

Özgün Araştırma/Original Article

Fıstık sert kabuğunun mikrodalga-CO₂ destekli hidroliz sistemi ile ksiloza hidrolizi

Hydrolysis of pistachio shell into xylose using microwave-CO₂ assisted extraction system

Filiz Hazal¹, Hatice Neval Özbek¹, Fahrettin Göğüş¹, Derya Koçak Yanık^{1*}

¹Gıda Mühendisliği Bölümü, Mühendislik Fakültesi, Gaziantep Üniversitesi, GAZİANTEP, TÜRKİYE
(Yazar sıralamasına göre)

ORCID ID: 0000-0003-4923-0774, Gıda Yük. Müh.

ORCID ID: 0000-0001-6543-4086, Araş. Gör. Dr.

ORCID ID: 0000-0002-8610-5297, Prof. Dr.

ORCID ID: 0000-0003-3866-899X, Doç. Dr.

* Sorumlu yazar/Corresponding author: dkocak@gantep.edu.tr

Geliş Tarihi : 07.08.2022

Kabul Tarihi : 23.09.2022

Öz

Amaç: Bu çalışmanın amacı, fıstık işleme sırasında açığa çıkan fıstık sert kabuğunu yeşil bir yaklaşım ile ksiloza hidroliz etmektir.

Materyal ve yöntem: Fıstık sert kabuğunu ksiloza hidrolize etmek için mikrodalga-karbondioksit (CO₂) destekli hidroliz yöntemi kullanılmıştır. Bu kapsamda, hidroliz parametrelerinin etkisi sıcaklık (175-220°C), işlem süresi (15-45 dk.) ve su:fıstık kabuğu oranı (5:1-30:1) aralıklarında incelenmiştir.

Tartışma ve sonuç: En yüksek ksiloz veriminin elde edildiği parametreler sıcaklık, reaksiyon süresi ve su:fıstık kabuğu oranı için sırasıyla 200°C, 20 dk. ve 20 mL/g olarak belirlenmiştir. Çalışılan aralıklarda gerçekleştirilen hidroliz denemelerinde en yüksek ksiloz verimi %56,52, bu noktadaki yan ürünler miktarı (furfural, hidroksimetilfurfural (HMF) ve formik asit) ise %15,67 olarak bulunmuştur. Sıcaklığın 200°C'nin üstüne çıktığı durumlarda yan ürünlerde ciddi bir artış gözlenmiştir. Çalışmanın sonuçları göz önünde bulundurulduğunda lignoselülozik biyokütle hidrolizinde mikrodalga-CO₂ destekli hidroliz umut vaat eden yenilikçi bir metot olarak değerlendirilebilir.

Anahtar kelimeler: mikrodalga-CO₂ hidrolizi; ksilan; ksiloz; lignoselülozik biyokütle; Antep fıstığı kabuğu; Antep fıstığı (*Pistacia vera* L.)

Abstract

Aim: The aim of this study is to hydrolyze the pistachio shell generated during the processing of pistachio into pistachio kernel to xylose using a green approach.

Material and method: Microwave-CO₂ assisted hydrolysis method was used to hydrolyze pistachio shell into xylose. In this respect, the effect of hydrolysis parameters, temperature (175-220°C), time (15-45 min) and pistachio shell:water ratio (1:5-1:30) were evaluated.

Results and discussion: The highest xylose yield was obtained at 56.52% while by-products (furfural, hydroxymethylfurfural (HMF) and formic acid) were 15.67% under the same conditions. The by-products were observed in a significant rise when increasing the temperature over 200°C. Considering the results, microwave-CO₂ assisted hydrolysis can be affiliable as a promising innovative method for hydrolysis of lignocellulosic biomass.

Keywords: microwave-CO₂ hydrolysis; xylan; xylose; lignocellulosic biomass; pistachio shell; pistachio (*Pistacia vera* L.)

1. Giriş

Lignoselülozik biyokütle, kolayca elde edilebilen, ucuz ve bol bulunan bir malzemedir (Zhu vd., 2020). Genellikle selüloz, hemiselüloz ve lignin olmak üzere üç ana bileşenden oluşmaktadır. Hemiselüloz, doğada bulunan en yaygın ikinci polisakarit olup lignoselülozik biyokütelerde %25-35 arasında bulunmaktadır. Aynı zamanda hemiselüloz, yapısında bulunan farklı beş karbonlu şekerlerden (ksiloz, ramnoz ve arabinoz), altı karbonlu şekerlerden (glukoz, galaktoz ve mannoz) ve az miktardaki asetil gruplarından dolayı heteropolisakarit grubundandır (Azizah, 2019; Dominguez vd., 2012; Mohamad vd., 2015). Lignoselülozik maddeler, biyoteknolojik yollarla birçok kimyasalın üretimi için kullanılan, yenilenebilir şeker kaynaklarıdır. Bu nedenle, hemiselülozik fraksiyonun kullanımı ksilooligosakaritler, ksiloz, etanol veya ksilitol üretmek için büyük ilgi çekmektedir (Sharma vd., 2019; Tian vd., 2018).

