki bağlar zayıflayıp koparken enzim erişimi artmaktadır [17]. En yaygın kullanılan alkali sodyum hidroksit olmakla birlikte, kalsiyum hidroksit, potasyum

hidroksit ve amonyum hidroksit gibi kimyasallarda kullanılmaktadır [18, 11]. Mısırlifinin kullanıldığı bir çalışmada da mısırlifinin katma değeri yüksek olan hemiselüloz ve etanole dönüşümü incelenmiştir. Öncelikle mısır lifinde bulunan nişastayı gidermek için termostable alfa amilaz enzimi kullanılmış ve sonrasında farklı konsantrasyonlarda hazırlanan alkali çözeltisi ile ön işlemden geçirilmiştir. Sonuç olarak selülozdan oluşan atık maddeler selülaz enzimleri ile hidrolize edilmiş ve %90'luk verimle etanol elde edilmiştir [19].

Asit ile ön işlemede lignoselülozik materyal konsantre veya seyreltik asit ile muamele edilebilir. Bu işlem için sülfirik asit en yaygın kullanılan kimyasaldır. Bunun yanında fosforik asit ve hidroklorik asitte kullanılmaktadır. Asit ile ön işlemin avantajı işlemin düşük sıcaklıklarda gerçekleştirilebilmesidir. Ancak ekipmanın asit ile teması sırasında paslanma ve korozyon sorunları oluşabilmesi bu yöntemin dezavantajlarıdır [20, 17]. Mısır atıkları ve şeker pancarı küspesinin kullanıldığı bir çalışmada; partikül boyutunun, ekstraksiyon koşullarının (sıcaklık, alkali yoğunluğu ve zaman) ve ekstraksiyon yöntemlerinin (asit ilavesi ile ekstraksiyon, doğrudan alkali ilavesi ile ekstraksiyon ve de fraksiyonlarına ayırdıktan sonra alkali ilavesi ile ekstraksiyon) hemiselüloz verimi üzerine etkisi araştırılmıştır. Sonuç olarak alkali ile ekstraksiyon %40,2 saf ekstrakt verirken, asit kullanarak gerçekleştirilen ekstraksiyon %27,4 saflık vermiş ve optimum şartlar (%64,3), %10 NaOH, 30°C sıcaklık ve 24 saat süre olarak belirlenmiş, ekstraksiyon işleminden öncenişasta, yağ, protein ve çözünen şeker gibi fraksiyonların ayrılmasının hemiselüloz saflığını %40,2'den %58,2'ye çıkardığını gözlenmiştir [21].

Termo-fizikokimyasal işlemler; buharla patlatma, oksidatif ön işlem, mikrodalga uygulaması ve karbondioksit patlaması gibi uygulamaları içerir. Temel olarak fiziksel ve kimyasal işlemlerin kombinasyonu ile oluşmaktadır [3]. Termo-fiziko kimyasal işlemlerin avantajı çok yoğun kimyasal kullanımına gerek olmamasıdır. Dezavantajı ise yüksek sıcaklık ve basınç gibi aşırı koşullarda çalışıldığından işlem maliyetinin yüksek olmasıdır [22].

Biyolojik ön işlemlerde mikroorganizmalardan veya enzimlerden yararlanılmaktadır. Genellikle hemiselüloz ve ligninin parçalanabilmesi için funguslar (mantarlar) gibi mikroorganizmalar kullanılmaktadır [3].

