

**FINDIK KABUĞUNA UYGULANAN ÖN İŞLEMLERİN  
ENZİMATİK HİDROLİZ YÖNTEMİ İLE  
ŞEKER ÜRETİMİNE ETKİSİ**

Emir Zafer HOŞGÜN

Doktora Tezi

**Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı**

**Haziran 2015**

**Bu tez çalışması Anadolu Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri  
Komisyonu Başkanlığı tarafından desteklenmiştir. Proje No: 1103E042**

## JÜRİ ve ENSTİTÜ ONAYI

Emir Zafer Hoşgün'ün “Fındık Kabuğuna Uygulanan Ön İşlemlerin Enzimatik Hidroliz Yöntemi ile Şeker Üretimine Etkisi” başlıklı Kimya Mühendisliği Anabilim Dalındaki, Doktora Tezi 26.06.2015 tarihinde, aşağıdaki jüri tarafından Anadolu Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca değerlendirilerek kabul edilmiştir.

Adı-Soyadı	İmza
Üye (Tez Danışmanı) :Prof. Dr. BERRİN BOZAN	.....
Üye :Prof. Dr. MEHMET RIZA ALTIOKKA	.....
Üye : Prof. Dr. MERİH KIVANÇ	.....
Üye : Prof. Dr. SERMET KABASAKAL	.....
Üye : Doç. Dr. ÇAĞLAYAN AÇIKGÖZ	.....

Anadolu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun  
..... tarih ve ..... sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Enstitü Müdürü

## ÖZET

Doktora Tezi

### FINDIK KABUĞUNA UYGULANAN ÖN İŞLEMLERİN ENZİMATİK HİDROLİZ YÖNTEMİ İLE ŞEKER ÜRETİMİNE ETKİSİ

Emir Zafer HOŞGÜN

Anadolu Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Berrin BOZAN  
2015, 215 sayfa

Bu çalışmada, fındık kabuklarından enzimatik hidroliz ile glikoz üretimi için, farklı ön işlemler (düşük ve yüksek sıcaklıklarda asit ve alkali, su buharı, alkali peroksit, organosolv, iyonik sıvı ve biyolojik) uygulanmıştır. Ön işlemler sonrasında en yüksek glikoz verimi (%18,23) iyonik sıvı ([EMIM]Ac, 120°C, 1/20 katı/sıvı, 60 dak) ön işlemi ile elde edilmiştir. Bu ön işlemi, %15,05 ile alkali peroksit (%2(a/h) NaOH içerisinde %2(v/v) H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, 30°C, 1/10 katı/sıvı, 360 dak) ve %14,38 ile yüksek sıcaklık NaOH (180°C, 1/5 katı/sıvı, %5,25 NaOH, 30 dak) ön işlemleri takip etmektedir. İyonik sıvılarla ([EMIM]Ac) yapılan ön işlemler sonucunda glikoz kazanımı %95,46 olarak bulunmuştur. Selülozca zengin ve lignin içeriği düşük hammadde, yüksek sıcaklık NaOH (180°C, 1/5 katı sıvı oranında %5,25 NaOH, 30 dak) ön işlemi ile elde edilmiştir. Bu koşullarda hammaddenin selüloz içeriği %16,67'den %48,49'a yükselirken, lignin içeriği %51,10 dan %27,28'e azalmıştır. Hemiselüloz (%17,17) ve lignin (%65,66) içeriği bakımından zengin biyokütleler sırasıyla organosolv (120°C, 1/10 katı/sıvı, 30 dak %50 EtOH içerisinde %4 NaOH koşullarında) ve su buharı (200 °C, 1/5 katı/sıvı, 60 dak ) ön işlemleri ile elde edilmiştir. Ön işlemler sırasında bir gram glikoz başına harcanan enerji (kj) miktarı 21 kJ/g glikoz (alkali peroksit ön işlemi)ile 3330 kJ/g glikoz (iyonik sıvı ön işlemi) arasında değişmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Fındık kabuğu, Ön işlem, Enzimatik hidroliz, Glikoz

## **ABSTRACT**

### **PhD Dissertation**

## **EFFECT OF PRETREATMENT METHODS ON SUGAR PRODUCTION FROM HAZELNUT SHELLS BY ENZYMATIC HYDROLYSIS**

**Emir Zafer HOŞGÜN**

**Anadolu University  
Graduate School of Sciences  
Chemical Engineering Program**

**Supervisor: Prof. Dr. Berrin BOZAN**

**2015, 215 pages**

In this study, different processes (low and high temperature acid and alkali, steam, alkali peroxide, organosolv, ionic liquids and biological) were used for the pretreatment of hazelnut shells and the treated solids further enzymatically hydrolysed to produce glucose. After pretreatments, maximum glucose yield (18.23%) was found with ionic liquid pretreatment ([EMIM]Ac, 120<sup>0</sup>C, 1/20 solid to liquid ratio, 30 min), followed by alkaline peroxide (15.05%) (2% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> in 2% NaOH, 30<sup>0</sup>C, 1/10 solid to liquid ratio, 6 hr) and high temperature NaOH pretreatment (14.38%) (180<sup>0</sup>C, 1/5 solid to liquid ratio, 5.25% NaOH, 30 min). 95.46% of glucose was recovered from the raw material after the pretreatment with 1-Ethyl-3-methylimidazolium acetate ([EMIM]Ac). Cellulose-rich and low lignin content raw material obtained with high temperature NaOH pretreatment (180<sup>0</sup>C, 1/5 solid to liquid ratio, 5.25% NaOH, for 30 min). At these conditions, cellulose content increased from 16,67% to 48.49% and lignin content decreased from 51.10% to 27.28%. Hemicellulose-rich content biomass (17.17%) and lignin-rich content biomass (65.66%) were obtained by organosolv (120 <sup>0</sup>C, 1/10 solid to liquid ratio, 30 min, 4% NaOH in the 50% EtOH solution) and steam (200 <sup>0</sup>C, 1/5 solid to liquid ratio, 60 min) pretreatment, respectively. The amount of energy consumed (kJ) per glucose (g) during the pretreatments ranged from 21 kJ/g glucose (alkali peroxide pretreatment) to 3330 kJ/g glucose (ionic liquid pretreatment).

