



Araştırma Makalesi

**Farklı Seyreltik Sodyum Hidroksit Ön İşlem Metotlarının Kargı Kamışı (*Arundo donax* L.) Bitkisinden Fermente Olabilir Şeker ve Etanol Üretimine Etkileri**

Recep İrfan NAZLI<sup>1</sup>

**ÖZ**

Bu çalışma 5 farklı seyreltik sodyum hidroksit (NaOH) ön işlem metodunun (%1.0, 1.5, 2.0, 2.5 ve 3.0) kargı kamışı bitkisinden biyoetanol üretimine etkilerini araştırmak amacıyla yürütülmüştür. Ön işlem metotları otoklav koşullarında 121 °C'de ve 30 dakika süreyle yürütülmüştür. Araştırmada en yüksek indirgen şeker verimi %2.5 NaOH ön işlem metodundan elde edilmesine karşın, yüksek katı veriminden dolayı en yüksek teoriksel etanol verimi %1.0 NaOH ön işlem metodundan elde edilmiştir. Bu sonuçlar, araştırmada test edilen ön işlem metotları içerisinde % 1.0 NaOH ön işlem metodunun kargı kamışı bitkisinden sürdürülebilir bir biyoetanol üretimi gerçekleştirmek için öncelikli olarak tercih edilebileceğini göstermektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Sodyum hidroksit, ön işlem, kargı kamışı, etanol, şeker

**The Effects of Different Dilute Sodium Hydroxide Pretreatment Methods on Fermentable Sugar and Ethanol Production from Giant Reed (*Arundo donax* L.)**

**ABSTRACT**

This study was conducted to investigate the effects of five different dilute sodium hydroxide (NaOH) pretreatment methods (%1.0, 1.5, 2.0, 2.5 ve 3.0) on bioethanol production from giant reed. Pretreatments were performed in an autoclave at 121 °C for 30 min. Despite the highest reducing sugar yield were obtained from 2.5% NaOH pretreatment method, 1.0% NaOH pretreatment method achieved the highest theoretical ethanol yield. These results shows that 1.0% NaOH pretreatment method can be preferred primarily to achieve a sustainable bioethanol production from giant reed, among the pretreatment methods tested in the study.

**Keywords:** Sodium hydroxide, pretreatment, giant reed, ethanol, sugar

ORCID ID (Yazar sırasına göre)  
0000-0002-6416-6603

---

Yayın Kuruluna Geliş Tarihi: 24.03.2021

Kabul Tarihi: 17.04.2021

<sup>1</sup>Çukurova Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü, Sarıçam, Adana, Türkiye

E-posta: inazli@cu.edu.tr

## Farklı Seyreltik Sodyum Hidroksit Ön İşlem Metotlarının Kargı Kamışı (*Arundo donax* L.) Bitkisinden Fermente Olabilir Şeker ve Etanol Üretimine Etkileri

### Giriş

Fosil yakıt rezervlerinin giderek azalması ve bu yakıtların yoğun kullanımından kaynaklanan sera gazı salınımlarının küresel iklim değişikliğine neden olması 21. yüzyılda biyoyakıtlar gibi çevre dostu ve yenilenebilir enerji kaynaklarına olan ilginin tekrar artmasına yol açmıştır (Nazlı, 2017). Bu bağlamda, yenilenebilir enerji kaynaklarından birisi olan biyoetanolün ulaşımında benzine alternatif olarak kullanılması petrole olan bağımlılığı ve sera gazı salınımlarını azaltmaktadır (Khullar ve ark., 2013). Biyoetanol, günümüzün küresel enerji krizi ve kötüye giden çevre kalitesi ile mücadelede umut verici bir geleceğe sahip olan yenilenebilir ve sürdürülebilir bir sıvı biyoyakıttır (Aditiya ve ark., 2016).

Biyoetanol günümüzde küresel taşımacılık sektöründe en çok tüketilen biyoyakıt türü olmakla birlikte, genellikle benzinle harmanlanarak kullanılmaktadır (Nazlı, 2020). Günümüzde küresel biyoetanol üretimi için geçerli olan mevcut endüstriyel süreçlerde hammadde olarak çoğunlukla şeker kamışı ve mısır gibi şeker veya nişasta bazlı bitkiler kullanılmaktadır. Fakat bu bitkilerin gıda dışı kullanımları, insanların açlık ve yetersiz beslenmeden muzdarip olduğu bir dünyada etik sorunları da beraberinde getirmektedir (Pesce ve ark., 2020). Ayrıca bu durum gıda fiyatlarında ciddi bir artışa neden olmakla birlikte insanların kaliteli ve güvenilir gıdaya ulaşımını da zorlaştırmaktadır. Bu nedenle küresel biyoetanol üretiminde gıda hammaddeleri yerine, gıda ve yakıt üretimi arasında rekabet oluşturmayan alternatif kaynakların kullanılması sürdürülebilir gıda güvenliği açısından hayati bir önem taşımaktadır (Kärcher ve ark., 2015). Bu bağlamda, 2. nesil olarak da adlandırılan ve genellikle tarımsal atıklar (tahıl samanı, yerfıstığı kabuğu vb.), çok yıllık enerji bitkileri (miskantus, dallı darı, kargı kamışı vb.) ve odunsu bitkiler gibi yüksek miktarda lignoselülozik materyal içeren biyokütlelerden elde edilen lignoselülozik biyoetanol üretimi en sürdürülebilir ve çevre dostu biyoetanol üretim yöntemi olarak kabul edilmektedir. Ayrıca bu yöntem sera gazı salınımlarında %85'e kadar

azalmaya yol açarak küresel iklim değişikliği ile mücadelede önemli bir fayda sağlamaktadır (Keshav ve ark., 2018).