Antep fıstığı, fıstık içini kaplayan sert kabuk ve onu çevreleyen yumuşak kabuktan oluşmaktadır (Grace vd., 2016). Türkiye’de ve dünyada yaygın olarak üretilen Antep fıstığının, Amerika Birleşik Devletleri Tarım Bakanlığı verilerine göre dünyadaki üretimi 694.000 tondur. Gıda ve Tarım Örgütü (FAO) verilerine göre 2020 yılında Türkiye’de Antep fıstığı üretimi 296.376 ton olarak bildirilmiştir. Bu veri fıstığın %45’ini oluşturan fıstık atığı (fıstık sert kabuğu) miktarının oldukça yüksek olduğunun bir göstergesidir (Salan vd., 2014). İklim şartlarından dolayı Türkiye’de özellikle Gaziantep, Siirt ve Şanlıurfa gibi illerin bulunduğu Güneydoğu Anadolu Bölgesi’nde fıstık üreticiliği yapılmaktadır (Alsaadi vd., 2018). Üretilen fıstığın bir kısmı kabuklu atıştırmalık çerez olarak tüketilse de büyük bölümü diğer endüstri kollarına baklava, çikolata, dondurma gibi ürünler için hammadde olarak satılmak üzere kabuğu ayrıldıktan sonra iç fıstık olarak ticareti yapılmaktadır. Bu noktada, fıstık işleme tesislerinde yüksek miktarda fıstık sert kabuğu açığa çıkmaktadır. Bölge ekonomisi açısından önemli bir rolü olan ve ekonomik değeri yüksek olan bu tarımsal ürünün yan ürünleri verimli bir şekilde değerlendirilememektedir. Sert kabuk olarak adlandırılan yan ürünün sektördeki en verimli değerlendirme yolu yakmaktır. Fıstık sert kabuğunun hemiselüloz fraksiyonunun hemen hemen tamamına yakınının (%80-90) ksilan olması bu atığı ksilitol üretimi açısından oldukça değerli kılmaktadır (Özbek vd., 2020a). Ksilan; ksilitol, etanol ve diğer ürünlerin biyo-üretimi için birincil

karbon kaynağı olan ksiloza depolimerize edilebilmektedir (Vallejos vd., 2016).

Literatürde farklı tarımsal atıklardan elde edilen lignoselüloz biyokütlenin asit ya da alkali kullanılarak fermente edilebilen şekerlere kadar parçalanması üzerine birçok çalışma vardır; ancak bu uygulamalarda hedef ürün ile birlikte ileri prosesleri etkileyebilecek yüksek miktarda yan ürünler (hidroksimetilfurfural (HMF), furfural gibi) açığa çıkmaktadır (Arumugam vd., 2021; Misra vd., 2013; Nuchdang vd., 2021; Sapcı vd., 2016; Song vd., 2020). Hidroliz amacı ile kullanılan bu kimyasallar ve açığa çıkan yan ürünler bir ileri prosese geçmeden önce saflaştırma gerektirmekte olup maliyeti önemli derecede arttırmaktadır (Delfin-Ruiz vd., 2019; Felipe Hernández-Pérez vd., 2019; Xu vd., 2019). Bu nedenle maliyeti düşürüp, toksik madde oluşumunu azaltacak çevre dostu yöntemler geliştirmek önem arz etmektedir. Bu noktada yüksek basınçlı CO₂ uygulaması, mikrodalga, ultrases ve/veya bunların farklı kombinasyonları gibi çevre dostu uygulamaların denendiği çalışmalar mevcuttur (Chen vd., 2017; Hassan vd., 2018; Subhedar vd., 2018). Bu uygulamalar arasında mikrodalga uygulama ve yüksek basınçlı CO₂ uygulaması lignoselülozik malzemenin hidrolizinde ümit vaat eden işlemler olarak belirtilmiştir (Brodeur vd., 2011). Ancak bu çalışmaların hiç birisinde mikrodalga ve yüksek basınçlı CO₂ bir arada kullanılmamıştır.

Biyokütlenin hidrolizi başlıca fizikokimyasal, kimyasal veya biyolojik yöntemlerle yapılabilmektedir (Anwar vd., 2014). Mikrodalga kullanımı, reaksiyonları hızlandırmak için etkili bir metottur. Geleneksel ısıtma yöntemlerine göre dielektrik özelliği sayesinde daha kısa sürede ısınıp yüksek verim elde edilebilen ve enerji tasarrufu sağlayan bir işlemdir. Literatürde (Kuittinen vd., 2016) odunsu lignoselülozun fermente edilebilen monosakaritlere dönüştürülmesi için mikrodalga ön işlemleri uygulanmıştır. Norveç ladini lignoselüloz biyokütleyle farklı sıcaklıklarda, yüksek basınç altında mikrodalga işlemleri ve seyreltilmiş asit uygulanarak hemiselüloz monosakaritlere (ksiloz, mannoz ve galaktoz) parçalanmıştır ve minimum miktarda bozulan ürünler (5-hidroksimetil-2-furaldehit, levulinik asit) ortaya çıkmıştır. Başka bir çalışmada lignoselülozik biyokütle olarak buğday kepeği, arpa kabuğu, yulaf kabuğu ve çavdar kepeği kullanılmıştır. Bu tarımsal atıkların fermente edilebilen şekerlere parçalanabilmesi için mikrodalga ön işlemleri uygulanmıştır ve yüksek verimde monomer şekerler elde edilmiştir (Germeç

vd., 2017). Lignoselülozik biyokütle kimyasal kullanımı gerektiren asit ya da alkali hidrolizi yerine yüksek basınçlı CO₂ uygulanması diğer bir çevre dostu yaklaşım olarak son yıllarda karşımıza çıkmaktadır. Bu yöntemde sıcak suya ilave edilen CO₂'nin asit katalisti gibi rol oynadığı ve polisakkaritlerin hidroliz olduğu belirtilmiştir (Luterbacher vd., 2010). Karbondioksit suda çözüldüğünde karbonik asit oluşur. Oluşan karbonik asit öncelikle biyokütle çözümlenmesine destek sağlar, aynı zamanda hemiselülozların monomerik şekerlerine parçalanmasına tıpkı asit hidrolizindeki gibi katkı sunar. Ayrıca bu yöntemde hidroliz ortamının asitliği işlem sonrası asidik bir solüsyon oluşturmadığı için çevresel bir sorun teşkil etmemektedir. Zira işlem ortamı üzerindeki basıncı düşürülerek atmosferik şartlara ulaşıldığında CO₂ gaz olarak ortamdan uzaklaşacak ve çözelti asidik niteliğini yitirecektir (Morais vd., 2015).