Fiziksel işlem genellikle mekanik ezme ve ekstrüzyon olmak üzere ikiye ayrılmaktadır. Mekanik ezme lignoselülozik biyokütleyi öğütme ve parçalama işlemi yardımıyla

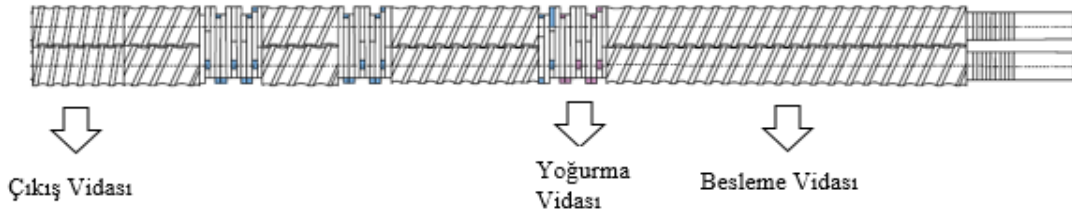
partikül haline (genellikle 10-30mm veya 0,2-2mm arasında) dönüştürme işlemidir. Böylece lignoselülozik biyokütlenin yüzey alanı ve enzimatik erişilebilirlik artmaktadır [3].

### **3.1 Ekstrüzyon İle Ön İşleme Tekniği**

Ekstrüzyon, materyalin belirli bir şekle sahip bir kalıptan veya delikten itildiği bir süreç olarak tanımlanmaktadır. Genel olarak ekstrüderler vida, tahrik motoru, kalıp, besleme ünitesi bölümlerinden oluşmaktadır. Ekstrüzyon tekniği kesme kuvveti, karıştırma, pişirme, şekil verme gibi temel işlemleri bir arada gerçekleştirmektedir [23]. Ekstrüzyon yönteminde uygun nem içeriğine ayarlanmış olan hammaddeler dönen sonsuz vida ya da vidalar vasıtasıyla yüksek sıcaklık ve yüksek basınç altında karıştırılarak kalıp noktasına taşınmaktadır. Burada karışım kovan içindeki yüksek basınç etkisinden bir anda kurtularak atmosfer basıncına çıkması neticesinde genleşerek ürün şekil ve hacim kazanmaktadır [23]. Ekstrüzyon teknolojisi, makarna, kahvaltılık gevrek atıştırma çerez, sakız ve hazır çorba gibi ürünlerin elde edilmesinde yaygın olarak kullanılmaktadır [24].

Gıda sanayisinde kullanılan ekstrüderler tek ve çift vidalı olmak üzere ikiye ayrılmaktadır. Tek vidalı ekstrüderler kovan içerisinde bulunan tek bir vidadan oluşmaktadır. Bu tip ekstrüderler besleme, sıkıştırma ve ölçme olmak üzere üç bölümden oluşmaktadır. Materyal besleme bölümünden ekstrüdere beslenmekte ve dönen vida sayesinde sıkıştırma bölümüne taşınmaktadır. Sıkıştırma bölümünde malzemenin sıcaklığı artmaktadır. Malzeme sıkıştırma bölümü tarafından itilir. Bu tip ekstrüderlerin kovan şekli genellikle sarmal yapıdadır. Bu sarmal yapı malzemenin etkili bir şekilde karıştırılıp taşınmasını sağlamaktadır [25].

Çift vidalı ekstrüderlerin kovan kısmında iki vida bulunur. Bu tip ekstrüderler; karşı dönen (counter-rotating) çift vidalı ekstrüderler (vidalar karşılıklı yönde hareket eder) ve birlikte dönen (co-rotating) çift vidalı ekstrüderler (vidalar aynı yönde hareket eder) olmak üzere ikiye ayrılır [25]. Dişleri iç içe geçmiş paralel veya ters yönlü dönebilen çift vidalar, tek vidalılara göre değişik özellikte ürün elde edebilirler. Çift vidalılar daha düşük nemde işleyen ve hassas şekillerin istendiği ürünlerin üretiminde kullanılmaktadır [26]. Çift vidalar üzerinde bazı farklı vida elemanları (taşıma ve yoğurma) bulunur. Bu vida elemanları farklı süreç şartları için ayarlanarak vida konfigürasyonu değiştirilebilmektedir. Şekil 1'de çift vidalı ekstrüder görüntüsü verilmiştir.