**Keywords:** Hazelnut shells, Pretreatment, Enzymatic Hydrolysis, Glucose

## TEŞEKKÜR

Bu tez çalışmasının planlanmasında, araştırılmasında, yürütülmesinde ve oluşumunda ilgi ve desteğini esirgemeyen, engin bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım, yönlendirme ve bilgilendirmeleriyle çalışmamı bilimsel temeller ışığında şekillendiren, çalışmamı projelerle destekleyen ve her türlü imkanı sunan aynı zamanda beni bir akademisyen olarak yetiştiren ve yönlendiren sayın hocam Prof. Dr. Berrin BOZAN'a,

Çalışmamın biyolojik ön işlem kısımlarında fungusların yetiştirilmesi ve ön işlemin gerçekleştirilmesinde yardımcı olan Prof. Dr. Merih Kıvanç ve Dr. Derya Berikten'e

Laboratuvar çalışmalarında yardımlarını ve desteklerini esirgemeyen Yeşim Yılmaz, Ebru Tunç, Ceren Paçal, ve Selin Ürey'e

Laboratuvar çalışmalarım boyunca desteğini esirgemeyen lisans bitirme öğrencilerine,

Tez yazım aşamasında yardım ve desteğini esirgemeyen ve manevi olarak yanımda olan Seda Erol'a

Tez çalışmam boyunca destek ve ilgileriyle her zaman yanımda olduklarını gösteren değerli aileme;

Sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

## İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT .....	ii
TEŞEKKÜR .....	iii
İÇİNDEKİLER .....	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	xii
ÇİZELGELER DİZİNİ .....	xxvii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ .....	xxviii

1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
------------------	---

2. KAYNAK TARAMASI	4
--------------------	---

2.1 Lignoselülozik Biyokütle.....	4
2.1.1 Selüloz.....	5
2.1.2 Hemiselüloz .....	5
2.1.3 Lignin .....	7
2.2 Lignoselüloza Uygulanan Ön İşlemler .....	8
2.2.1. Ön işlemlerin amaçları .....	8
2.2.2 Fiziksel ön işlemler .....	9
2.2.2.1 Mekanik ön işlemler .....	9
2.2.3 Fizikokimyasal ön işlemler .....	10
2.2.3.1 Buhar ön işlem.....	10
2.2.3.2 Amonyak fiber patlatmalı ön işlem .....	11
2.2.3.3 Karbondioksit patlatmalı ön işlem.....	11
2.2.4 Kimyasal ön işlemler.....	12

2.2.4.1 Ozonlama.....	12
2.2.4.2 Seyreltik asit ön işlemleri .....	12
2.2.4.3 Alkali ön işlem .....	13
2.2.4.4 Peroksit ön işlemleri .....	14
2.2.4.5. Organik çözücüler ile ön işlem.....	14
2.2.4.6 İyonik sıvılar ile ön işlem.....	15
2.2.5 Biyolojik ön işlemler.....	16
2.3 Lignoselülozik Maddelerin Enzimatik Hidrolizi .....	17
2.4 Lignoselülozik Maddelerin Hidrolizinde Etkili Parametreler .....	19
2.4.1 Ön işlemin etkisi .....	19
2.4.2 Substratın özellikleri .....	19
2.4.3 Lignin bariyeri (içeriği ve dağılımı).....	20
2.4.4. Hemiselüloz içeriği .....	20
2.5. Selülaz Enzimi .....	21
2.6. Basit Enzim Kinetiği.....	22
2.7 Fındık Üretimi .....	26
2.8. Konu ile İlgili Bitkilerin Kabukları ile Yapılan Çalışmalar .....	28
<b>3. MATERYAL ve YÖNTEM</b>	<b>32</b>
3.1 Materyal.....	32
3.2 Yöntem .....	32
3.2.1 Hammadde hazırlanması.....	32
3.2.2 Analitik yöntemler .....	33
3.2.2.1 Nem miktarının belirlenmesi.....	33
3.2.2.2 Kül miktarının belirlenmesi.....	33
3.2.2.3 Ekstraktif madde miktarının belirlenmesi .....	33

3.2.2.4 İndirgen şeker analizi .....	34
3.2.2.5 Enzim aktivitesinin belirlenmesi .....	34
3.2.2.6 Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (YBSK) yöntemi ile monomerik şeker miktarlarının belirlenmesi .....	36
3.2.2.7 Lignin, selüloz ve hemiselüloz mikratlarının belirlenmesi .....	38
3.2.3 Hammaddeye uygulanan kimyasal, fizikokimyasal ve biyolojik ön işlemler .....	39
3.2.3.1 Asit ön işlemleri .....	40
3.2.3.2 Su buharı ön işlemleri.....	41
3.2.3.3 Alkali ön işlemler .....	41
3.2.3.4 Hidrojen peroksit ön işlemleri.....	42
3.2.3.5 Amonyum hidroksit ön işlemleri.....	42
3.2.3.6 İyonik sıvılarla ön işlemleri.....	42
3.2.3.7 Organosolv ön işlemleri.....	43
3.2.3.8 Biyolojik ön işlemler .....	43
3.2.3.9 Yüksek sıcaklık NaOH ön işlemlerinin cevap yüzey yöntemi ile optimizasyonu .....	44
3.2.4 Enzimatik hidroliz işlemleri.....	45
3.2.4.1 Alkali ön işlem uygulanmış fındık kabuğuna selülaz ve beta- glikozidaz enzim miktar belirlenmesi .....	46
3.2.4.2 Farklı ön işlemlere uygulanan enzimatik hidroliz.....	46
3.2.4.3 En uygun ön işleme uygulanan enzimatik hidroliz .....	47
3.3. Alkali Ön İşlem Uygulanmış Fındık Kabuklarının Enzimatik Hidroliz Verilerinin Michaelis-Menten Kinetik Modeli .....	47
3.4 Uygulanan Ön İşlemlerde Kütle ve Enerji Dengesi .....	48
3.4.1. Kütle dengesi.....	48
3.4.2. Enerji dengesi.....	49



3.4.2.1 Reaksiyon enerjilerinin hesaplanması .....	51
3.4.2.2 Karıştırma işinin hesaplanması.....	52
3.4.2.3 Isı kayıpları.....	52
3.5 Ön İşlem Uygulanmış ve Ön İşlem Uygulanmamış Fındık Kabuklarının SEM Analizi.....	53
3.6. Sonuçların Değerlendirilmesinde Kullanılan İstatistiksel Analizler .....	54

#### **4. DENEYSEL BULGULAR** **55**

4.1. Fındık Kabuğunun Lignoselülozik İçeriği.....	55
4.2. Ön İşlemlerde Kullanılan Enzim Belirlenmesi.....	55
4.3 Farklı Asitler ile Yapılan Ön İşlemlerinin Fındık Kabuğunun Bileşimi ve Enzimatik Hidrolizi Üzerine Etkisi.....	58
4.3.1. Farklı asitler ile yapılan ön işlemlerinin fındık kabuğunun enzimatik hidrolizi üzerine etkisi.....	59
4.3.2. Farklı asitler ile yapılan ön işlemlerinin fındık kabuğunun bileşimi üzerine etkisi .....	62
4.4. Yüksek Sıcaklıklarda Sülfürik Asit ile Yapılan Ön İşlemlerin Fındık Kabuğunun Kompozisyonu ve Enzimatik Hidrolizi Üzerine Etkisi.....	64
4.4.1. Yüksek sıcaklıklarda sülfürik asit ile yapılan ön işlemlerin fındık kabuğunun enzimatik hidrolizi üzerine etkisi.....	64
4.4.2. Yüksek sıcaklıklarda sülfürik asit ile yapılan ön işlemlerin katı bileşimine üzerine etkisi .....	67
4.4.3. Yüksek sıcaklıklarda sülfürik asit ile yapılan ön işlem prosesinde kütle denkliği .....	69
4.5 Su Buharı ile Yapılan Ön İşlemlerin Fındık Kabuğunun Bileşimi ve Enzimatik Hidrolizi Üzerine Etkisi.....	74
4.5.1 Su buharı ile yapılan ön işlemlerin fındık kabuğunun enzimatik hidrolizi üzerine etkisi .....	74