Karbondioksit uygulamasının mikrodalga ile kombine edilerek, kapalı mikrodalga sisteminde yüksek sıcaklık ve basınç altında lignoselülozik kütleden ksiloz eldesine yönelik bir çalışma bulunmamaktadır. Bu çalışma ile sinerjik etki yaratarak fıstık kabuğunun hem çok daha hızlı hem de kimyasal gerektirmeyen çevre dostu bir metotla ksiloza hidrolizi hedeflenmiştir. Bu bağlamda çalışmanın amacı, hidroliz sıcaklığı, süresi ve su:kabuk oranının ksiloz verimi ve yan ürünler (furfural, HMF ve formik asit toplamı) miktarına olan etkisini incelemektir.

2. Materyal ve yöntem

2.1. Materyal

Antep fıstığı (*Pistacia vera* L.) sert kabuğu, Gaziantep'te iç fıstık üretimi yapan bir işletmeden temin edilmiştir. Karbondioksit, Koçerler Sanayi ve Tıbbi Gazlar firmasından (Gaziantep) ve diğer tüm analitik standartlar ve sülfürik asit (H₂SO₄), Sigma Aldrich ve Merck'ten satın alınmıştır. Fıstık sert kabuklarının boyutu 1-2 mm aralığında olacak şekilde öğütücü (Brook Crompton Series 2000, Huddersfield, İngiltere) kullanılarak küçük parçalara öğütülmüş ve elek (Endecotts, İngiltere) kullanılarak istenilen boyuttaki (1-2 mm) fıstık sert kabukları elde edilmiştir. Deneylerde kullanılacak öğütülmüş fıstık sert kabukları nem almayacak şekilde ağzı kapalı kaplarda oda sıcaklığında muhafaza edilmiştir.

2.2. Nem, kül, protein ve ekstraktif madde tayini

Nem miktarı National Renewable Energy Laboratory NREL/TP-510-42621 standart metoduna göre 105°C'de etüvde kaybedilen nem

üzerinden belirlenmiştir (Sluiter vd., 2008a). Kül miktarı ise NREL/TP-510-42622 metoduna göre 575°C'de kül fırınında belirlenmiştir (Sluiter vd., 2008b). Fıstık sert kabuğunun protein miktarı AOAC 984.13 standart metoduna göre azot miktarı için N×6,25 dönüşüm faktörü kullanılarak Kjeldahl yöntemiyle analiz edilmiştir (AOAC, 2006). Ekstraktif madde miktarı ise NREL/TP-510-42619'a (Sluiter vd., 2008c) göre tespit edilmiştir.

2.3. Asitte çözünen ve çözünmeyen lignin tayini

Fıstık sert kabuklarının asitte çözünen ve çözünmeyen lignin miktarları NREL/TP-510-42618'e (Sluiter vd., 2008d) göre belirlenmiştir. Bu yöntemde göre fıstık sert kabuğu örneklerinden 0,3 g kadar test tüplerine tartılmış ve üzerlerine 3 mL %72'lik H₂SO₄ eklenerek 30°C'deki çalkalamalı inkübatör içinde 1 saat bekletilmiştir. Daha sonra asit içeriği 84 mL deiyonize su eklenerek %4'e seyreltilmiş ve karışım 121°C'de 1 saat otoklavlanmıştır. Süre sonunda kalan karışım soğutulmuş sinter cam filtreli krozeden süzümüştür. Katı kısım sabit tartıma gelinceye kadar 105°C'de bekletilmiş ve sonra 575°C'lik fırında 4 saat yakılmıştır. Yakma işlemi sonrası ve öncesi kütlede meydana gelen değişim asitte çözünmeyen lignin miktarı olarak hesaplanmıştır.

Asitte çözünen lignin miktarının hesaplanması için ise otoklavlanıp süzülen filtrat absorbansı 0,7-1,0 aralığında olacak şekilde saf su ile seyreltilerek spektrofotometre (Perkin Elmer UV/Vis spectrometer, Lambda 25) ile saf suya karşı ölçülmüştür. Asitte çözünen lignin miktarı eşitlik 1 kullanılarak hesaplanmıştır.

$$\text{Asitte çözünen lignin (\%)} = \frac{UV_{\text{abs}} \times V_{\text{filtrat}} \times \text{Seyreltme faktörü}}{\epsilon \times \text{Örneğin ağırlığı} \times \text{Yol uzunluğu}} \times 100 \quad (1)$$

UV_{abs}: 320 nm dalga boyunda örneğin absorbansı

V_{filtrat}: Filtratın hacmi (mL)

Seyreltme faktörü: (Örneğin hacmi + Saf suyun hacmi) / Örneğin hacmi

ε: Belirli dalga boyunda biyokütle absorbtivitesi, 30 L/(g·cm) (Hyman et al., 2008).

Yol uzunluğu: UV-Vis hücrenin yol uzunluğu (cm)

2.4. Selüloz ve hemiselüloz tayini

Fıstık sert kabuğunda bulunan monomerik şekerler (glükoz, ksiloz ve arabinoz) ve asetik asit, lignin analizinde iki aşamalı hidroliz işlemi sonucu elde edilen hidrolizatta NREL Laboratuvar Prosedürü NREL/TP-510-42618'e göre Shimadzu SCL-10A HPLC sistemi kullanılarak analiz edilmiştir (Sluiter vd., 2008d). Dedektör olarak refraktif indeks dedektör (Shimadzu, RID-10A) ve kolon olarak Aminex HPX-87H (Hercules, CA, USA) kullanılmıştır. Hareketli faz olarak ise 5 mM H₂SO₄ kullanılmış ve 65°C'de ve 0,6 mL/dk akış hızı ile kolondan elüt edilmiştir. Şeker ve asetik asit

standartları kullanarak kalibrasyon grafikleri oluşturulmuş ve bu grafiklerden fıstık kabuğu hidrolizatının içerdiği monomerik şeker ve asetik asit miktarları g/L olarak hesaplanmıştır.