Şekil 1. Çift vidalı ekstrüder görüntüsü

Son zamanlarda ekstrüzyon teknolojisi lignoselülozik materyalin kompleks yapısını şeker üretimi için daha kolay hale getirmek amacıyla kullanılmaya başlanmıştır[5].Fiziksel ve termal işlemin bir arada kullanıldığı ekstrüzyon teknolojisi ile biyokütleyle uygulanan kovan sıcaklığı ve vida hızı lignoselülozik yapıda bozulmaya ve liflerin kısalmasına sebep olmaktadır [17].Ekstrüzyon ile ön işlemin yukarıda bahsedilen ön işleme tekniklerine göre sağladığı bir takım avantajlar vardır. Bunlar; genellikle ekstrüderler bilgisayar kontrollü cihazlar oldukları için prosesdeki tüm değişkenlerin kontrolünün rahatlıkla sağlanması ve bu sayede daha iyi bir proses kontrolünün yapılabilmesi, ayrıca maliyetin düşük olması ve farklı proses modifikasyonlarına rahatça uyarlanabilmesi gibi avantajlardır. Ekstrüzyon tekniği ile birlikte biyokütleyle aynı anda asit veya alkali ile de ön işlem yapılabilmektedir. Kullanılacak kimyasal ekstrüdere peristaltik bir pompa vasıtasıyla verilebilmektedir. Farklı proses şartlarına göre vida konfigürasyonudeğiştirilebilmektedir. Ekstrüzyon yöntemi ile üretilen şekerlerde bozulma olmaması ve işlem sonunda inhibitör madde oluşmaması ayrıca sürekli ve yüksek verimlilik sağlaması da yöntemin diğer avantajları arasında sayılabilir. Lignoselülozik biyokütlenin ekstrüzyon ile ön işlemi sırasında nem oranı, vida hızı, kovan sıcaklığı, besleme hızı ve vida konfigürasyonu çalışlabilmektedir. Ayrıca bunların yanında kullanılacak kimyasalın konsantrasyonu da ekstrüzyon tekniğini etkileyen parametrelerdendir.

Literatürde ekstrüzyon yönteminin lignoselülozik biyokütlelerin ön işlenmesinde kullanıldığı farklı araştırma çalışmaları yapılmıştır. Bu çalışmalarda mısır tarla atığı, arpa samanı, pirinç samanı, farklı çimensi bitkiler gibi lignosellülozik atıklar, alkali ve asidik ortamlarda, tek ve çift vidalı ekstrüderler kullanılarak ön-muamele işlemine tabi tutulmuş ve sonuçta elde edilen ürünlerin şeker verimleri ve ligninin ayrılma oranları ölçülmüştür. Tablo 2’de çift vidalı ekstrüder kullanılarak yapılmış çalışmalara örnekler verilmiştir. Mısır tarağının ekstrüzyon ile ön-muamele yöntemini farklı nem içeriği