4.5.2. Su buharı ile yapılan ön işlemlerin fındık kabuğunun kimyasal bileşimi üzerine etkisi .....	76
4.5.3. Su buharı ön işlem prosesinde kütle denkliği .....	78
4.6 Farklı Alkalililer ile Yapılan Ön İşlemlerinin Fındık Kabuğunun Bileşimi ve Enzimatik Hidrolizi Üzerine Etkisi .....	83
4.7 Düşük Sıcaklıklarda NaOH ile Yapılan Ön İşlemlerinin Fındık Kabuğunun Bileşimi ve Enzimatik Hidrolizi Üzerine Etkisi.....	85
4.7.1 Düşük sıcaklıklarda NaOH ile Yapılan ön işlemlerinin fındık kabuğunun enzimatik hidrolizi üzerine etkisi.....	85
4.7.2 Düşük sıcaklıklarda NaOH ile yapılan ön işlemlerinin fındık kabuğunun kimyasal bileşimi üzerine etkisi.....	88
4.7.3. Düşük sıcaklıklarda NaOH ile yapılan ön işlem prosesinde kütle denkliği .....	91
4.8 Yüksek Sıcaklıklarda NaOH ile Yapılan Ön İşlemlerinin Fındık Kabuğunun Bileşimi ve Enzimatik Hidrolizi Üzerine Etkisi.....	96
4.8.1 Yüksek sıcaklıklarda NaOH ile yapılan ön işlemlerin enzimatik hidrolizi üzerine etkisi .....	96
4.8.2 Yüksek sıcaklıklarda NaOH ile yapılan ön işlemlerinin fındık kabuğunun kimyasal bileşimi üzerine etkisi.....	99
4.8.3. Yüksek sıcaklıklarda NaOH ile yapılan ön işlem prosesinde kütle denkliği .....	100
4.9 Düşük Sıcaklık Uzun Zaman NaOH Ön İşlemlerinin Fındık Kabuğunun Bileşimi ve Enzimatik Hidrolizi Üzerine Etkisi .....	105
4.9.1 Düşük sıcaklık uzun zaman NaOH ön işlemlerinin enzimatik hidrolizi üzerine etkisi .....	105
4.9.2 Düşük sıcaklık ve uzun zamanlarda NaOH ile yapılan ön işlemlerinin fındık kabuğunun kimyasal bileşimi üzerine etkisi .....	109
4.9.3. Düşük sıcaklık uzun zaman NaOH ön işlem prosesinde kütle denkliği .....	111

4.10 Düşük Sıcaklık Uzun Zaman NH <sub>4</sub> OH Ön İşleminin Fındık Kabuğunun Bileşimi ve Enzimatik Hidrolizi Üzerine Etkisi .....	116
4.10.1 Düşük sıcaklık uzun zaman NH <sub>4</sub> OH ön işleminin ön işlem görmüş fındık kabuğunun enzimatik hidrolizi üzerine etkisi .....	116
4.10.2 Düşük sıcaklıklarda ve uzun zamanlarda NH <sub>4</sub> OH ile yapılan ön işlemlerinin fındık kabuğunun kimyasal bileşimi üzerine etkisi .....	118
4.10.3. Düşük sıcaklık uzun zaman NH <sub>4</sub> OH ön işlem prosesinde kütle denkliği .....	120
4.11. Organosolv ön işlemlerinin fındık kabuğunun kimyasal bileşimi ve enzimatik hidrolizine etkisi.....	125
4.11.1 Organosolv ön işlemlerinin fındık kabuğunun enzimatik hidrolizine etkisi .....	125
4.11.2 Organosolv ön işlemlerinin fındık kabuğunun kimyasal bileşimine etkisi.....	128
4.11.3. %4 NaOH içeren % 50'lik EtOH organosolv ön işlem prosesinde kütle denkliği .....	131
4.12. İyonik Sıvılarla Yapılan Ön İşlemlerinin Fındık Kabuğunun Kimyasal Bileşimi ve Enzimatik Hidrolizine Etkisi.....	136
4.12.1 İyonik sıvılarla yapılan ön işlemlerinin fındık kabuğunun enzimatik hidrolizine etkisi.....	136
4.12.2 İyonik sıvılarla yapılan ön işlemlerinin fındık kabuğunun kimyasal bileşimine etkisi .....	140
4.12.3. [EMIM]Ac ön işlem prosesinin (120 °C ve 1/10 katı/sıvı, 60 dak) kütle denkliği .....	144
4.13. Biyolojik Ön İşlemlerin Fındık Kabuğunun Kimyasal Bileşimi Ve Enzimatik Hidrolizine Etkisi.....	148
4.13.1 Biyolojik ön işlemlerin fındık kabuğunun enzimatik hidrolizine etkisi.....	148

4.13.2 Biyolojik ön işlemlerin fındık kabuğunun kimyasal bileşimine etkisi.....	152
4.13.3. <i>Phanerochaete chrysosporium</i> ile yapılan ön işlem (1/10 katı/sıvı, 28 <sup>0</sup> C, 1 hafta, 10 disk) prosesinin kütle denklığı.....	155
4.14. Alkali Peroksit (NaOH-H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ) Ön İşleminin Fındık Kabuğunun Kimyasal Bileşimine ve Enzimatik Hidrolizine Etkisi .....	160
4.14.1 Alkali peroksit (NaOH-H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ) ön işleminin fındık kabuğunun enzimatik hidrolizine etkisi.....	160
4.14.2 Alkali peroksit (NaOH-H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ) ön işleminin fındık kabuğunun kimyasal bileşimine etkisi.....	162
4.14.3. Alkali peroksit (NaOH-H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ) ön işlem prosesinin kütle denklığı.	164
4.15. Yüksek Sıcaklık NaOH Prosesinin Optimizasyonu .....	169
4.15.1. Yüksek sıcaklık alkali ön işlemlerinin fındık kabuğunun enzimatik hidrolizine etkisi.....	169
4.15.2 Yüksek sıcaklık alkali ön işlemlerinin fındık kabuğunun kimyasal kompozisyonuna etkisi .....	173
4.15.3. Yüksek sıcaklık NaOH prosesinin optimizasyonu prosesinin kütle denklığı .....	177
4.16 Alkali Ön İşlem Uygulanmış Fındık Kabuğunun Enzimatik Hidrolizine Tanecik Boyutunun Etkisi.....	182
4.17. Alkali Ön İşlem Uygulanmış Fındık Kabuğunun Enzim Karışımı ile Hidrolizi .....	183
4.18 Ön İşlem Uygulanmış Fındık Kabuğunun Enzimatik Hidroliz Verilerinin Modellenmesi .....	186
4.18.1. Michaelis-Menten kinetik model parametrelerinin belirlenmesi ....	186
4.19 Ön İşlem Uygulanmış Ve Ön İşlem Uygulanmamış Fındık Kabuklarının SEM Analizi .....	189