Lignoselülozik biyokütlenin kuru ağırlığının yaklaşık % 90'ı selüloz, hemiselüloz ve lignin olarak bilinen hücre duvarı bileşenlerinden oluşmaktadır (Haq ve ark., 2016). Lignoselülozik biyokütleden etanol üretebilmek için selüloz ve hemiselülözün fermantasyon aşamasından önce fermente olabilir şeker formlarına (glukoz, ksiloz, arabionoz, galaktoz vb.) enzimatik veya asit hidroliz yoluyla dönüştürülmesi gerekmektedir (Aita ve ark., 2011). Buna karşın, lignin-hemiselüloz kompleksinin varlığı, selülözün kristal yapısı ve ligninin karmaşık yapısından dolayı yapısal bozulmalara karşı oldukça dirençli olması biyokütleyi enzimatik ayrışmaya karşı oldukça dirençli hale getirerek fermente olabilir şeker üretiminde önemli bir düşüşe neden olmaktadır (Aita ve ark., 2011; Cao ve ark., 2012; Lainez ve ark., 2018). Ayrıca ligninin karbonhidrat polimerlerine (selüloz ve hemiselüloz) hidrojen ve bazı kovalent bağlarla sıkıca bağlanmış olmasından dolayı enzimatik hidroliz esnasında enzimlerin selüloz ve hemiselüloze ulaşmasını engelleyen fiziksel bir bariyer oluşturmaktadır (Qing ve Wyman, 2011; Barcelos ve ark., 2013). Bu nedenle, lignoselülozik biyokütlenin enzimatik sindirilebilirliğini artırmak için hidroliz işleminden hemen önce ligninin selüloz ve hemiselülozle ilişkisinin kesilmesi, selülözün kristallik derecesinin azaltılması ve hücre duvarının dirençli yapısını tamamen parçalanarak biyokütle gözenekliliğinin artırılması için bir ön işlem adımı mutlak suretle gerekmektedir (Santos ve ark., 2018; Nishimura ve ark., 2018). Bugüne kadar mekanik, fiziko-kimyasal, kimyasal, termal, biyolojik ve bunların kombinasyonları da dahil olmak üzere bir çok ön işlem metodu geliştirilmiştir (Aita ve ark., 2011). Bunlar içerisinde, genellikle seyreltik asit (sülfürik asit, hidroklorik asit) ve alkali (sodyum hidroksit, kireç, amonyak) uygulamaları ile yapılan kimyasal ön işlem yöntemleri ekonomik ve kolay uygulanabilir olmalarından ötürü çok fazla tercih edilmektedirler (Pandey ve ark., 2000; Barcelos ve ark., 2013). Seyreltik sodyum hidroksit (NaOH) ön işlemi selülözün iç yüzey alanını arttırmakta ve polimerizasyon ve kristallik derecesini düşürerek

## Farklı Seyreltik Sodyum Hidroksit Ön İşlem Metotlarının Kargı Kamışı (*Arundo donax* L.) Bitkisinden Fermente Olabilir Şeker ve Etanol Üretimine Etkileri

lignin yapısının bozulmasına neden olmaktadır (Barcelos ve ark., 2013). Bu durum lignin miktarının büyük oranda azalmasını ve lignin bariyerinin ortadan kalkmasını sağlayarak hidroliz enzimlerinin selüloz ve hemiselüloze daha kolay erişebilmelerine imkan tanır (Xu ve ark., 2010). İlave olarak, seyreltik asit ön işlemi ile kıyaslandığında, seyreltik NaOH ön işleminde fermantasyon mikroorganizmaları üzerinde toksik etkiye neden olan inhibitör bileşik (furfural, HMF, asetik asit vb.) oluşumu genellikle daha düşük seviyede kalmaktadır (Chen ve ark., 2012; Menezes ve ark., 2014).

Kargı kamışı (*Arundo donax* L.) buğdaygiller (*Poacea*) familyasına ait çok yıllık bir sıcak mevsim bitkisidir. Asya orijinli bir bitki olmasına karşın Akdeniz iklim kuşağı altındaki ülkelerin de doğal bir türü olduğu düşünülmektedir (Rossa ve ark., 1998; Boose ve Holt, 1999). Ülkemizde Ege ve Akdeniz Bölgesi'nde, özellikle sahil kuşağında bataklık, dere, ırmak, göl vb. su kaynaklarının olduğu yerlerde doğal vejetasyonda yoğunlukla bulunmakla birlikte Çorum'un Kargı ilçesinde doğal olarak yayılış göstermektedir (Kuşvuran ve ark., 2019). Bir C<sub>3</sub> bitkisi olan kargı kamışı yüksek biyokütle verimi ve adaptasyon kabiliyeti, hızlı büyüme özelliği ve düşük girdi gereksinimi nedeniyle özellikle Akdeniz ülkelerinde lignoselülozik biyoetanol üretiminde kullanılabilecek umut verici bir hammadde olarak kabul edilmektedir (Lemoes e Silva ve ark., 2018; Nazlı ve ark., 2018). Bu çalışma farklı seyreltik NaOH ön işlem uygulamalarının kargı kamışı bitkisinin fermente olabilir şeker ve etanol verimlerine etkilerini araştırmak amacıyla yürütülmüştür.

### Materyal ve Yöntem

**Materyal:** Araştırmada hammadde olarak kullanılan kargı kamışı biyokütlesi Ç.Ü. Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü Araştırma ve Uygulama Alanı'nda bulunan tarla denemesinden 2019 yılı Kasım ayı içerisinde hasat edilmiştir. Hasattan hemen sonra 1000 gr ağırlığındaki biyokütle örneği 105 °C'de ağırlığı sabit kalıncaya kadar kurutma dolabında bekletilmiş, ardından ön işlem uygulamalarında kullanılmak üzere 1 mm

çapında eleklerle sahip bitki öğütme değirmeninde öğütülmüştür.

**Yöntem:** Seyreltik NaOH çözeltilerini hazırlamak için ilk olarak 100 ml saf suya % 1.0, 1.5, 2.0, 2.5 ve 3.0 konsantrasyonlarında NaOH eklenmiş ve ardından 10 gr ağırlığındaki kuru biyokütle örnekleri hazırlanan bu çözeltilere karıştırılmıştır. Elde edilen karışımlar otoklavda 121 °C'de 30 dakika süreyle bekletilerek ön işlem uygulamalarını tamamlanmıştır. Otoklavdan çıkarılan örnekler oda sıcaklığına kadar soğutulduktan sonra katı biyokütle sıvı kısımdan filtreleme yöntemi ile ayrıştırılmış ve saf su ile pH nötr oluncaya kadar yıkanmıştır. Son olarak elde edilen biyokütle örnekleri 105 °C'de ağırlığı sabit kalıncaya kadar etüvde kurutulmuştur (Cao ve ark., 2012).