(%22,5, %25, %27,5 yaş bazda) ve vida hızları (40-140 dev/dak) kullanılarak şeker geri kazanımındaki etkisini araştırmıştır. Ekstrüzyon işlemi öncesinde mısır tarağında bulunan nişastaalfa amilaz enzimi ile ayrılmıştır. Bu araştırmada çift vidalı bir ekstrüder kullanılmıştır. Maksimum glikoz, ksiloz ve bileşik şeker geri kazanımı sırasıyla %48,79, %4,98 ve %40,07 olarak tespit edilmiştir. Bu sonuçlar, sırasıyla, işlem görmemiş mısır tarağına göre 2,2, 6,6 ve 2,6 kat daha yüksek bulunmuştur [27]. Mısır tarağına yapılan başka bir çalışmada da kimyasal ön işlem ve çift vidalı ekstrüder kullanarak hemiselüloz içeriği üstüne etkisini incelemişler. Mısır tarağından nişastayı gidermek için alfa amilaz enzimi ile ön işlem yapılmış ve farklı nem içeriğine (%30, 40, 50) sahip mısır tarağına; 200, 250 ve 300 rpm vida hızında ekstrüzyon işlemi gerçekleştirilmiştir. Sonuçta en yüksek hemiselüloz içeriği 300 rpm vida hızı ve %40 nem içeriğine sahip mısır tarağında elde edilmiştir [28]. Farklı bir çalışmada [29] Miscanthus bitkisi (filotu) sırasıyla mekanik (ekstrüzyon) ve kimyasal ön-ışleme (sodyum hidroksit) tabii tutulmuştur. Miscanthus ülkemizde fil çimeni olarak bilinen değerli bir lignoselülozik biyokütledir. Ekstrüzyon koşulları, 100 rpm vida hızı, 15-30 kg kuru madde / saat biyokütle akışı ve 100°C' gövde sıcaklığıdır. Ekstrüzyon işleminden geçirilen Miscanthus, daha sonra, 70°C' de 4 saat süreyle farklı katı / sıvı oranlarında %12 NaOH (ağırlıkça kuru madde) ile ön işleme tabii tutulmuştur. İki ön işlemenin kombinasyonudeligifikasyon ile sonuçlanmış yani %77 oranında lignin uzaklaştırılmıştır. Bunu takiben başlangıçtaki selüloz ve hemiselülozlar sırasıyla %69 ve %38'i glukoz, ksiloz ve arabinoz'a dönüştürülmüştür. Bir başka çalışmada da çift vidalı ekstrüderin vida hızının (30-150 rpm), kovan sıcaklığının (80-160 °C) ve seyreltik sülfürik asit kullanımının (% 1-3 yaş bazda) ekstrüde edilmiş zengin samanın yapısal özellikleri üzerine etkileri değerlendirilmiştir. Bu çalışmada ksilanın %83,7'si monomerik ksiloz'a dönüştürüldüğü optimum koşullar 120°C, 40 rpm'de ve %3 sülfürik asit konsantrasyonu olarak belirlenmiş; ekstraksiyonun optimum durumunun 130°C ve 20 dakika olarak belirlendiği rapor edilmiştir. Son olarak, enzimatik hidrolizden sonra toplam sakarifikasyon açısından %80'lik bir verim elde edilmiştir [30].

Tablo 2. Çift vidalı ekstrüder kullanılarak yapılmış çalışmalar

Metot	Ekstrüder Koşulları	Hammadde Koşulları	Şeker geri kazanımı	Kaynak
Fiziksel ön işlem	Çift vidalı 80 rpm vida hızı 0,22 kg/st besleme hızı 0,028 g enzim/kuru mısır tarağı	Mısır Tarağı <2mm, nem oranı%27,5	Glikoz %48,8, Ksiloz %25	[27]
	Çift vidalı, 100 rpm vida hızı 100°C kovan sıcaklığı, 4 kg/st besleme hızı	Mısır koçanı	%80 ksiloz verimi	[34]
	Çift vidalı, 55 mm vida çapı Vida Hızı: 100 rpm, Besleme hızı: 15-30 kg /st, Sıcaklık: 100 °C	Miscanthus (Fil Çimeni)	Glikoz: %69, Ksiloz: %38	[29]
Asit ile ön işlem	Çift vidalı, 40 rpm, 120 °C, H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> konsantrasyonu: %3 Besleme Hızı: 5-7 kg/h	Pirinç Samanı<1 cm	Ksiloz: %83.7	[30]
Alkali ile ön işlem	Çift vidalı, Vida Hızı: 80 rpm, Sıcaklık: 140 °C Besleme hızı: 0,22kg/st, NaOH yükleme oranı: 0,04g/g biyokütle	Mısır Tarağı <2mm, Nem oranı: %50	Glikoz: %86,8, Ksiloz: %50.5	[31]
	Çift vidalı, 150 rpm, Besleme hızı: 0,6 kg /st, Sıcaklık: 50- 100 °C NaOH yükleme oranı: 2.75-7.5% NaOH/DM	Arpa Samanı<5mm	Glikoz: %89,9, Ksiloz: %83.5	[32]
	Çift vidalı, 325 rpm, Besleme hızı: 200 kg /st, Sıcaklık: 99 °C NaOH yükleme oranı: 0,66g/g biyokütle	Mısır Tarağı, 2-5 cm	Glikoz: %83, Ksiloz: %89 Lignin uzaklaştırma: %71	[33]