**5. SONUÇ TARTIŞMA ve ÖNERİLER**

**190**

**KAYNAKLAR .....202**

## ŞEKİLLER DİZİNİ

2.1. Lignoselülozik Biyokütle.....	4
2.2. Selülozun Yapısı.....	5
2.3. Hemiselüloz Yapısı.....	6
2.4. Lignin Yapısı.....	8
2.5. Enzim katalizörlüğünde substrat ve ürün konsantrasyonunun zamanla değişimi.....	23
2.6. Substrat konsantrasyonu ile reaksiyon hızının değişimi.....	25
3.1. DNS kalibrasyon doğrusu .....	34
3.2. Standart şeker bileşiklerinin YBSK ile ayrılması.....	37
3.3. YBSK analizi sonucu standart şeker bileşiklerinin kalibrasyon doğruları.....	37
3.4. Ön işlem sürecinin sıcaklık profili.....	49
4.1. Ön işlem uygulanmamış ve alkali ön işlem uygulanmış fındık kabuklarının kimyasal bileşimi.....	56
4.2. %2,25 NaOH ile 60 °C de ön işlem uygulanmış fındık kabuklarının enzimatik hidroliz hızına selülaz miktarının etkisi .....	56
4.3. %2,25 NaOH ile 60 °C de ön işlem uygulanmış fındık kabuklarının enzimatik hidroliz hızına katı/sıvı miktarının etkisi .....	57
4.4. %2,25 NaOH ile 60°C de ön işlem görmüş fındık kabuklarının enzimatik hidroliz hızına 60 FPU/g selülaz enzimi üzerine β-Glikozidaz ilavesinin etkisi.....	58
4.5. Farklı asitler ile 1/10 katı/sıvı oranında, 90°C sıcaklıkta 30 dakika ön işlem uygulanmış fındık kabuklarının enzimatik hidrolizi sonucunda elde edilen glikoz kazanımına asit çeşidi ve derişimlerinin etkisi.....	59
4.6. H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> derişiminin (90°C, 1/10 katı/sıvı, 30 dak) ön işlem uygulanmış fındık kabuklarının sakkarifikasyon ve selüloz hidrolizine asit derişiminin etkisi.....	60
4.7. CH <sub>3</sub> COOH derişiminin (90°C, 1/10 katı/sıvı, 30 dak) ön işlem uygulanmış fındık kabuklarının sakkarifikasyon ve selüloz hidrolizine asit derişiminin etkisi.....	61

4.8. HNO <sub>3</sub> derişiminin (90 <sup>0</sup> C, 1/10 katı/sıvı, 30 dak) işlem uygulanmış findık kabuklarının sakkarifikasyon ve selüloz hidrolizine asit derişiminin .....	61
4.9. H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> derişiminin (90 <sup>0</sup> C, 1/10 katı/sıvı, 30 dak) ön işlem uygulanmış findık kabuklarının kimyasal bileşimi üzerine etkisi .....	62
4.10. CH <sub>3</sub> COOH derişiminin (90 <sup>0</sup> C, 1/10 katı/sıvı, 30 dak) ön işlem uygulanmış findık kabuklarının kimyasal bileşimi üzerine etkisi .....	63
4.11. HNO <sub>3</sub> derişiminin (90 <sup>0</sup> C, 1/10 katı/sıvı, 30 dak) ön işlem uygulanmış findık kabuklarının kimyasal bileşimi üzerine etkisi .....	64
4.12. H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> ön işleminde (% 1 H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , 1/10 katı/sıvı, 10 dak) sıcaklığın ön işlem uygulanmış findık kabuklarının enzimatik hidrolizi sonucunda elde edilen glikoz kazanımı, sakkarifikasyon ve selüloz hidroliz verimi üzerine etkisi .....	65
4.13. H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> ön işleminde (% 1 H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , 1/10 katı/sıvı, 120 <sup>0</sup> C) ön işlem zamanının findık kabuklarının enzimatik hidrolizi sonucunda elde edilen glikoz kazanımı, sakkarifikasyon ve selüloz hidroliz verimi üzerine etkisi.....	66
4.14. H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> ön işleminde 120 <sup>0</sup> C, 1/10 katı/sıvı, 10 dak) derişimin ön işlem uygulanmış findık kabuklarının enzimatik hidrolizi sonucunda elde edilen glikoz kazanımı, sakkarifikasyon ve selüloz hidroliz verimi üzerine etkisi .....	67
4.15. H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> ön işleminde (% 1 H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , 1/10 katı/sıvı, 10 dak) ön işlem sıcaklığının ön işlem uygulanmış findık kabuklarının kimyasal bileşimi üzerine etkisi .....	68
4.16. H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> ön işleminde (% 1 H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , 1/10 katı/sıvı, 120 <sup>0</sup> C dak) ön işlem zamanının ön işlem uygulanmış findık kabuklarının kimyasal bileşimi üzerine etkisi .....	68
4.17. H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> ön işleminde (10 dak, 1/10 katı/sıvı, 120 <sup>0</sup> C dak) asit derişiminin ön işlem uygulanmış findık kabuklarının kimyasal bileşimi üzerine etkisi .....	69
4.18. 120 <sup>0</sup> C'de, 1/10 katı/sıvı oranında 10 dak, %0,5 H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> ile ön işlem uygulanmış ve uygulanmamış findık kabuklarının kimyasal kompozisyonu .....	70

4.19. 120 <sup>0</sup> C’de, 1/10 katı/sıvı oranında 10 dakika, %0,5 H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> ile ön işlem uygulanmış ve ön işlem uygulanmamış findık kabuklarının enzimatik hidrolizi sonucunda elde edilen şeker miktarları.....	71
4.20. 120 <sup>0</sup> C’de, 1/10 katı/sıvı oranında 10 dak, %0,5 H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> ön işlem sıvısında bulunan bazı bileşikler.....	71
4.21. %0,5 H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> ile 120 <sup>0</sup> C’de 10 dak, 1/10 katı/sıvı oranında ön işlem uygulanmış findık kabuklarının enzimatik hidroliz sonrasındaki kütle denkliği.....	72
4.22. %0,5 H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> ile 120 <sup>0</sup> C’de 10 dak, 1/10 katı/sıvı oranında ön işlem uygulanmış findık kabuklarının enerji denkliği.....	73
4.23. Su buharı ön işlemi uygulanmış (120 <sup>0</sup> C, 1/10 katı/sıvı) findık kabuklarının enzimatik hidrolizi sonucunda elde edilen glikoz kazanımı sakkarifikasyon ve selüloz hidroliz verimi üzerine zamanın etkisi.....	75
4.24. Su buharı ön işlemi uygulanmış (60 dak, 1/10 katı/sıvı) findık kabuklarının enzimatik hidrolizi sonucunda elde edilen glikoz kazanımı, sakkarifikasyon ve selüloz hidroliz verimi üzerine sıcaklığının etkisi .....	75
4.25. Su buharı ön işlemi uygulanmış (200 <sup>0</sup> C, 60 dak) findık kabuklarının enzimatik hidrolizi sonucunda elde edilen glikoz kazanımı, sakkarifikasyon ve selüloz hidroliz verimi üzerine katı/sıvı oranının etkisi .....	76
4.26. Su buharı ön işlemi uygulanmış (120 <sup>0</sup> C, 1/10 katı/sıvı) findık kabuklarının kimyasal bileşimi üzerine ön işlem zamanının etkisi.....	77
4.27. Su buharı ön işlemi uygulanmış (60 dak, 1/10 katı/sıvı) findık kabuklarının kimyasal bileşimi üzerine sıcaklık etkisi .....	77
4.28. Su buharı ön işlemi uygulanmış (200 <sup>0</sup> C, 60 dak) findık kabuklarının kimyasal bileşimi üzerine katı/sıvı oranının etkisi.....	78
4.29. 200 <sup>0</sup> C, 1/5 katı/ sıvı, 60 dakika şartlarında su buharı ön işlemi uygulanmış findık kabuklarının kimyasal bileşimi .....	79
4.30. 200 <sup>0</sup> C, 1/5 katı/ sıvı, 60 dak şartlarında su buharı ön işlemi uygulanmış findık kabuklarının enzimatik hidrolizi sonucunda elde edilen şeker miktarları .....	80
4.31. 200 <sup>0</sup> C, 1/5 katı/ sıvı, 60 dak şartlarında elde edilmiş su buharı ön işlem sıvısının kimyasal bileşimi.....	80