Fıstık kabuğunun selüloz (glukan olarak), ksilan, arabinan ve asetil gruplarının miktarı, içerdiği monomerik şekerler ve asetik asit miktarlarının bulunmasından sonra aşağıda verilen eşitlikler kullanılarak belirlenmiştir (Browning, 1967). Fıstık kabuklarının hemiselüloz içeriği ise ksilan, arabinan ve asetil gruplarının toplamı olarak ifade edilmiştir.

$$Glukan (\%) = F \times \frac{100}{1005} \times \frac{162}{180} \times \frac{Glc \times W_{\text{çöz}}}{S} \quad (2)$$

$$Ksilan (\%) = F \times \frac{100}{1005} \times \frac{132}{150} \times \frac{Xyl \times W_{\text{çöz}}}{S} \quad (3)$$

$$Arabinan (\%) = F \times \frac{100}{1005} \times \frac{132}{150} \times \frac{Ara \times W_{\text{çöz}}}{S} \quad (4)$$

$$Asetil grupları (\%) = F \times \frac{100}{1005} \times \frac{60}{61} \times \frac{Ac \times W_{\text{çöz}}}{S} \quad (5)$$

F: düzeltme faktörünü,

$W_{\text{çöz}}$: çözeltilinin kütesini

S: kuru örneğin kütesini ve

Glc, Xyl, Ara ve Ac ise sırasıyla hidrolizatta bulunan glikoz, ksiloz, arabinan ve asetik asit derişimlerini (g/L) ifade etmektedir.

2.5. Mikrodalga-CO₂ destekli hidroliz

Mikrodalga gücü bütün deneyler için cihazın (SynthWAVE, Milestone Srl, İtalya) en yüksek güç seviyesi olan 1.500 W'a ayarlanarak sıcaklık, hidroliz süresi ve su:fıstık sert kabuğu oranının etkileri ayrı ayrı incelenmiştir. Bütün denemelerde sistem başlangıçta 55 bar CO₂ ile beslenmiştir. Hidroliz deneylerinde kullanılan saf su mikrodalga destekli hidroliz sistemi başlatılana kadar sisteme beslenen CO₂ yoğunluğunda meydana gelecek değişimleri minimumda tutmak için 5°C'de tutulmuştur. Hidroliz prosesinde hidroliz süresi (10-45 dk.), sıcaklık (175-220°C) ve su:fıstık sert kabuğu oranı (5-30 mL/g) parametreleri çalışılmıştır. Hidroliz deneyleri sonrası ksiloz, glikoz, asetik asit, HMF ve furfural konsantrasyonları (g/L) HPLC ile belirlenmiştir. Ksiloz, glikoz, asetik asit ve formik asit için RID dedektör, HMF ve furfural için ise 280 nm'de UV dedektör kullanılmıştır. Hidroliz sonrası ksiloz verimi Raj ve Krishnan (2020)'ın önerdiği gibi aşağıdaki eşitlik kullanılarak hesaplanmıştır.

$$Ksiloz verimi (\%) = \frac{C_{xyl}}{1,136 \times m_{xln} \times C_{shell}} \times 100 \quad (6)$$

C_{xyl} : Hidrolizattaki ksiloz konsantrasyonu (g/L)

m_{xln} : Fıstık kabuğundaki ksilan miktarı (g/g)

C_{shell} : Hidrolizde kullanılan fıstık kabuğu miktarı (g/L)

2.6. İstatistiksel analiz

Tüm deneysel uygulamalar 3 tekrarlı yapılmıştır ve sonuçlar, ortalama \pm standart sapma olarak verilmiştir. Tüm veri hesaplamaları Microsoft Excel 2010 kullanılarak yapılmıştır.

3. Tartışma ve sonuç

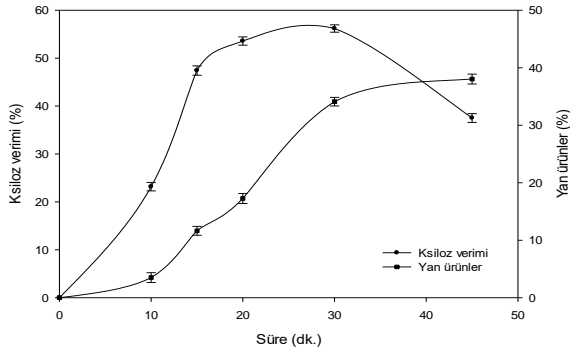
3.1. Fıstık sert kabuğunun kimyasal kompozisyonu