Diğer bir çalışmada benzer şekilde, aynı zamanda, farklı konsantrasyonlarda alkali yüklemeleri (0,004,- 0,012- 0,013 ve 0,04 g/g biyokütle) ile mısır tarağından şeker verimini artırmak için çift vidalı ekstrüzyonun etkisini değerlendirmiştir. Mısır tarağı, mekanik bir karıştırıcıda alkin solüsyonları ile karıştırılıp ve daha sonra ekstrüder içine beslenmiştir. 0,04 g/g biyokütle ve 80 rpm vidalı hızdaki bir alkali yüklenme oranında, optimum glikoz ve ksiloz şekeri verimi sırasıyla% 86,8 ve% 50,5 olarak bulunmuştur. Bu sonuçlar, hammadde için elde edilen sonuçların3.9 ve 13.3 katı daha yüksektir [31]. Çift vidalı ekstrüderin kullanıldığı diğer bir çalışmada, arpa samanı gövde sıcaklıkları 50-100°C, vida hızı 150 rpm, ve %2,75-7,5 NaOH/kuru madde kullanılarak işlenmiş ve yöntemin şeker geri kazanımına etkisi araştırılmıştır[32]. Bu çalışma sonucunda, %89,9 glikoz ve %83,5 ksiloz şeker verimi elde edilmiştir. Fermente edilebilir şeker üretimi için mısır tarağının alkali ortamda çift vidalı ekstrüzyon ile işlendiği bir çalışmada biyokütle sırasıyla%83 glukan ve %89 ksilanadönüştürülmüştür. Buna ek olarak, %71 lignin uzaklaştırılmıştır [33].

#### **4. Ksilooligosakkarit Üretimi**

Atıkların lignoselülozik özelliklerinden faydalanarak belirli yöntemlerle, bu atıklardan selüloz, hemiselüloz ve lignin üretilmektedir. Elde edilen bu kompleks karbonhidratlardan faydalanarak ekonomik değeri yüksek olan yenilenebilir ürünler elde edilebilmektedir. Lignoselülozik biyokütlerde bulunan hemiselüloz fraksiyonunun ana bileşeni ksilandır. Ksilan ksilooligosakkarit üretimi için oldukça uygun bir başlangıç materyalidir [35]. Ksilooligosakkaritler, beta (1-4) bağıyla bağlanmış ksiloz ünitelerinden oluşan, meyve, sebze ve bal gibi ürünlerde bulunan sindirilemeyen bir şeker oligomeridir. Tarım, ilaç ve yem sanayinde kullanım alanı bulmakla birlikte son zamanlarda probiyotik mikroorganizmalara substrat olarak kullanılabilmelerinden dolayı gıda maddelerinde katkı maddesi olarak kullanımı artmıştır. Minerallerin biyoyararlılığını artırması, vitamin sentezini geliştirmesi, kolon kanseri ve diyabet riskini azaltması ksilooligosakkaritlerin insan sağlığına olan faydalarındandır [6, 8, 9].