4.32. 200 <sup>0</sup> C, 1/5 katı/ sıvı, 60 dak şartlarında su buharı ön işlemleri uygulanmış findık kabuklarının enzimatik hidrolizi sonrasındaki kütle denklığı.....	81
4.33. 200 <sup>0</sup> C, 1/5 katı/ sıvı, 60 dakika şartlarında su buharı ön işlemleri uygulanmış findık kabuklarının enerji denklığı.....	81
4.34. Alkali çeşidinin (%2,25, 60 <sup>0</sup> C, 1/10 katı/sıvı, 30 dak) ön işlem uygulanmış findık kabuklarının enzimatik hidrolizi sonucunda elde edilen glikoz kazanımı, sakkarifikasyon ve selüloz hidroliz verimi üzerine etkisi .....	84
4.35. Alkali çeşidinin (%2,25, 60 <sup>0</sup> C, 1/10 katı/sıvı, 30 dak) ön işlem uygulanmış findık kabuklarının kimyasal bileşimi üzerine etkisi.....	84
4.36. NaOH derişiminin (60 <sup>0</sup> C, 1/10, 30 dak) ön işlem uygulanmış findık kabuklarının enzimatik hidrolizi sonucunda elde edilen glikoz kazanımı, sakkarifikasyon ve selüloz hidroliz verimi üzerine etkisi.....	86
4.37. NaOH ön işleminde sıcaklığın (%2,25 NaOH, 1/10, 30 dak) ön işlem uygulanmış findık kabuklarının enzimatik hidrolizi sonucunda elde edilen glikoz kazanımı, sakkarifikasyon ve selüloz hidroliz verimi üzerine etkisi .....	87
4.38. NaOH ön işleminde zamanının (%2,25 NaOH, 1/10, 60 <sup>0</sup> C) ön işlem uygulanmış findık kabuklarının enzimatik hidrolizi sonucunda elde edilen glikoz kazanımı, sakkarifikasyon ve selüloz hidroliz verimi üzerine etkisi .....	87
4.39. NaOH ön işleminde katı/sıvı oranının (%2,25 NaOH, 60 <sup>0</sup> C, 30 dakika) ön işlem uygulanmış findık kabuklarının enzimatik hidrolizi sonucunda elde edilen glikoz kazanımı, sakkarifikasyon ve selüloz hidroliz verimi üzerine etkisi.....	88
4.40. NaOH derişiminin (60 <sup>0</sup> C, 1/10, 30 dak) ön işlem uygulanmış findık kabuklarının kimyasal bileşimi üzerine etkisi.....	89
4.41. NaOH ön işleminde (%2,25 NaOH, 1/10, 30 dak) sıcaklığın ön işlem uygulanmış findık kabuklarının kimyasal bileşimi üzerine etkisi.....	90
4.42. NaOH ön işleminde (%2,25 NaOH, 1/10, 60 <sup>0</sup> C) zamanın ön işlem uygulanmış findık kabuklarının kimyasal bileşimi üzerine etkisi .....	90

4.43. NaOH ön işleminde (%2,25 NaOH, 60 °C, 30 dakika) katı/sıvı oranının ön işlem uygulanmış fındık kabuklarının kimyasal bileşimi üzerine etkisi ..	91
4.44. 60 °C, 1/40 katı/sıvı, 30 dak % 2,25 NaOH ön işlem uygulanmış fındık kabuklarının kimyasal ..	92
4.45. 60°C, 1/40 katı/sıvı, 30 dak %2,25 NaOH ön işlem uygulanmış fındık kabuklarının enzimatik hidrolizi sonucunda elde edilen şeker miktarları.....	92
4.46. 60°C, 1/40 katı/sıvı, 30 dak %2,25 NaOH ön işlem ön işlem sıvısının kimyasal bileşim.....	93
4.47. 60°C, 1/40 katı/sıvı, 30 dak ve %2,25 NaOH şartlarında işlem uygulanmış fındık kabuklarının enzimatik hidroliz sonrasındaki kütle denklığı.....	94
4.48. %2,25 NaOH ön işlem (60°C, 30 dakika, 1/40 katı/sıvı) ön işlem uygulanmış fındık kabuklarının enerji denklığı.....	95
4.49. Yüksek sıcaklık NaOH ön işleminde (%2,25 NaOH, 1/10, 30 dak) sıcaklığın ön işlem uygulanmış fındık kabuklarının enzimatik hidrolizi sonucunda elde edilen glikoz kazanımı, sakkarifikasyon ve selüloz hidroliz verimi üzerine etkisi.....	97
4.50. Yüksek sıcaklık NaOH ön işleminde (%2,25 NaOH, 1/10, 150°C) zamanın ön işlem uygulanmış fındık kabuklarının enzimatik hidrolizi sonucunda elde edilen glikoz kazanımı, sakkarifikasyon ve selüloz hidroliz verimi üzerine etkisi.....	98
4.51. Yüksek sıcaklık NaOH ön işleminde (150°C, 1/10, 60 dak) NaOH derişiminin ön işlem uygulanmış fındık kabuklarının enzimatik hidrolizi sonucunda elde edilen glikoz kazanımı, sakkarifikasyon ve selüloz hidroliz verimi üzerine etkisi.....	98
4.52. Yüksek sıcaklık NaOH ön işleminde (%2,25 NaOH, 1/10, 30 dak) sıcaklığın ön işlem uygulanmış fındık kabuklarının kimyasal bileşimleri üzerine etkisi.....	99