Hammadde ve ön işlem uygulamalarından elde edilen örneklerin hücre duvarı kompozisyonu (lignin, selüloz ve hemiselüloz) Van Soest (1963) yöntemine uygun olarak belirlenmiştir. Ayrıca, katı verimi ve lignin giderimi aşağıdaki eşitliklere uygun olarak hesaplanmıştır (Yan ve ark., 2020):

Katı verimi (%):  $\frac{[\text{Ön işlenmiş biyokütle (g)} / \text{Hammadde (g)}] \times 100}{}$

Lignin giderimi (%):  $100 - \frac{[\text{Ön işlenmiş biyokütle (g)} \times \text{Ön işlemeden sonraki lignin (\%)}] / [\text{Hammadde (g)} \times \text{Hammadedeki lignin (\%)}] \times 100}{}$

2 gr ağırlığındaki kurutulmuş ön işlem ve ön işleme tabii tutulmamış kontrol örnekleri 100 ml sodyum sitrat tamponu (50 mM, pH: 4.8) içerisine karıştırılmış ve ardından pH'ın tekrar 4.8'e düşürülmesi için karışım içerisine birkaç damla hidroklorik asit (HCl) damlatılmıştır (Cao ve ark., 2012). Selüloz ve hemiselülozun hidrolizi için "Accellerase 1500" enzimi 0.24 ml/g biyokütle dozunda kullanılmıştır (Choudhary ve ark., 2012). Son olarak, mikrobiyal kirliliği önlemek için çözelti içerisine % 0.02 konsantrasyonunda sodyum azit eklenmiştir (Niemi ve ark., 2017). Enzim yüklemesinin ardından, hazırlanan örnekler 50 °C'de 150 rpm çalkalama hızında 72 saat süreyle su banyosunda inkübe edilerek enzimatik hidroliz tamamlanmıştır. Enzimatik hidroliz sonrası süzme işlemi yapılarak çözelti katı

## Farklı Seyreltik Sodyum Hidroksit Ön İşlem Metotlarının Kargı Kamışı (*Arundo donax* L.) Bitkisinden Fermente Olabilir Şeker ve Etanol Üretimine Etkileri

haldeki biyokütle atıklarından arındırılmıştır. İndirgen şeker analizleri için her bir örnekten yaklaşık 20 ml örnek alınarak -20 °C'de muhafaza edilmiştir. Toplam indirgen şeker miktarı (mg/g) 3,5-dinitrosalisilik asit (DNS) yöntemine göre belirlenmiştir (Miller, 1959). Son olarak, enzimatik hidroliz ve teorik etanol verimleri aşağıdaki eşitliklere uygun olarak hesaplanmıştır (Chen ve ark., 2007; Pesce ve ark., 2020).

Enzimatik hidroliz verimi (%):  $[\text{İndirgen şeker verimi (mg/g)} \times 0.9] / [\text{Toplam polisakkarit (mg)}] \times 100$

Teorik Etanol Verimi (mg/g hammadde):  $\text{Katı verimi (\%)} \times \text{İndirgen şeker verimi (mg/g)} \times 0.511$

0.9 ve 0.511 sırasıyla şekerin polisakkaritlere ve etanole dönüşüm faktörlerini ifade etmektedir.

**İstatistiksel Analiz:** Araştırmaya konu olan deneysel çalışma tesadüf parselleri deneme desenine göre 3 tekrarlamalı olarak yürütülmüştür. Araştırmadan elde edilen

veriler JMP 7.0 istatistik paket programı kullanılarak varyans analizine tabii tutulmuş ve ortalamalar arası karşılaştırmalarda EGF testi kullanılmıştır.

### Bulgular ve Tartışma

Araştırmada incelenen tüm parametreler ön işlem metotlarından önemli düzeyde etkilenmiştir.

Ön işlem uygulamaları esnasında lignin, selüloz ve hemiselülozün bozulmasından kaynaklı olarak bir miktar kuru madde kaybı meydana gelmektedir. Katı verimi toplam biyokütleden kuru madde kayıplarının çıkarılmasıyla elde edilen değeri ifade etmektedir. Araştırmada farklı dozlarda NaOH ön işlem metotlarından elde edilen katı verimleri %44.6–64.0 arasında değişmiş olup, en yüksek değer %1.0, en düşük değer ise %3.0 NaOH ön işlem metodundan elde edilmiştir (Çizelge 1). NaOH dozlarındaki her bir artış katı veriminde önemli düzeyde azalmaya neden olmuştur. Benzer olarak, Wang ve ark. (2010) köpek dişi ayrığı, Xu ve Cheng, (2011) dallı darı, Jiang ve ark., (2016) ise kargı kamışı bitkisinde artan NaOH ön işlem dozlarının katı verimini önemli düzeyde azalttığını bildirmişlerdir.