Ksilooligosakkarit üretimi için kimyasal, yüksek sıcaklıkta otohizoliz ve enzimatik hidroliz gibi yöntemler kullanılmaktadır. Çok fazla toksik atık ortaya çıkması ve monosakkarit oluşması kimyasal ve yüksek sıcaklıkta otohizoliz yöntemlerinin dezavantajıdır. Bu nedenle ksilooligosakkarit üretimi için günümüzde daha çok enzimatik hidroliz tekniği kullanılmaktadır. Çünkü istenmeyen bileşiklerin oluşmaması ve üretim esnasında özel ve pahalı cihazlara ihtiyaç duyulmaması bu tekniğin avantajlarındandır [6,7]. Lignoselülotik biyokütlerde bulunan selüloz ve hemiselüloz hidroliz olarak adlandırılan işleme basit şekerlere dönüştürülür. Lignoselülozik biyokütlenin parçalanmasında lignoselülotik enzimler rol oynamaktadır. Hemiselüloz fraksiyonunun ana bileşeni olan ksilanın parçalanmasını sağlayan enzimlerin tamamına ksilanolitik enzim sistemi denmektedir. Bu enzim sistemi içerisinde yer alan endo- $\beta$ -1,4-ksilanaz, ksilan zincirini rastgele olarak parçalayarak ve ksilooligosakkarit oluştururken  $\beta$ -ksilosidaz enzimi ise ksilooligosakkaritlerin ve ksilobiyozun indirgen olmayan uçlarına etki ederek ksilozu ortaya çıkarmaktadır [1, 36]. Ksilanaz enzimine aynı zamanda hemiselülaz enzimi de denilmektedir. Ksilanaz enzimleri tekstil, gıda (meyve sularının durultulması amacıyla), yem endüstrisinde kullanılmaktadır. Bir diğer lignoselülotik enzim ise selülozu parçalayan selülaz enzimidir. Selülozun glukoza parçalanmasında üç farklı enzim birlikte rol oynamaktadır. Bu enzimler endoglukanazlar, ekzoglukanazlar ve sellobiyazlardır. Endoglukanazlar selülozu orta

kısımdan parçalarlar. Ekzoglukanazlar ise endoglukanazın parçalaması sonucu oluşan ara ürünlerin uç kısımdan parçalama yaparak son ürün olarak sellobiyoz oluştururlar. Sellobiyazlarda bu oluşan sellobiyozu glukoza kadar parçalayan enzimlerdir [37].

### **5. Sonuç ve Öneriler**

Yapılan çalışmalar incelendiğinde ekstrüzyon işlemi ile alkaliyle ön işlemin kombinasyonu neticesinde daha çok ksiloz verimi elde edildiği saptanmıştır. Bu zamana kadar yapılan çalışmalarda daha çok mısır atıklarına yoğunlaşmış durumdadır. Farklı lignoselülozik biyokütle kaynaklarında (buğday samanı veya kepeği, zeytin katı atığı, bulgur kepeği vb.) ekstrüzyon yöntemi ile işlenerek bu kaynaklardan elde edilen ürünlerin verimlilikleri, çeşitleri ve özellikleri ortaya konmalıdır. Bu çalışmalarda partikül boyutu, sıcaklık profili, nem oranı, vida konfigürasyonu ve vida hızı gibi parametreler çalışılarak ve bu çalışmaların optimizasyonu içinde farklı istatistiksel yöntemler (Tepki Yüzey Metodolojisi gibi) uygulanabilir.

### **6. Teşekkür**

Bilimsel araştırma projeleri (BAP) birimine, 13-M-18 numaralı projeye vermiş oldukları destekten dolayı teşekkür ederiz.

### **Kaynaklar**

- [1] Yeğin, Sırma. Aureobasidium pullulans ile ksilanaz üretimine etki eden biyoproses parametrelerin belirlenmesi. gıda, 2017; 42.1: 67-75.
- [2] Çöpür, Yalçın, Tozluoğlu, Ayhan, Özyürek, Ömer. Selülozik Biyoetanol Üretim Teknolojisi. Düzce Üniversitesi Ormancılık Dergisi, 2011; 7.1: 10-37.
- [3] Adıgüzel, A. O. Pre-treatment and hydrolysis methods for bioethanol production from lignocellulosic material. SAÜ Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 2013; 17.3, 381-397.
- [4] Erdönmez Borand, M. Effects Of Pretreatment Methods On Lignocellulosic Bioethanol Production. Istanbul Technical University Graduate School Of Science Engineering And Technology, Turkey, İstanbul, 2012.