Fıstık sert kabuğu nem miktarı %3,04 \pm 0,04, protein %0,96 \pm 0,04, kül miktarı %0,41 \pm 0,02 ve ekstraktif maddeler %3,24 \pm 0,09 olarak bulunmuştur. Hemiselüloz, selüloz ve lignin miktarı ise sırasıyla %46,13, %24,50 ve %24,83 olarak bulunmuştur. Sonuçlar literatür ile kıyaslandığında kül ve protein oranları benzer olup nem değeri farklı çıkmıştır. Hesam vd. (2020), fıstık sert kabuğunun %0,89 \pm 0,02 kül ve %0,98 \pm 0,08 oranında protein olduğunu rapor etmiştir. Daha önce gerçekleştirilen benzer bir çalışmada ise nem, kül, protein ve ekstraktif bileşenler sırasıyla %1,90 \pm 0,08, %0,53 \pm 0,04, %0,95 \pm 0,01 ve %4,03 \pm 0,12 şeklinde bulunmuştur (Özbek vd., 2021). Hemiselüloz yapısında ise ksilan ve asetil gruplarının sırasıyla %81,5 ve %18,5 oranında mevcut olduğu tespit edilmiştir. Dominguez vd. (2012) tarafından gerçekleştirilen çalışmada %33,1 ksilan ve %5,4 asetil grupları olmak üzere toplam %38,5 hemiselüloz bulunurken mevcut çalışmamızda olduğu gibi arabinana rastlanmamıştır. Kasiri ve Fathi (2018) tarafından yapılan çalışmada selüloz, hemiselüloz ve lignin değerleri sırasıyla %38,1, %31,4 ve %23,6 olarak bulunmuştur. Yine başka bir çalışmada fıstık sert kabuğu kimyasal kompozisyonunda %38,1 selüloz, %31,4 hemiselüloz ve %23,6 lignin tespit edilmiştir (Altun vd., 2021). Fıstık kabuğu üzerine yapılan daha önceki çalışmalarda ise kuru bazda fıstık sert kabuğu yapısında %25,15 \pm 0,88 selüloz (glukan), %35,04 \pm 1,12 ksilan, %8,24 \pm 0,72 asetil grupları, %1,84 \pm 0,12 asitte çözünen lignin ve %24,11 \pm 1,29 asitte çözünmeyen lignin bulunmuştur (Özbek vd., 2021). Hesam vd. (2020) tarafından ise fıstık sert kabuğunda selüloz %31,13 \pm 0,42, hemiselüloz %42,27 \pm 1,62 ve lignin %20,77 \pm 1,10 olarak raporlanmıştır. Fıstık sert kabuğunun kimyasal kompozisyonundaki farklılıkların Antep fıstığının yetiştiği çevre ve iklim koşulları ve fıstıkların toplandığı tarih farklılıklarından kaynaklandığı düşünülmektedir.

3.2. Mikrodalga-CO₂ destekli hidroliz parametrelerinin ksiloz verimi ve yan ürünler oluşumu üzerine etkilerinin değerlendirilmesi

3.2.1. Hidroliz süresinin ksiloz verimine etkisi

Şekil 1'de görüldüğü üzere ksiloz verimi hidroliz süresinin 10 dk.'dan 15 dk.'ya uzatılması ile hızlı bir şekilde %23,32'den %47,51'e yükselmiştir. Hidroliz süresinin 30 dk. kadar uzatılması ile yavaş bir artış göstermiş olmakla birlikte ksiloz verimi %55'in üstüne çıkmıştır. Hidroliz süresinin bozulma ürünlerinin (furfural, HMF ve formik asit toplamı) oluşumuna etkisi incelendiğinde ise işlem süresi uzadıkça hidrolizatta yan ürünlerin miktarının artarak 45. dk. sonunda %38,09'a kadar ulaştığı görülmüştür. Özellikle 30. dakikadan sonra hidroliz süresinin uzatılmasının ksiloz degradasyonunu arttırdığı kritik bir nokta olarak karşımıza çıkmaktadır.



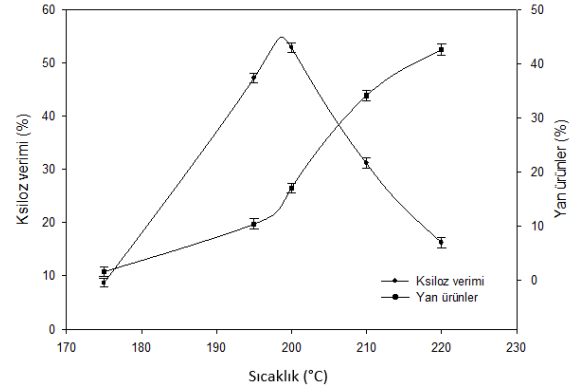
Şekil 1. Mikrodalga-CO₂ hidroliz süresinin ksiloz verimi (%) ve yan ürünler (%) üzerine etkisi (200°C ve su:fıstık kabuğu 8 mL/g)

3.2.2. Hidroliz sıcaklığının ksiloz verimine etkisi

Hidroliz sıcaklığının ksiloz verimine ve yan ürünlerin oluşumuna etkisi Şekil 2'de gösterilmiştir. Şekil 2'ye göre 175°C'den 200°C'ye kadar ksiloz verimi %8,61'den %52,62'ye artarken 200°C'den sonra hızlı bir şekilde düşmüştür.

Yan ürünlerde ise hidroliz sıcaklığı arttıkça bozulma da artmış özellikle 200°C'nin üstünde bozulma ürünlerinde ciddi bir artış görülmüştür. Bunun yanında 220°C'de ksiloz verimi %20'nin altına düşerek yan ürünlere dönüşmüştür. Furfural, lignoselülozik biyokütlenin hidrolizasyonu sonucu polisakkaritlerin monosakkaritlerine (ksiloz) parçalanmasından sonra ksilozun dehidrasyonu sonucu oluşmaktadır (Padilla-Rascón vd., 2020). Yoğun asit ortamlarda ve yüksek sıcaklıklarda monosakkarit molekülünün üç molekül su kaybetmesi sonucu dehidrasyon oluşur. Bunun sonucunda pentozlardan furfural, heksozlardan HMF meydana gelir (Hilpmann vd., 2016; Yemis ve Mazza, 2019). Buna dayanarak sistemimizde hidroliz aşamasında kullanılan yüksek sıcaklık

değerlerinin ciddi düzeyde yan ürünlerin oluşmasına neden olduğu söylenebilir.