4.53. Yüksek sıcaklık NaOH ön işleminde (%2,25 NaOH, 1/10, 150°C) zamanın ön işlem uygulanmış findık kabuklarının kimyasal bileşimleri üzerine etkisi.....	100
4.54. Yüksek sıcaklık NaOH ön işleminde (150°C, 1/10, 30 dak) NaOH derişiminin ön işlem uygulanmış findık kabuklarının kimyasal bileşimleri üzerine etkisi.....	100
4.55. 150°C, 1/10 katı/sıvı, 60 dak ve %2,25 NaOH ön işlem uygulanmış findık kabuklarının kimyasal bileşimi .....	101
4.56. 150°C, 1/10 katı/sıvı, 60 dak ve %2,25 NaOH ön işlem uygulanmış findık kabuklarının enzimatik hidrolizi sonucunda elde edilen şeker miktarları...	102
4.57. 150°C, 1/10 katı/sıvı, 60 dak ve %2,25 NaOH ön işlemi sonunda elde edilen ön işlem sıvısının kimyasal bileşimi.....	102
4.58. 150°C, 1/10 katı/sıvı, 60 dak ve % 2,25 NaOH şartlarında ön işlem uygulanmış findık kabuklarının enzimatik hidroliz sonrasındaki kütle denkliği.....	103
4.59 150°C'de, 1/10 katı/sıvı oranında, 60 dakika % 2,25 NaOH ile ön işlem uygulanmış findık kabuklarının enerji denkliği.....	103
4.60. Düşük sıcaklık uzun zaman NaOH (30°C, 1/10 katı/sıvı, ve %2 NaOH) ön işleminde zamanın ön işlem uygulanmış findık kabuklarının enzimatik hidrolizi sonucunda elde edilen glikoz kazanımı, sakkarifikasyon ve selüloz hidroliz verimi üzerine etkisi .....	106
4.61. Düşük sıcaklık uzun zaman NaOH (30°C, 1/10 katı/sıvı, 3 gün) ön işleminde NaOH derişiminin ön işlem uygulanmış findık kabuklarının enzimatik hidrolizi sonucunda elde edilen glikoz kazanımı, sakkarifikasyon ve selüloz hidroliz verimi üzerine etkisi .....	107
4.62. Düşük sıcaklık uzun zaman NaOH (30 °C, 1/10 katı/sıvı, ve % 6 NaOH, 3 gün) ön işleminde katı/sıvı oranının ön işlem uygulanmış findık kabuklarının enzimatik hidrolizi sonucunda elde edilen glikoz kazanımı, sakkarifikasyon ve selüloz hidroliz verimi üzerine etkisi .....	107

- 4.63. Düşük sıcaklık uzun zaman NaOH (1/10, 3 gün, %6 NaOH) ön işleminde sıcaklığın ön işlem uygulanmış fındık kabuklarının enzimatik hidrolizi sonucunda elde edilen glikoz kazanımı, sakkarifikasyon ve selüloz hidroliz verimi üzerine etkisi .....108
- 4.64. Düşük sıcaklık uzun zaman NaOH (1/10, 30°C, %2 NaOH) ön işleminde zamanın ön işlem uygulanmış fındık kabuklarının kimyasal bileşimi üzerine etkisi.....110
- 4.65. Düşük sıcaklık uzun zaman NaOH (1/10, 30°C, 3gün) ön işleminde NaOH derişiminin ön işlem uygulanmış fındık kabuklarının kimyasal bileşimi üzerine etkisi.....110
- 4.66. Düşük sıcaklık uzun zaman NaOH (3 gün, 30°C, % 6 NaOH) ön işleminde katı/sıvı oranının ön işlem uygulanmış fındık kabuklarının kimyasal bileşimi üzerine etkisi.....111
- 4.67. Düşük sıcaklık uzun zaman NaOH (1/10, 3 gün, %2 NaOH) ön işleminde sıcaklığın ön işlem uygulanmış fındık kabuklarının kimyasal bileşimi üzerine etkisi .....111
- 4.68. 30°C, 1/10 katı/sıvı oranı, %6 NaOH ve 3 gün ön işlem şartlarında ön işlem uygulanmış fındık kabuğunun kimyasal bileşimi.....112
- 4.69. 30°C, 1/10 katı/sıvı oranı, %6 NaOH ve 3 gün ön işlem şartlarında ön işlem uygulanmış fındık kabuklarının enzimatik hidroliz sonucunda elde edilen şeker miktarları.....112
- 4.70. 30°C, 1/10 katı/sıvı oranı, %6 NaOH ve 3 gün ön işlem şartlarında elde edilen ön işlem sıvılarının kimyasal içeriği.....113
- 4.71. 30 °C, 1/10 katı/sıvı oranı, 3 gün ve % 6 NaOH ön işlem uygulanmış fındık kabuklarının enzimatik hidroliz sonrasındaki kütle denkliği.....114
- 4.72. 30 °C ve 1/10 katı/ sıvı oranında 3 gün, % 6 NaOH ön işlem uygulanmış fındık kabuklarının enerji denkliği.....115
- 4.73. Düşük sıcaklık uzun zaman NH<sub>4</sub>OH (1/10, 60°C, 1 gün) ön işleminde NH<sub>4</sub>OH derişiminin ön işlem uygulanmış fındık kabuklarının enzimatik hidrolizi sonucunda elde edilen glikoz kazanımı, sakkarifikasyon ve selüloz hidroliz verimi üzerine etkisi .....117

- 4.74. Düşük sıcaklık uzun zaman  $\text{NH}_4\text{OH}$  (1/10, %3  $\text{NH}_4\text{OH}$ , 1 gün) ön işleminde sıcaklığın ön işlem uygulanmış fındık kabuklarının enzimatik hidrolizi sonucunda elde edilen glikoz kazanımı, sakkarifikasyon ve selüloz hidroliz verimi üzerine etkisi.....117
- 4.75. Düşük sıcaklık uzun zaman  $\text{NH}_4\text{OH}$  (1/10, %3  $\text{NH}_4\text{OH}$ , 90°C) ön işleminde zamanın ön işlem uygulanmış fındık kabuklarının enzimatik hidrolizi sonucunda elde edilen glikoz kazanımı, sakkarifikasyon ve selüloz hidroliz verimi üzerine etkisi.....118
- 4.76. Düşük sıcaklık uzun zaman  $\text{NH}_4\text{OH}$  (1/10, 1 gün, 60 °C) ön işleminde  $\text{NH}_4\text{OH}$  derişiminin ön işlem uygulanmış fındık kabuklarının kimyasal bileşimine etkisi.....119
- 4.77. Düşük sıcaklık uzun zaman  $\text{NH}_4\text{OH}$  (1/10, %3  $\text{NH}_4\text{OH}$ , 1 gün) ön işleminde sıcaklığın ön işlem uygulanmış fındık kabuklarının kimyasal bileşimine etkisi.....119
- 4.78. Düşük sıcaklık uzun zaman  $\text{NH}_4\text{OH}$  (1/10, %3  $\text{NH}_4\text{OH}$ , 60 °C) ön zamanın ön işlem uygulanmış fındık kabuklarının kimyasal bileşimine etkisi.....120
- 4.79. 90°C, 1/10 katı/sıvı oranı, %3  $\text{NH}_4\text{OH}$  ve 1 gün ön işlem uygulanmış fındık kabuklarının kimyasal bileşimi.....121
- 4.80. 90°C, 1/10 katı/sıvı oranı, %3  $\text{NH}_4\text{OH}$  ve 1 gün ön işlem uygulanmış fındık kabuklarının enzimatik hidrolizi sonucunda elde edilen şeker miktarları.....121
- 4.81. 90°C, 1/10 katı/sıvı oranı, %3  $\text{NH}_4\text{OH}$  ve 1 gün ön işlem şartlarında elde edilen ön işlem sıvılarının kimyasal içeriği.....122
- 4.82. 90°C, 1/10 katı/sıvı oranı, %3  $\text{NH}_4\text{OH}$  ve 1 gün ön işlem şartlarında ön işlem uygulanmış fındık kabuklarının enzimatik hidroliz sonrasındaki kütle denkliği.....123
- 4.83. 90°C, 1/10 katı/sıvı oranı, %3  $\text{NH}_4\text{OH}$  ve 1 gün ön işlem uygulanmış fındık kabuklarının enerji denkliği.....124