Çizelge 1. Farklı dozlarda NaOH ön işlem metotlarının kargı kamışı bitkisinin biyokütle kompozisyonuna etkisi

NaOH Dozları (%)	Katı verimi (%)	Selüloz (%)	Hemiselüloz (%)	Lignin (%)	Lignin giderimi (%)
Kontrol	-	41.0 E	20.2 A	10.27 A	-
1.0	64.0 A	65.5 D	13.0 B	7.63 B	52.4 E
1.5	55.7 B	67.6 C	10.7 B	7.14 C	61.3 D
2.0	50.3 C	69.8 B	10.6 B	6.4 D	68.6 C
2.5	46.2 D	72.1 A	10.3 B	5.3 E	76.3 B
3.0	44.6 E	72.9 A	9.9 B	4.7 F	79.6 A
Ortalama	52.16	64.8	12.5	6.9	67.6
EGF (0.05)	1.46	2.02	4.01	0.45	2.40

Araştırmada farklı dozlarda NaOH ön işlem metotları ve kontrol uygulamasından elde edilen selüloz oranı değerleri %41.0–72.9 arasında değişmiştir (Çizelge 1). En yüksek değer %3.0 NaOH ön işlem metodundan edilirken, bunu önemsiz farkla %2.5 NaOH ön

işlem metodu izlemiştir. En düşük değer ise kontrol uygulamasından elde edilmiştir. Araştırmada uygulanan tüm ön işlem metotları kontrole kıyasla selüloz oranını önemli düzeyde artırmış ve bu artışlar yaklaşık olarak %60–78 arasında değişmiştir. Uygun koşullarda yapılan

## Farklı Seyreltik Sodyum Hidroksit Ön İşlem Metotlarının Kargı Kamışı (*Arundo donax* L.) Bitkisinden Fermente Olabilir Şeker ve Etanol Üretimine Etkileri

seyreltik NaOH ön işlem uygulamalarında biyokütlerdeki selülozun glikoz gibi monosakkaritlere hidrolizi çok sınırlı seviyelerde kalmakta fakat lignin büyük oranda, hemiselülozun ise önemli bir kısmı daha küçük ve basit yapılu moleküllere ayrılmaktadır (Barcelos ve ark., 2013). Sonuç olarak, aslında ön işleme uğramış biyokütlerdeki selüloz miktarı hammadde ile hemen hemen aynı olmasına rağmen, lignin ve hemiselüloz miktarında meydana gelen azalmalardan ötürü ön işleme uğramış biyokütlerdeki selüloz oranı hammaddeye kıyasla önemli düzeyde yüksek olmaktadır. Araştırmadan elde ettiğimiz sonuçlara benzer olarak, önceki çalışmalar seyreltik NaOH ön işlem metodunun tatlı sorgum bagası (Cao ve ark., 2012), fil otu (Eliana ve ark., 2014), kargı kamışı (Lemons e Silva ve ark., 2015) ve miskantus (Michalska ve ark., 2015) bitkilerinde selüloz oranını önemli düzeyde arttırdığını bildirmişlerdir.

Araştırmada farklı dozlarda NaOH ön işlem metodları ve kontrol uygulamasından elde edilen hemiselüloz oranı değerleri %9.9–20.2 arasında değişmiştir (Çizelge 1). En yüksek değer kontrol uygulamasından, en düşük değer ise %3.0 NaOH ön işlem metodundan elde edilmiştir. Araştırmada uygulanan tüm ön işlem metodları kontrole kıyasla hemiselüloz oranını önemli düzeyde azaltmış ve bu azalmalar yaklaşık olarak %36–51 arasında değişmiştir. Fakat uygulanan NaOH ön işlem dozları arasında hemiselüloz oranı bakımından istatistik açıdan önemli düzeyde bir fark meydana gelmemiştir. Seyreltik NaOH işlem uygulamaları esnasında biyokütlerdeki hemiselüloz fraksiyonlarının önemli bir kısmı bir monosakkarit olan ksiloza dönüşmektedir. Bu durum her ne kadar hidroliz aşamasında üretilebilecek toplam potansiyel şeker verimini düşürse de, aslında lignin-hemiselüloz kompleksinin büyük oranda ortadan kaldırılmasından kaynaklı olarak hidroliz enzimleri selüloza daha rahat ulaşırlar ve sonuç olarak enzimatik sindirilebilirlik artar (Hendricks ve Zeeman 2009; Zhang ve ark., 2010). Araştırmadan elde ettiğimiz sonuçlara benzer olarak, Haque ve ark. (2013) 4 farklı seyreltik NaOH ön işlem dozunun (%0.75, 1.5,

2.0 ve 2.5) miskantus bitkisinin hemiselüloz oranını önemli düzeyde azalttığını ve bu azalmaların %14–61 arasında değiştiğini bildirmişlerdir.

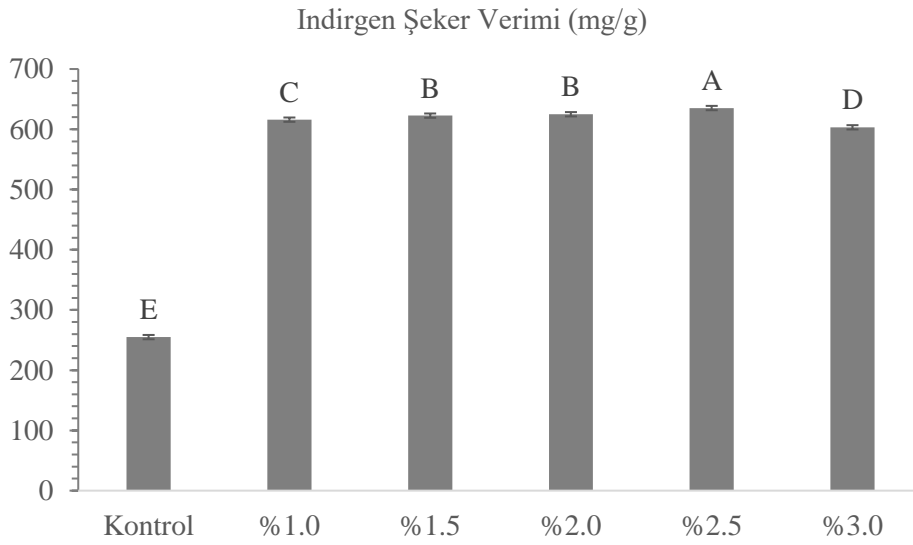
Araştırmada farklı dozlarda NaOH ön işlem metodları ve kontrol uygulamasından elde edilen lignin oranı değerleri %4.7–10.27 arasında değişmiştir (Çizelge 1). En yüksek değer kontrol uygulamasından, en düşük değer ise hemiselüloz oranında olduğu gibi %3.0 NaOH ön işlem metodundan elde edilmiştir. NaOH dozlarındaki her bir artışta lignin oranı önemli düzeyde azalmış ve bu azalmalar %26–54 arasında değişmiştir. Diğer taraftan, araştırmada farklı dozlarda NaOH ön işlem metodlarından elde edilen lignin giderimi değerleri %52.4–79.6 arasında değişmiş olup, en yüksek değer %3.0, en düşük değer ise %1.0 NaOH ön işlem metodlarından elde edilmiştir. Lignin oranından farklı olarak, NaOH dozlarındaki her bir artışta lignin giderimi değerleri önemli düzeyde artmıştır. Bu sonuçlar büyük olasılıkla alkali ön işlem uygulamalarının lignin yapısını bozmaları ve lignin ve polisakkaritler arasındaki hidrojen ve diğer kovalent bağları parçalayarak lignin fraksiyonlarının büyük kısmını biyokütlerden uzaklaştırmaları ile ilişkilidir (Si ve ark., 2015; Phitsuwan ve ark., 2016). Araştırmadan elde ettiğimiz sonuçlara benzer olarak, önceki çalışmalarda (Cheng ve ark., 2010; Wang ve ark., 2010; Xu ve ark., 2010; Xu ve Cheng, 2011; Haque ve ark., 2013; Umagiliyage ve ark., 2015; Jung ve ark., 2020) da seyreltik NaOH ön işlem metodunun farklı bitkilerde lignin oranını önemli düzeyde azalttığını ve buna bağlı olarak artan NaOH dozlarının lignin giderimini önemli düzeyde arttırdığını bildirilmiştir.