Şekil 2. Mikrodalga-CO₂ hidroliz sıcaklığının ksiloz verimi (%) ve yan ürünler (%) üzerine etkisi (20 dk., 8 mL/g su:fıstık sert kabuğu oranı)

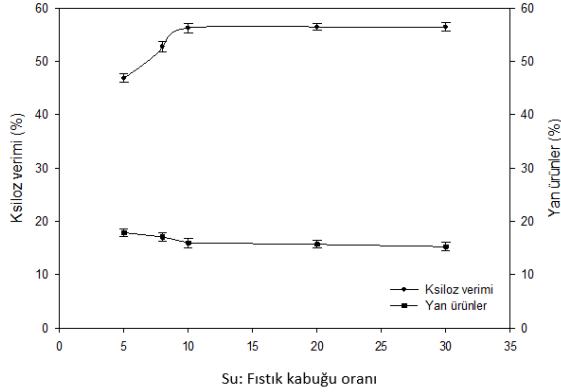
3.2.3. Su:fıstık kabuğu oranının ksiloz verimine etkisi

Su:fıstık sert kabuğu oranının ksiloz verimi ve yan ürünler üzerine etkisi Şekil 3'te gösterilmiştir.

Bu çalışmalarda hidroliz sıcaklığı ve hidroliz süresi sırasıyla 200°C ve 20 dk. olacak şekilde sabit tutulmuştur. Farklı su:fıstık kabuğu oranlarında (5, 8, 10, 20 ve 30 mL/g) hazırlanan reaksiyon ortamlarında hidroliz deneyleri gerçekleştirilmiş ve ksiloz verimi ile yan ürünler miktarı üzerine etkileri incelenmiştir. Ksiloz verimi, 5 mL/g su:fıstık kabuğu oranında %46,89 iken 10 mL/g su:fıstık kabuğu oranında %56,33 elde edilmiştir. Sıvı:kıta oranı daha fazla arttıkça, 20 ve 30 mL/g ile yapılan denemelerde, ksiloz veriminde önemsiz sayılabilecek %0,2'lik bir artış; bozulma ürünleri oluşumuna bakıldığında ise su:fıstık kabuğu oranı yükseldikçe yan ürünlere düşüş gözlenmiştir.

Antep fıstığı sert kabuklarının mikrodalga-CO₂ destekli hidrolizi ile elde edilen ksiloz verimi ve yan ürünler üzerine etkisi hidroliz sıcaklığı, işlem süresi ve su:fıstık kabuğu oranı parametreleri kullanılarak incelenmiştir. Bunun sonucunda sıcaklık ve işlem süresi arttıkça ksiloz veriminin sırasıyla 200°C ve 30 dk.'dan itibaren azalmaya başladığı, yan ürünlerin ise sürekli bir artış gösterdiği gözlemlenmiştir. Bu durum artan sıcaklık ve hidroliz süresine bağlı olarak ksilozun yan ürünlere parçalanması ile açıklanabilir. Lu vd. (2021) tarafından yapılan çalışmada hem sıcaklık ve sürenin artışı hem de su oranı ve sıcaklık artışı ile ksiloz veriminin arttığı bildirilmiştir. Bu durum mevcut çalışma ile benzerlik göstermektedir. Aynı şekilde hidroliz süresinin ve su:fıstık kabuğu oranı artışının da ksiloz oluşumuna katkı sağladığı

söylenebilir. 200°C'de 20 dk. süreyle gerçekleştirilen hidroliz deneylerine bakıldığında su:fıstık kabuğu oranının 5'ten 10 mL/g'a artırılması ksiloz veriminde önemli bir artışa sebep olmuştur. Bu durum su:fıstık kabuğu oranının ksiloz veriminde etkili olduğunu net bir şekilde göstermektedir.



Şekil 3. Reaksiyon ortamında su:fıstık kabuğu oranının ksiloz verimi (%) ve yan ürünler (%) üzerine etkisi (200°C, 20 dk.)

4. Sonuç

Bu çalışmada, lignoselülozik biyokütlenin parçalanmasında ağır kimyasalların kullanıldığı geleneksel yöntemlere alternatif olarak yenilikçi ve çevreci bir yöntem olan mikrodalga-CO₂ destekli hidrolizin kullanılabileceği ortaya konulmuştur. Lignoselülozik biyokütlenin zor ayrışabilen yapısına rağmen mikrodalga-CO₂ kombinasyonu sayesinde çok daha kısa sürede hemiselülozik fraksiyonu monomerlerine indirgenmiştir. Herhangi bir kimyasal kullanılmadan yüksek verimde ksiloz ve düşük miktarda yan ürünler elde edilmiştir. Elde edilen veriler değerlendirildiğinde mikrodalga-CO₂ destekli hidroliz hem çevreci bir yöntem hem de yüksek ksiloz verimi ve düşük yan ürün miktarı ile ksiloz hidrolizi için umut vaat eden bir yaklaşımdır. Ayrıca bu çalışmada lignoselülozik biyokütlenin hidrolizinde kullanılan mikrodalga-CO₂ hidroliz sistemi diğer hidroliz çalışmalarının uygulanmasına öncü olacaktır.

5. Teşekkür

Bu çalışma, Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK) 120O999 nolu 1001-Araştırma Projesi tarafından desteklenmiştir.

6. Kaynaklar

Alsaadi, M., Erkliğ, A. and Albu-khaleefah, K. (2018). Effect of pistachio shell particle content on the mechanical properties of polymer composite. *Arabian Journal for Science and Engineering*,

43(9), 4689-4696. <https://doi.org/10.1007/s13369-018-3073-x>

Altun, M., Celebi, M., ve Ovali, S. (2021). Preparation of the pistachio shell reinforced PLA biocomposites: Effect of filler treatment and PLA maleation. *Journal of Thermoplastic Composite Materials*.

<https://doi.org/10.1177/08927057211010880>

Anwar, Z., Gulfraz, M., ve Irshad, M. (2014). Agro-industrial lignocellulosic biomass a key to unlock the future bio-energy: a brief review. *Journal of Radiation Research and Applied Sciences*, 7(2), 163-173. <https://doi.org/10.1016/j.jrras.2014.02.003>

AOAC-Official Methods of Analysis. (2006) AOAC 984.13: Total Nitrogen By Kjeldahl.