- [5]Zeng, J. ve Rehmann, L. Pretreatment of Lignocellulosic Biomass: A Review SpringerBriefs in Molecular Science Pretreatment of Lignocellulosic Biomass for Biofuel Production, 2014; 17-70.
- [6] Akpınar Ö, Erdoğan K, Bakır U, Yılmaz L. Comparison of acid and enzymatic hydrolysis of tobacco stalk xylan for preparation of xylooligosaccharides, LWT - Food Science and Technology, 2010; 43, 119-125.
- [7] Jayapal N, Samanta A K, Kolte A P, Senani S, Sridhar M, Suresh K P, Sampath K.H. Value addition to sugarcane bagasse: Xylan extraction and its process optimization for xylooligosaccharides production, Industrial Crops and Products, 2013; 42, 14-24.
- [8] Haltrich D, Nidetzky B, Kulbe K.D, Steiner W, Zupancic, S. Production of fungal xylanases. Bioresource Technology, 1996; 58, 137-161.
- [9] Vazquez, M. J, Alonso, J. L, Dominguez, H, Parajo, J. C.Xylooligosaccharides: manufacture and applications. Trends in Food Science & Technology 11.11 2000; 387-393.
- [10]Topal, M. ve Arslan, E. I. Biyokütle Enerjisi ve Türkiye. VII. Ulusal Temiz Enerji Sempozyumu, İstanbul, 2008.
- [11]Naidu, D.S, Hlangothi, S.P, ve John, M.J. Bio-Based Products from Xylan: A Review. Carbonhydrate Polymers. 2018;179, 28-41.
- [12]Ergün, F, Kaşıkara Pazarlıoğlu, N.*Phanerochaete chrysosporium*'uu Ligninolitik Enzimlerinin İncelenmesi ve Lignin Peroksidazın İzolasyonu. Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Biyokimya Bölümü, İzmir.1998.
- [13] Kumar, A, Gautam, A. ve Dutt, D. Biotechnological Transformation of Lignocellulosic Biomass in to Industrial Products: An Overview. Advances inBioscience and Biotechnology.2016; 7, 149-168.

- [14]Menon, V. and Rao, M. Trends in Bioconversion of Lignocellulose: Biofuels, Platform Chemicals & Biorefinery Concept, *Prog. Energ. Combust.* 2012; 38, 522-550.
- [15] Işıkgör, F.H, Becer, R. Lignocellulosic Biomass: A Sustainable Platform for the Production of Bio-based Chemicals and Polymers. *Polymer Chemistry*, 2015; 6, 4497.
- [16]Foster, B. L, Dale, B. E, Doran-Peterson, J. B. Enzymatic hydrolysis of ammonia-treated sugar beet pulp. In *Twenty-Second Symposium on Biotechnology for Fuels and Chemicals* pp. 269-282. Humana Press, Totowa, NJ. 2001.
- [17]Maurya, D. P, Singla, A. ve Negi, S. An Overview of Key Pretreatment Processes for Biological Conversion of Lignocellulosic Biomass to Bioethanol. *3 Biotech.* 2015; 5, 597-609.
- [18]Lee Y.J. Oxidation Of Sugarcane Bagasse Using A Combination of Hypochlorite and Peroxide, Master's Thesis, Department of Food Science, Graduate Faculty of the Louisiana State University and Agricultural and Mechanical College, 2005.
- [19]Gaspar, M, Kalman, G, Reczey, K. Corn fiber as a raw material for hemicellulose and ethanol production, *Process Biochemistry.*2007;42, 1135-1139.
- [20]Kurakake M, Ouchi K, Kisaka W. Production of L-Arabinose And Xylose from Corn Hull And Bagasse, *J. Appl. Glycosci.* 2005; 52, 281–285.
- [21] Yılmaz, H. Hemicellulose Extraction From Agro-Food Industrial Wastes And its Application In Foods. Master's Thesis, Middle East Technical University The Graduate School Of Natural And Applied Sciences, Ankara. Türkiye. 2014.
- [22] Fitzpatrick, M, Champagne, P, Cunningham, M. Whitney, R. A Biorefinery Processing Perspective: Treatment of Lignocellulosic Materials for the Production of Value-Added Products. *Bioresource Technology.* 2010; 101, 8915-8922.