Araştırmada farklı dozlarda NaOH ön işlem metodları ve kontrol uygulamasından elde edilen indirgen şeker verimleri 254.9–635.2 mg/g arasında değişmiştir (Şekil 1). En yüksek değer %2.5 NaOH ön işlem metodundan, en düşük değer ise kontrol uygulamasından elde edilmiştir. Araştırmada uygulanan tüm NaOH ön işlem dozları kontrol uygulamasına göre kargı kamışı bitkisinden elde edilen indirgen şeker verimini önemli düzeyde arttırmıştır. Bu durum alkali ön işlem uygulamalarının biyokütlerdeki lignin oranı ve selülozun kristallik derecesini azaltması ile

## Farklı Seyreltik Sodyum Hidroksit Ön İşlem Metotlarının Kargı Kamışı (*Arundo donax* L.) Bitkisinden Fermente Olabilir Şeker ve Etanol Üretimine Etkileri

ilişkili olabilir (Hendriks ve Zeeman, 2009; Barcelos ve ark., 2013). Benzer olarak, Wang ve ark., (2012) dallı darı, Jiang ve ark., (2016) kargı kamışı, Jung ve ark., (2020) ise miskantus bitkisinde farklı dozlarda seyreltik NaOH ön işlem metotlarının enzimatik hidroliz sonucu elde edilen şeker verimini önemli düzeyde arttırdığını bildirmişlerdir. Buna karşın, %3.0 NaOH ön işlem metodu tüm uygulamalar arasında istatistiki açıdan en düşük lignin oranı ve en yüksek lignin giderimi sağlamasına rağmen, diğer NaOH ön işlem

metotlarından önemli düzeyde daha düşük indirgen şeker verimine yol açmıştır. Benzer olarak, Wang ve ark. (2010) köpek dişi ayrığı bitkisinde %3.0 NaOH ön işlem metodunun %1.0 ve %2.0 NaOH ön işlem metotlarından önemli düzeyde daha düşük indirgen şeker verimi sağladığını bildirmişlerdir. Bu sonucun ortaya çıkmasında, artan alkali dozlarının fermente olabilir şeker üretimini düşüren inhibitör bileşik oluşumuna yol açması etkili olmuş olabilir (Kaur ve Phutela, 2016).

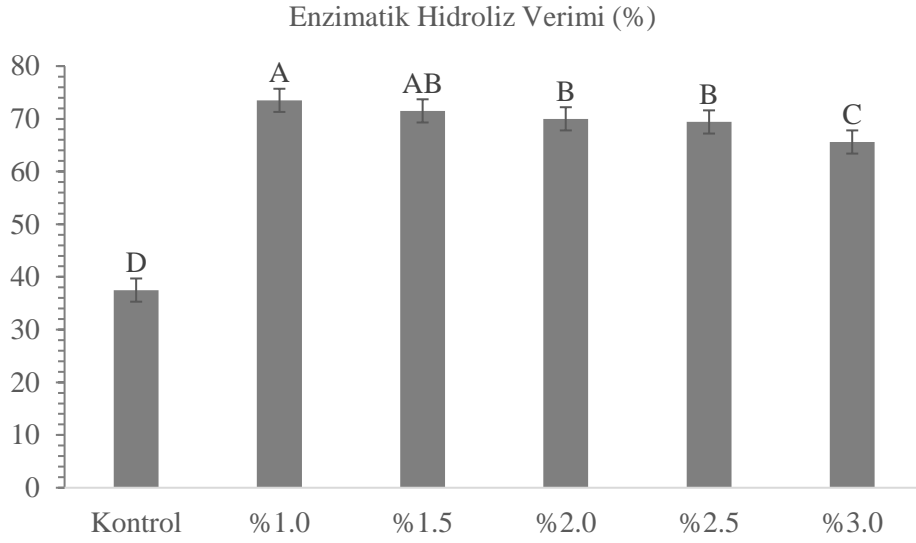


Şekil 1. Farklı dozlarda NaOH ön işlem metotlarının enzimatik hidroliz sonucu kargı kamışı bitkisinden elde edilen toplam indirgen şeker verimine etkisi

Araştırmada farklı dozlarda NaOH ön işlem metotları ve kontrol uygulamasından elde edilen enzimatik hidroliz verimi değerleri %37.5–73.5 arasında değişmiştir (Şekil 2). En yüksek değer %1.0 NaOH ön işlem metodundan elde edilmiş olup, bunu önemsiz farkla %1.5 NaOH ön işlem metodu izlemiştir. En düşük değer ise kontrol uygulamasından elde edilmiştir. İndirgen şeker verimindeki artışa rağmen, NaOH dozları arttıkça enzimatik

hidroliz veriminde azalma eğilimi gözlenmiştir. Bu durum farklı dozlardaki NaOH ön işlem uygulamaları sonucu biyokütledeki selüloz ve hemiselüloz oranlarında meydana gelen değişikliklerle ilişkili olabilir. Araştırmadan elde ettiğimiz sonuçlardan farklı olarak Jiang ve ark. (2016) kargı kamışı, Jung ve ark. (2020) ise miskantus bitkilerinde artan seyreltik NaOH ön işlem dozlarının enzimatik hidroliz verimini önemli düzeyde arttırdığını bildirmişlerdir.