Arumugam, A., Malolan, V. V. and Ponnusami, V. (2021). Contemporary pretreatment strategies for bioethanol production from corncobs: a comprehensive review. *Waste and Biomass Valorization*, 12(2), 577-612.

Azizah, N. (2019). Biotransformation of xylitol production from xylose of lignocellulose biomass using xylose reductase enzyme. *Journal of Food and Life Sciences*, 3(2), 103-112. <https://doi.org/10.21776/ub.jfls.2019.003.02.06>

Brodeur, G., Yau, E., Badal, K., Collier, J., Ramachandran, K. B. and Ramakrishnan, S. (2011). Chemical and physicochemical pretreatment of lignocellulosic biomass: a review. *Enzyme Research*. <https://doi.org/10.4061/2011/787532>

Browning, B. L. (1967). Chemistry of wood. Methods in wood chemistry. Editörler: Sarkanen, K. V., Ludwig, C.H. New York: John, Wiley & Sons.

Chen, H., Liu, J., Chang, X., Chen, D., Xue, Y., Liu, P., Lin, H. and Han, S. (2017). A review on the pretreatment of lignocellulose for high-value chemicals. *Fuel Processing Technology*, 160, 196-206. <https://doi.org/10.1016/j.fuproc.2016.12.007>

Delfín-Ruíz, M. E., Calderón-Santoyo, M., Ragazzo-Sánchez, J. A., Gómez-Rodríguez, J., López-Zamora, L. and Aguilar-Uscanga, M. G. (2019). Acid pretreatment optimization for xylose production from Agave tequilana Weber var. azul, Agave americana var. oaxacensis, Agave karwinskii, and Agave potatorum bagasses using a Box-Behnken design. *Biomass Conversion and Biorefinery*. 1-10. <https://doi.org/10.1007/s13399-019-00497-z>

- Domínguez, J. M., Salgado, J. M., Rodríguez, N. and Cortés, S. (2012). Biotechnological production of xylitol from agro-industrial wastes. *Food Additive*, 139-156.
- Felipe Hernández-Pérez, A., de Arruda, P. V., Sene, L., da Silva, S. S., Kumar Chandel, A. and de Almeida Felipe, M. D. G. (2019). Xylitol bioproduction: state-of-the-art, industrial paradigm shift, and opportunities for integrated biorefineries. *Critical Reviews in Biotechnology*, 39(7), 924-943. <https://doi.org/10.1080/07388551.2019.1640658>
- Germec, M., Demirel, F., Tas, N., Ozcan, A., Yilmazer, C., Onuk, Z. and Turhan, I. (2017). Microwave-assisted dilute acid pretreatment of different agricultural bioresources for fermentable sugar production. *Cellulose*, 24(10), 4337-4353. <https://doi.org/10.1007/s10570-017-1408-5>
- FAOSTAT. (2018). FAOSTAT statistical database. <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QL>. (24.05.2022).
- Grace, M. H., Esposito, D., Timmers, M. A., Xiong, J., Yousef, G., Komarnytsky, S. and Lila, M. A. (2016). Chemical composition, antioxidant and anti-inflammatory properties of pistachio hull extracts. *Food Chemistry*, 210, 85-95. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.04.088>
- Hassan, S. S., Williams, G. A. and Jaiswal, A. K. (2018). Emerging technologies for the pretreatment of lignocellulosic biomass. *Bioresource Technology*, 262, 310-318. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.04.099>
- Hesam, F., Tarzi, B. G., Honarvar, M. and Jahadi, M. (2021). Pistachio (*Pistacia vera*) shell as a new candidate for enzymatic production of xylooligosaccharides. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 15(1), 33-45. <https://doi.org/10.1007/s11694-020-00594-y>
- Hilpmann, G., Becher, N., Pahner, F. A., Kusema, B., Mäki-Arvela, P., Lange, R., ... and Salmi, T. (2016). Acid hydrolysis of xylan. *Catalysis Today*, 259, 376-380. <https://doi.org/10.1016/j.cattod.2015.04.044>
- Hyman, D., Sluiter, A., Crocker, D., Johnson, D., Sluiter, J., Black, S. and Scarlata, C. (2008). Determination of acid soluble lignin concentration curve by UV-Vis spectroscopy. National Renewable Energy Laboratory, Golden, Colorado, Tech. Rep. NREL/TP-510-42617.
- Kasiri, N. and Fathi, M. (2018). Production of cellulose nanocrystals from pistachio shells and their application for stabilizing Pickering emulsions. *International Journal of Biological Macromolecules*, 106, 1023-1031. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.08.112>
- Kuittinen, S., Rodriguez, Y. P., Yang, M., Keinänen, M., Pastinen, O., Siika-Aho, M., Turunen, O. and Pappinen, A. (2016). Effect of microwave-assisted pretreatment conditions on hemicellulose conversion and enzymatic hydrolysis of Norway spruce. *BioEnergy Research*, 9(1), 344-354. <https://doi.org/10.1007/s12155-015-9696-9>
- Luterbacher, J. S., Tester, J. W. and Walker, L. P. (2010). High-solids biphasic CO₂-H₂O pretreatment of lignocellulosic biomass. *Biotechnology and Bioengineering*, 107(3), 451-460. <https://doi.org/10.1002/bit.22823>
- Misra, S., Raghuwanshi, S. and Saxena, R. K. (2013). Evaluation of corncob hemicellulosic hydrolysate for xylitol production by adapted strain of *Candida tropicalis*. *Carbohydrate polymers*, 92(2), 1596-1601.
- Mohamad, N. L., Mustapa Kamal, S. M. and Mokhtar, M. N. (2015). Xylitol biological production: a review of recent studies. *Food reviews international*, 31(1), 74-89. <https://doi.org/10.1080/87559129.2014.961077>
- Morais, A. R., da Costa Lopes, A. M. and Bogel-Lukasik, R. (2015). Carbon dioxide in biomass processing: contributions to the green biorefinery concept. *Chemical Reviews*, 115(1), 3-27. <https://doi.org/10.1021/cr500330z>
- Nuchdang, S., Thongtus, V., Khemkhao, M., Kirdponpattara, S., Moore, E. J., Setiabudi, H. D. B. and Phalakornkule, C. (2021). Enhanced production of reducing sugars from paragrass using microwave-assisted alkaline pretreatment. *Biomass Conversion and Biorefinery*, 11(6), 2471-2483.
- Özbek, H. N., Yanık, D. K., Fadiloğlu, S. and Göğüş, F. (2020). Ultrasound-assisted alkaline pretreatment and its sequential combination with microwave for fractionation of pistachio shell. *Renewable Energy*, 157, 637-646. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2020.05.085>
- Padilla-Rascón, C., Romero-García, J. M., Ruiz, E., Romero, I. and Castro, E. (2021). Microwave-assisted production of furfural from the hemicellulosic fraction of olive stones. *Process Safety and Environmental Protection*, 152, 630-640. <https://doi.org/10.1016/j.psep.2021.06.035>
- Raj, K. and Krishnan, C. (2020). Improved co-production of ethanol and xylitol from low-temperature aqueous ammonia pretreated