- [23]Harper, J.M. Food extruders and their applications. In American Association of Cereal Chemists, Inc. Extrusion Cooking.1989; 1-17.
- [24]Bauser, M, Sauer, G, Siegert, K. *Extrusion*. Materials Park, OH: ASM International.2006.
- [25] Maskan, M. Advances in food extrusion technology. Boca Raton, FL: CRC Press.2016.
- [26] Vardin, H. ve Tay, A. Tahıl ürünlerinin değerlendirilmesinde extruderler. Gıda.2002; 9, 58-62.
- [27]Sánchez, O.J., Cardona, C.A. Trends in biotechnological production of fuel ethanol from different feedstocks. Bioresour. Technol. 2008; 99, 5270–5295.
- [28]Singkhornart, S, Lee, S. G, Ryu, G. H. Influence of twin-screw extrusion on soluble arabinoxylans and corn fiber gum from corn fiber. Journal of the Science of Food and Agriculture. 2013; 93 (12), 3046-3054.
- [29]De Vrije, T, de Haas, G. G., Tan, G. B, Keijsers, E. R. P., Claassen, P. A. M. Pretreatment of Miscanthus for hydrogen production by *Thermotoga elfii*. Int. J. Hydrog. Energy. 2002; 27,1381–1390.
- [30] Chen, W. H, Xu, Y. Y, Hwang, W. S, Wang, J. B. Pretreatment of rice straw using an extrusion/extraction process at bench-scale for producing cellulosic ethanol. Bioresour. Technol. 2011. 102, 10451–10458.
- [31]Zhang, S.J, Keshwani, D.R, Xu, Y.X. Hanna, M.A. Alkali combined extrusion pretreatment of corn stover to enhance enzyme saccharification. Ind. Crops Prod. 2012. 37, 352–357.
- [32]Duque A, Manzanares, P, Ballesteros I, Negro M. J, Oliva J.M, Gonzalez A, Ballesteros M. 2011. Extrusion Process For Barley Straw Fractionation.

- [33]Liu C, van der Heide E, Wang H.S, Li B, Yu G, Mu, X.D. Alkaline twin-screw extrusion pretreatment for fermentable sugar production. *Biotechnol. Biofuels*. 2013; 6, doi:10.1186/1754-683 4-6-97.
- [34]Zheng Z, Choo K, Rehmann L. Xylose removal from lignocellulosic biomass via a twin-screw extruder: The effects of screw configurations and operating conditions. *Biomass and Bioenergy*. 2016. 88, 10–16.
- [35] Stahl B. Zens, Y, Boehm, G. Prebiotics with Special Emphasis on Fructo-, Galacto-, Galacturono-, and Xylooligosaccharides. *Comprehensive Glycoscience*. 2007. 725-742. doi:10.1016/b978-044451967-2/00154-9.
- [36]Collins T, Gerday C, Feller G. Xylanases, xylanase families and extremophilic xylanases, *FEMS Microbiology Reviews*. 2005. 29, 3 - 23.
- [37] Aygan A, Haloalkalofil *Bacillus* Sp. İzolasyonu, Amilaz, Selülaz Ve Ksilanaz Enzimlerinin Üretimi, Karakterizasyonu Ve Biyoteknolojik Uygulamalarda Kullanılabilirliği. Yüksek lisans tezi. Türkiye. 2008.