## Farklı Seyreltik Sodyum Hidroksit Ön İşlem Metotlarının Kargı Kamışı (*Arundo donax* L.) Bitkisinden Fermente Olabilir Şeker ve Etanol Üretimine Etkileri

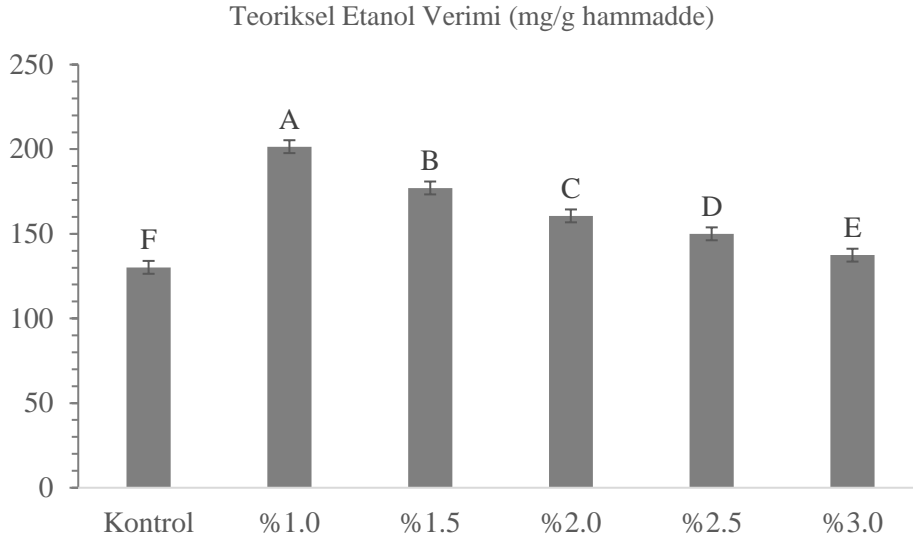


Şekil 2. Farklı dozlarda NaOH ön işlem metotlarının kargı kamışı bitkisinin enzimatik hidroliz verime etkisi

Araştırmada farklı dozlarda NaOH ön işlem metotları ve kontrol uygulamasından elde edilen teoriksel etanol verimi değerleri 130.2–201.5 mg/g hammadde arasında değişmiştir (Şekil 3). En yüksek değer enzimatik hidroliz veriminde olduğu gibi %1.0 NaOH ön işlem metodundan elde edilirken, en düşük değer ise kontrol uygulamasından elde edilmiştir. Araştırmada uygulanan tüm seyreltik NaOH ön işlem metotları teoriksel etanol verimini önemli düzeyde arttırmış ve bu artışlar yaklaşık olarak %6–55 arasında değişmiştir. Araştırmadan elde ettiğimiz sonuçlara benzer olarak, Cao ve ark. (2012) seyreltik NaOH ön işlem metodunun tatlı sorgum bagasından elde

edilen etanol verimini kontrol uygulamasına kıyasla önemli düzeyde arttırdığını bildirmişlerdir. Buna karşın, indirgen şeker verimindeki artışa rağmen, NaOH ön işlem dozlarındaki artış, katı verimindeki azalmadan kaynaklı olarak teoriksel etanol verimini önemli düzeyde azaltmıştır. Bu durum, ön işlem uygulamaları esnasında meydana gelen kuru madde kayıplarının enerji bitkilerinden fermantasyon sonucu elde edilebilecek toplam potansiyel etanol verimini sınırlayan en önemli parametrelerden biri olduğunu ile ilgili görüşleri (Zhu ve ark., 2005; Cao ve ark., 2012) doğrulamaktadır.

## Farklı Seyreltik Sodyum Hidroksit Ön İşlem Metotlarının Kargı Kamışı (*Arundo donax* L.) Bitkisinden Fermente Olabilir Şeker ve Etanol Üretimine Etkileri



Şekil 3. Farklı dozlarda NaOH ön işlem metotlarının kargı kamışı bitkisinin teoriksel etanol verime etkisi

### Sonuç

Araştırmada en yüksek selüloz ve lignin giderimi ve en düşük lignin oranı %3.0 NaOH ön işlem metodundan, en yüksek indirgen şeker verimi %2.5 NaOH ön işlem metodundan ve en yüksek katı, enzimatik hidroliz ve teoriksel etanol verimleri ise %1.0 NaOH ön işlem metodundan elde edilmiştir. Bu sonuçlar, araştırmada test edilen ön işlem metotları içerisinde %1.0 NaOH ön işlem metodunun kargı kamışı bitkisinden sürdürülebilir bir biyoetanol üretimi gerçekleştirmek için öncelikli olarak tercih edilebileceğini göstermektedir.

### Kaynaklar

Aditiya, H.B., Mahlia, T.M.I., Chong, W.T., Nur, H., Sebayang, A.H. (2016) Second generation bioethanol production: A critical review. Renewable and sustainable energy reviews 66:631-653.

Aita, G.A., Salvi, D.A., Walker, M.S. (2011) Enzyme hydrolysis and ethanol fermentation of dilute ammonia pretreated energy cane. Bioresource Technology 102:4444-4448.

Barcelos, C.A., Maeda, R.N., Betancur, G.J.V., Pereira, N. (2013) The essentialness of

delignification on enzymatic hydrolysis of sugar cane bagasse cellulignin for second generation ethanol production. Waste and Biomass Valorization 4:341-346.