sugarcane bagasse using two-stage high solids enzymatic hydrolysis and *Candida tropicalis*. *Renewable Energy*, 153, 392-403. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2020.02.042>

Salan, T. ve Almaz, M. H. (2014). Antep fıstığı atık kabuklarının enerji, kimyasal madde ve biyomalzeme üretiminde değerlendirilmesinde kullanılabilir termokimyasal yöntemlere genel bir bakış. *Yeşil Altın Antepfıstığı Zirvesi, Yeşil Altın Antepfıstığı Çalıştayı, Gaziantep, Turkey*.

Sapcı, B., Akpınar, O., Bolukbasi, U. and Yılmaz, L. (2016). Evaluation of cotton stalk hydrolysate for xylitol production. *Preparative Biochemistry and Biotechnology*, 46(5), 474-482.

Sharma, H. K., Xu, C. and Qin, W. (2019). Biological pretreatment of lignocellulosic biomass for biofuels and bioproducts: an overview. *Waste and Biomass Valorization*, 10(2), 235-251. <https://doi.org/10.1007/s12649-017-0059-y>

Sluiter, A., Hames, B., Hyman, D., Payne, C., Ruiz, R., Scarlata, C., Sluiter, J., Templeton, D. and Wolfe, J. (2008a). Determination of total solids in biomass and total dissolved solids in liquid process samples. National Renewable Energy Laboratory, Golden, CO, pp. 1e6. NREL Technical Report No. NREL/TP-510-42621. National Renewable Energy Laboratory, Golden, Colorado, USA.

Sluiter, A., Hames, B., Ruiz, R., Scarlata, C., Sluiter, J. and Templeton, D. (2008b). Determination of ash in biomass, Laboratory Analytical Procedure: Technical Report. National Renewable Energy Laboratory, Golden, Colorado, USA.

Sluiter, A., Ruiz, R., Scarlata, C., Sluiter, J. and Templeton, D. (2008c). Determination of extractives in biomass. National Renewable Energy Laboratory, Golden, Colorado, USA.

Sluiter, A., Hames, B., Ruiz, R., Scarlata, C., Sluiter, J. and Templeton, D. (2008d). Determination of sugars, byproducts, and degradation products in liquid fraction process samples - Laboratory Analytical Procedure (LAP), National Renewable Energy Laboratory - NREL, Colorado, USA.

Song, Y., Lee, Y. G., Cho, E. J. and Bae, H. J. (2020). Production of xylose, xylulose, xylitol, and bioethanol from waste bamboo using hydrogen peroxide-acetic acid pretreatment. *Fuel*, 278, 118247.

Subhedar, P. B., Ray, P. and Gogate, P. R. (2018). Intensification of delignification and subsequent hydrolysis for the fermentable sugar production

from lignocellulosic biomass using ultrasonic irradiation. *Ultrasonics Sonochemistry*, 40, 140-150.

<https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2017.01.030>

Tian, S. Q., Zhao, R. Y. and Chen, Z. C. (2018). Review of the pretreatment and bioconversion of lignocellulosic biomass from wheat straw materials. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 91, 483-489. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2018.03.113>

Vallejos, M. E., Chade, M., Mereles, E. B., Bengoechea, D. I., Brizuela, J. G., Felissia, F. E. and Area, M. C. (2016). Strategies of detoxification and fermentation for biotechnological production of xylitol from sugarcane bagasse. *Industrial Crops and Products*, 91, 161-169. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2016.07.007>

Yemiş, O. and Mazza, G. (2019). Catalytic performances of various solid catalysts and metal halides for microwave-assisted hydrothermal conversion of xylose, xylan, and straw to furfural. *Waste and Biomass Valorization*, 10(5), 1343-1353. <https://doi.org/10.1007/s12649-017-0144-2>

Xu, L., Liu, L., Li, S., Zheng, W., Cui, Y., Liu, R. and Sun, W. (2019). Xylitol production by *Candida tropicalis* 31949 from sugarcane bagasse hydrolysate. *Sugar Tech*, 21(2), 341-347. <https://doi.org/10.1007/s12355-018-0650-y>

Zhu, Z., Liu, Y., Yang, X., McQueen-Mason, S. J., Gomez, L. D. and Macquarrie, D. J. (2021). Comparative evaluation of microwave-assisted acid, alkaline, and inorganic salt pretreatments of sugarcane bagasse for sugar recovery. *Biomass Conversion and Biorefinery*, 11(6), 2681-2693.