- 4.84. Etanolamin, dietilen glikol, etilen glikol (1/10 katı/sıvı, 120°C, 60 dak)'ün ön işlem uygulanmış fındık kabuklarının enzimatik hidrolizi sonucunda elde edilen glikoz kazanımı, sakkarifikasyon ve selüloz hidroliz verimi üzerine etkisi.....126
- 4.85. 120 ve 150°C'de (1/10, 60 dakika) dietilen glikol'ün, ön işlem uygulanmış fındık kabuklarının enzimatik hidrolizi sonucunda elde edilen glikoz kazanımı, sakkarifikasyon ve selüloz hidroliz verimi üzerine etkisi.....126
- 4.86. %50 EtOH ile hazırlanan NaOH ön işlemide (1/10, 120 °C, 30 dakika) NaOH derişiminin ön işlem uygulanmış fındık kabuklarının enzimatik hidrolizi sonucunda elde edilen glikoz kazanımı, sakkarifikasyon ve selüloz hidroliz verimi üzerine etkisi .....127
- 4.87. %50 EtOH ile hazırlanan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ön işlemide (1/10, 120 °C, 30 dakika) H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> derişiminin ön işlem uygulanmış fındık kabuklarının enzimatik hidrolizi sonucunda elde edilen glikoz kazanımı, sakkarifikasyon ve selüloz hidroliz verimi üzerine etkisi .....128
- 4.88. Etanolamin, dietilen glikol, etilen glikol (1/10 katı/sıvı, 120°C, 60 dak)'ün ön işlem uygulanmış fındık kabuklarının kimyasal bileşimine etkisi.....129
- 4.89. 120 ve 150°C sıcaklıklarda (1/10katı sıvı, 60 dakika) dietilen glikol'ün, ön işlem uygulanmış fındık kabuklarının kimyasal bileşimine etkisi.....129
- 4.90. %50 EtOH ile hazırlanan NaOH ön işleminde (1/10 katı/, 120°C, 30 dak) NaOH derişiminin ön işlem uygulanmış fındık kimyasal bileşimine etkisi.....130
- 4.91. %50 EtOH ile hazırlanan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ön işleminde (1/10 katı/, 120°C, 30 dak) H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> derişiminin ön işlem uygulanmış fındık kabuklarının kimyasal bileşimine etkisi.....131
- 4.92. 120°C, 1/10 katı/sıvı oranı, %4 NaOH içeren %50 EtOH ve 30 dak proses koşullarında ön işlem uygulanmış fındık kabuklarının kimyasal bileşimi.....132
- 4.93. 120°C, 1/10 katı/sıvı oranı, %4 NaOH içeren %50 EtOH ve 30 dak proses koşullarında ön işlem uygulanmış fındık kabuklarının hnzimatik hidroliz sonucunda elde edilen şeker miktarları .....132

- 4.94. 120°C, 1/10 katı/sıvı oranı, %4 NaOH içeren %50 EtOH ve 30 dak proses koşullarında ön işlem sıvılarının kimyasal bileşimi .....133
- 4.95. 120°C, 1/10 katı/sıvı oranı, %4 NaOH içeren %50 EtOH ve 30 dak proses koşullarında ön işlem uygulanmış fındık kabuklarının enzimatik hidroliz sonrasındaki kütle denklığı.....134
- 4.96. 1/10 katı/sıvı oranında, 120°C ön işlem sıcaklığında, 30 dakika boyunca %50 EtOH ile hazırlanan %4 NaOH ön işlem uygulanmış fındık kabuklarının enerji denklığı.....135
- 4.97. Katı/sıvı oranının [EMIM]Ac ile ön işlem (120°C, 60 dak) uygulanmış fındık kabuklarının enzimatik hidrolizi sonucunda elde edilen glikoz kazanımı, sakkarifikasyon ve selüloz hidroliz verimi üzerine etkisi .....137
- 4.98. Katı/sıvı oranının [EMIM]DEP ile ön işlem (120°C, 60 dak) uygulanmış fındık kabuklarının enzimatik hidrolizi sonucunda elde edilen glikoz kazanımı, sakkarifikasyon ve selüloz hidroliz verimi üzerine etkisi .....137
- 4.99. Katı/sıvı oranının [EMIM]Cl ile ön işlem (120°C, 60 dak) uygulanmış fındık kabuklarının enzimatik hidrolizi sonucunda elde edilen glikoz kazanımı, sakkarifikasyon ve selüloz hidroliz verimi üzerine etkisi.....138
- 4.100. Ön işlem zamanının [EMIM]Ac ile ön işlem (120°C, 1/20) uygulanmış fındık kabuklarının enzimatik hidrolizi sonucunda elde edilen glikoz kazanımı, sakkarifikasyon ve selüloz hidroliz verimi üzerine etkisi.....139
- 4.101. Ön işlem zamanının [EMIM]DEP ile ön işlem (120°C, 1/20) uygulanmış fındık kabuklarının enzimatik hidrolizi sonucunda elde edilen glikoz kazanımı, sakkarifikasyon ve selüloz hidroliz verimi üzerine etkisi.....139
- 4.102. Ön işlem zamanının [EMIM]Cl ile ön işlem (120°C, 1/20) uygulanmış fındık kabuklarının enzimatik hidrolizi sonucunda elde edilen glikoz kazanımı, sakkarifikasyon ve selüloz hidroliz verimi üzerine etkisi.....139
- 4.103. Katı/sıvı oranının [EMIM]Ac ile ön işlem (120°C, 60 dak) uygulanmış fındık kabuklarının kimyasal bileşimine etkisi.....141
- 4.104. Katı/sıvı oranının [EMIM]DEP ile ön işlem (120°C, 60 dak) uygulanmış fındık kabuklarının kimyasal bileşimine etkisi .....141