Boose, A.B., Holt, J.S. (1999) Environmental effects on asexual reproduction in *Arundo donax*. Weed Research, 39:117-27.

Cao, W., Sun, C., Liu, R., Yin, R., Wu, X. (2012) Comparison of the effects of five pretreatment methods on enhancing the enzymatic digestibility and ethanol production from sweet sorghum bagasse. Bioresource Technology 111:215-221.

Chen, B.Y., Chen, S.W., Wang, H.T. (2012) Use of different alkaline pretreatments and enzyme models to improve low-cost cellulosic biomass conversion. Biomass and Bioenergy 39:182-191.

Chen, M., Xia, L., Xue, P. (2007) Enzymatic hydrolysis of corncob and ethanol production from cellulosic hydrolysate. International Biodeterioration & Biodegradation 59:85-89.

Cheng, Y.S., Zheng, Y., Yu, C.W., Dooley, T.M., Jenkins, B.M., Vander Gheynst, J.S. (2010) Evaluation of high solids alkaline pretreatment of rice straw. Applied



## Farklı Seyreltik Sodyum Hidroksit Ön İşlem Metotlarının Kargı Kamışı (*Arundo donax* L.) Bitkisinden Fermente Olabilir Şeker ve Etanol Üretimine Etkileri

- biochemistry and biotechnology 162:1768-1784.
- Choudhary, R., Umagiliyage, A.L., Liang, Y., Siddaramu, T., Haddock, J., Markevicius, G. (2012) Microwave pretreatment for enzymatic saccharification of sweet sorghum bagasse. *Biomass and Bioenergy* 39:218-226.
- Eliana, C., Jorge, R., Juan, P., Luis, R. (2014) Effects of the pretreatment method on enzymatic hydrolysis and ethanol fermentability of the cellulosic fraction from elephant grass. *Fuel* 118: 41-47.
- Haq, F., Ali, H., Shuaib, M., Badshah, M., Hassan, S.W., Munis, M.F.H., Chaudhary, H.J. (2016) Recent progress in bioethanol production from lignocellulosic materials: A review. *International Journal of Green Energy* 13:1413-1441.
- Haque, M.A., Barman, D.N., Kang, T.H., Kim, M.K., Kim, J., Kim, H., Yun, H.D. (2013) Effect of dilute alkali pretreatment on structural features and enhanced enzymatic hydrolysis of *Miscanthus sinensis* at boiling temperature with low residence time. *Biosystems engineering* 114:294-305.
- Hendricks, A.T.W., Zeeman, G. (2009) Pretreatments to enhance the digestibility of lignocellulosic biomass. *Bioresource Technology* 100:10-18.
- Jiang, D., Ge, X., Zhang, Q., Li, Y. (2016) Comparison of liquid hot water and alkaline pretreatments of giant reed for improved enzymatic digestibility and biogas energy production. *Bioresource technology* 216:60-68.
- Jung, W., Savithri, D., Sharma-Shivappa, R., Kolar, P. (2020) Effect of sodium hydroxide pretreatment on lignin monomeric components of *Miscanthus x giganteus* and enzymatic hydrolysis. *Waste and Biomass Valorization*, 11:5891-5900.
- Kärcher, M.A., Iqbal, Y., Lewandowski, I., Senn, T. (2015) Comparing the performance of *Miscanthus x giganteus* and wheat straw biomass in sulfuric acid based pretreatment. *Bioresource technology*, 180, 360-364.
- Kaur, K., Phutela, U.G. (2016) Enhancement of paddy straw digestibility and biogas production by sodium hydroxide-microwave pretreatment. *Renewable Energy* 92:178-184.
- Keshav, P.K., Banoth, C., Anthappagudem, A., Linga, V.R., Bhukya, B. (2018) Sequential acid and enzymatic saccharification of steam exploded cotton stalk and subsequent ethanol production using *Scheffersomyces stipitis* NCIM 3498. *Industrial Crops and Products* 125:462-467.
- Khullar, E., Dien, B.S., Rausch, K.D., Tumbleson, M.E., Singh, V. (2013) Effect of particle size on enzymatic hydrolysis of pretreated *Miscanthus*. *Industrial crops and products* 44:11-17.
- Kuşvuran, A., Kuşvuran, Ş., Nazlı, R. İ., Tansı, V. (2019) Kargı Kamışı (*Arundo donax* L.)'nda Tuz Stresinin Morfolojik ve Fizyolojik Özelliklere Etkisi. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi*, 29:233-241.
- Láinez, M., Ruiz, H.A., Castro-Luna, A.A., Martínez-Hernández, S. (2018) Release of simple sugars from lignocellulosic biomass of *Agave salmiana* leaves subject to sequential pretreatment and enzymatic saccharification. *Biomass and bioenergy* 118:133-140.
- Lemons e Silva, C.F., Artigas Schirmer, M., Nobuyuki Maeda, R., Araújo Barcelos, C., Pereira, N., (2015) Potential of giant reed (*Arundo donax* L.) for second generation ethanol production. *Electronic Journal of Biotechnology* 18:10-15.
- Lemões, J.S., e Silva, C.F.L., Avila, S.P.F., Montero, C.R.S., e Silva, S.D.D.A., Samios, D., Peralba, M.D.C.R. (2018) Chemical pretreatment of *Arundo donax* L. for second-generation ethanol production. *Electronic Journal of Biotechnology* 31:67-74.
- Menezes, E.G., do Carmo, J.R., Alves, J.G.L., Menezes, A.G., Guimarães, I.C., Queiroz,

## Farklı Seyreltik Sodyum Hidroksit Ön İşlem Metotlarının Kargı Kamışı (*Arundo donax* L.) Bitkisinden Fermente Olabilir Şeker ve Etanol Üretimine Etkileri

- F., Pimenta, C.J. (2014) Optimization of alkaline pretreatment of coffee pulp for production of bioethanol. *Biotechnology progress* 30:451-462.
- Michalska, K., Bizukojć, M., Ledakowicz, S. (2015) Pretreatment of energy crops with sodium hydroxide and cellulolytic enzymes to increase biogas production. *Biomass and Bioenergy* 80: 213-221.
- Miller, G.L., 1959. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Anal. Chem.* 31:426-428.
- Nazlı, R. İ. (2017) Akdeniz iklim koşullarında bazı çok yıllık buğdaygillerin (miskantus, dallı darı, kargı kamışı, yumrulu yem kanyaşı) enerji bitkisi olarak kullanım olanakları. Doktora Tezi. Çukurova Üniversitesi.
- Nazlı, R.I., Tansi, V., Öztürk, H.H., Kusvuran, A. (2018) *Miscanthus*, switchgrass, giant reed, and bulbous canary grass as potential bioenergy crops in a semi-arid Mediterranean environment. *Industrial Crops and Products* 125:9-23.
- Nazlı, R.I. (2020) Evaluation of different sweet sorghum cultivars for bioethanol yield potential and bagasse combustion characteristics in a semiarid Mediterranean environment. *Biomass and Bioenergy* 139:105624.
- Niemi, P., Pihlajaniemi, V., Rinne, M., Siika-aho, M. (2017) Production of sugars from grass silage after steam explosion or soaking in aqueous ammonia. *Industrial Crops and Products* 98: 93-99.
- Nishimura, H., Kamiya, A., Nagata, T., Katahira, M., Watanabe, T. (2018) Direct evidence for  $\alpha$  ether linkage between lignin and carbohydrates in wood cell walls. *Scientific reports* 8:1-11.
- Pandey, A., Soccol, C.R., Nigam, P., Soccol, V.T. (2000) Biotechnological potential of agro-industrial residues. I: sugarcane bagasse. *Bioresour. Technol* 74:69-80.
- Pesce, G.R., Fernandes, M. C., Mauromicale, G. (2020) Globe artichoke crop residues and their potential for bioethanol production by dilute acid hydrolysis. *Biomass and Bioenergy* 134:105471.
- Phitsuwan, P., Sakka, K., Ratanakhanokchai, K. (2016) Structural changes and enzymatic response of Napier grass (*Pennisetum purpureum*) stem induced by alkaline pretreatment. *Bioresource technology* 218:247-256.
- Rossa, B., Tuaers, A.V., Naidoo, G., Von Willert, D.J. (1998) *Arundo donax* L. (Poaceae) — a C3 species with unusually high photosynthetic capacity. *Botanica Acta*, 111:216-221.
- Qing, Q., Wyman, C.E. (2011) Supplementation with xylanase and  $\beta$ -xylosidase to reduce xylo-oligomer and xylan inhibition of enzymatic hydrolysis of cellulose and pretreated corn stover. *Biotechnology for biofuels* 4:1-12.
- Santos, C.C., de Souza, W., Sant'Anna, C., Brienzo, M. (2018) Elephant grass leaves have lower recalcitrance to acid pretreatment than stems, with higher potential for ethanol production. *Industrial Crops and Products* 111:193-200.
- Si, S., Chen, Y., Fan, C., Hu, H., Li, Y., Huang, J., Liao, H., Hao, B., Li, Q., Peng, L., Tu, Y., 2015. Lignin extraction distinctively enhances biomass enzymatic saccharification in hemicelluloses-rich *Miscanthus* species under various alkali and acid pretreatments. *Bioresource technology* 183:248-254.
- Umagiliyage, A.L., Choudhary, R., Liang, Y., Haddock, J., Watson, D.G. (2015) Laboratory scale optimization of alkali pretreatment for improving enzymatic hydrolysis of sweet sorghum bagasse. *Industrial Crops and Products* 74:977-986.
- Xu, J., Cheng, J.J., Sharma-Shivappa, R.R., Burns, J.C. (2010) Sodium hydroxide pretreatment of switchgrass for ethanol production. *Energy & Fuels* 24:2113-2119.

## Farklı Seyreltik Sodyum Hidroksit Ön İşlem Metotlarının Kargı Kamışı (*Arundo donax* L.) Bitkisinden Fermente Olabilir Şeker ve Etanol Üretimine Etkileri

- Xu, J., Cheng, J.J. (2011) Pretreatment of switchgrass for sugar production with the combination of sodium hydroxide and lime. *Bioresource technology* 102:3861-3868.
- Wang, Z., Keshwani, D.R., Redding, A.P., Cheng, J.J. (2010) Sodium hydroxide pretreatment and enzymatic hydrolysis of coastal Bermuda grass. *Bioresource technology*, 101:3583-3585.
- Wang, Z., Li, R., Xu, J., Marita, J.M., Hatfield, R.D., Qu, R., Cheng, J. J. (2012) Sodium hydroxide pretreatment of genetically modified switchgrass for improved enzymatic release of sugars. *Bioresource technology*, 110:364-370.
- Van Soest, P.J. (1963) Use of detergents in the analysis of fibrous feeds. 2. A rapid method for the determination of fiber and lignin. *Journal of the Association of Official Agricultural Chemists* 46:829-835.
- Yan, X., Cheng, J.R., Wang, Y.T., Zhu, M.J. (2020) Enhanced lignin removal and enzymolysis efficiency of grass waste by hydrogen peroxide synergized dilute alkali pretreatment. *Bioresource technology* 301:122756.
- Zhang, M., Wang, F., Su, R., Qi, W., He, Z. (2010) Ethanol production from high dry matter corncob using fed-batch simultaneous saccharification and fermentation after combined pretreatment. *Bioresource Technology* 101:4959-4964.
- Zhu, S., Wu, Y., Yu, Z., Liao, J., Zhang, Y. (2005) Pretreatment by microwave/alkali of rice straw and its enzymic hydrolysis. *Process Biochem.* 40:3082-3086.

**Farklı Seyreltik Sodyum Hidroksit Ön İşlem Metotlarının Kargı Kamışı (*Arundo donax* L.) Bitkisinden Fermente Olabilir Şeker ve Etanol Üretimine Etkileri**