- 4.105. Katı/sıvı oranının 1-etil-3metilimidazolium klorür ile ön işlem (120 °C, 60 dak) uygulanmış fındık kabuklarının kimyasal bileşimine etkisi.....142
- 4.106. Ön işlem zamanının [EMIM]Ac ile ön işlem (120 °C, 60 dakika) uygulanmış fındık kabuklarının kimyasal bileşimine etkisi.....143
- 4.107.Ön işlem zamanının [EMIM]DEP ile ön işlem (120 °C, 60 dakika) uygulanmış fındık kabuklarının kimyasal bileşimine etkisi.....143
- 4.108. Ön işlem zamanının [EMIM]Cl ile ön işlem (120°C, 60 dakika) uygulanmış fındık kabuklarının kimyasal bileşimine etkisi.....144
- 4.109. [EMIM]Ac ile ön işlem (120°C, 1/20, 60 dak) uygulanmış fındık kabuklarının kimyasal bileşimi.....145
- 4.110. [EMIM]Ac ile ön işlem (120 °C, 1/20, 60 dak) uygulanmış fındık kabuklarının enzimatik hidrolizi sonucunda elde edilen şeker miktarları .....145
- 4.111. [EMIM]Ac ile ön işlem (120°C, 1/20, 60 dakika) uygulanmış fındık kabuklarının enzimatik hidroliz sonrasındaki kütle denklığı.....146
- 4.112. 120 °C ön işlem sıcaklığında, 1/20 katı sıvı oranında [EMIM]Ac ile 60 dakika ön işlem ön işlem uygulanmış fındık kabuklarının enerji denklığı.....146
- 4.113. Farklı funguslarla ön işlem uygulanmış (1/10 katı/sıvı, 28 °C, 1 hafta) fındık kabuklarının enzimatik hidrolizi sonucunda elde edilen glikoz kazanımı, sakkarifikasyon ve selüloz hidroliz verimi üzerine etkisi.....149
- 4.114. Disk sayısının *Trametes versicolor* ile ön işlem (1/10 katı/sıvı, 28 °C, 1 hafta) uygulanmış fındık kabuklarının enzimatik hidrolizi sonucunda elde edilen glikoz kazanımı, sakkarifikasyon ve selüloz hidroliz verimi üzerine etkisi.....150
- 4.115. Disk sayısının *Phanerochaete chrysosporium* ile ön işlem (1/10 katı/sıvı, 28 °C, 1 hafta) uygulanmış fındık kabuklarının enzimatik hidrolizi sonucunda elde edilen glikoz kazanımı, sakkarifikasyon ve selüloz hidroliz verimi üzerine etkisi.....150



- 4.116. Disk sayısının *P. sajor-caju* ile ön işlem (1/10 katı/sıvı, 28<sup>0</sup>C, 1 hafta) uygulanmış fındık kabuklarının enzimatik hidrolizi sonucunda elde edilen glikoz kazanımı, sakkarifikasyon ve selüloz hidroliz verimi üzerine etkisi.....151
- 4.117. Disk sayısının *Pleurotus ostreatus* ile ön işlem (1/10 katı/sıvı, 28<sup>0</sup>C, 1 hafta) uygulanmış fındık kabuklarının enzimatik hidrolizi sonucunda elde edilen glikoz kazanımı, sakkarifikasyon ve selüloz hidroliz verimi üzerine etkisi.....152
- 4.118. Farklı funguslarla ön işlem uygulanmış (1/10 katı/sıvı, 28<sup>0</sup>C, 1 hafta) fındık kabuklarının kimyasal bileşimleri.....153
- 4.119. Disk sayısının *Trametes versicolor* ile ön işlem (1/10 katı/sıvı, 28<sup>0</sup>C, 1 hafta) uygulanmış fındık kabuklarının kimyasal bileşimine etkisi.....153
- 4.120. Disk sayısının *Phanerochaete chrysosporium* ile ön işlem (1/10 katı/sıvı, 28<sup>0</sup>C, 1 hafta) uygulanmış fındık kabuklarının kimyasal bileşimine etkisi. ....154
- 4.120. Disk sayısının *P. sajor-caju* ile ön işlem (1/10 katı/sıvı, 28<sup>0</sup>C, 1 hafta) uygulanmış fındık kabuklarının kimyasal bileşimi üzerine etkisi.....154
- 4.121. Disk sayısının *Pleurotus ostreatus* ile ön işlem (1/10 katı/sıvı, 28<sup>0</sup>C, 1 hafta) uygulanmış fındık kabuklarının kimyasal bileşimine etkisi .....155
- 4.122. 1/10 katı/sıvı oranında, 28<sup>0</sup>C ön işlem sıcaklığında 10 disk ile 1 hafta boyunca *Phanerochaete chrysosporium* ile ön işlem uygulanmış fındık kabuklarının kimyasal bileşimi .....156
- 4.123. 1/10 katı/sıvı oranında, 28<sup>0</sup>C ön işlem sıcaklığında 10 disk ile 1 hafta boyunca *Phanerochaete chrysosporium* ile ön işlem uygulanmış fındık kabuklarının enzimatik hidrolizi sonucunda elde edilen şeker miktarları .....156
- 4.124. 1/10 katı/sıvı oranında, 28<sup>0</sup>C ön işlem sıcaklığında 10 disk ile 1 hafta boyunca *Phanerochaete chrysosporium* ile ön işlem uygulanmış fındık kabuklarının ön işlemi sonucu elde edilen kimyasalların içeriği .....157

- 4.125. *Phanerochaete chrysosporium* ile ön işlem (1/10 katı/sıvı, 28 °C, 1 hafta, 10 disk) uygulanmış fındık kabuklarının enzimatik hidroliz sonrasındaki kütle denklığı .....158
- 4.125. 1/10 katı/sıvı oranında, 28 °C ön işlem sıcaklığında 10 disk ile 1 hafta boyunca *Phanerochaete chrysosporium* ön işlem uygulanmış fındık kabuklarının enerji denklığı .....159
- 4.126.%2 lik NaOH'a ilave edilen H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> miktarının (1/10, 30°C, 1 gün) ön işlem uygulanmış fındık kabuklarının enzimatik hidrolizi sonucunda elde edilen glikoz kazanımı, sakkarifikasyon ve selüloz hidroliz verimi üzerine etkisi.....161
- 4.127. %2 lik H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ilave edilmiş NaOH (1/10, 30°C, 1 gün) ön işleminde, ön işlem zamanının fındık kabuklarının enzimatik hidrolizi sonucunda elde edilen glikoz kazanımı, sakkarifikasyon ve selüloz hidroliz verimi üzerine etkisi.....161
- 4.128. %2 lik H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ilave edilmiş NaOH (1/10, 6 sa) ön işleminde, ön işlem sıcaklığının fındık kabuklarının enzimatik hidrolizi sonucunda elde edilen glikoz kazanımı, sakkarifikasyon ve selüloz hidroliz verimi üzerine etkisi.....162
- 4.129. %2 lik NaOH'a ilave edilen H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> miktarının (1/10, 30°C, 1 gün) ön işlem uygulanmış fındık kabuklarının kimyasal bileşimine etkisi .....163
- 4.130. %2 lik H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ilave edilmiş NaOH (1/10, 30°C) ön işleminde, ön işlem zamanının fındık kabuğunun kimyasal bileşimine etkisi.....163
- 4.131. %2 lik H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ilave edilmiş NaOH (1/10, 6sa) ön işleminde, ön işlem sıcaklığı'nın fındık kabuğunun kimyasal bileşimine etkisi .....164
- 4.132. %2 lik H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ilave edilmiş NaOH (1/10, 30°C, 6 saat) ile ön işlem uygulanmış fındık kabuklarının kimyasal bileşimi .....165
- 4.133. %2 lik H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ilave edilmiş NaOH (1/10, 30°C, 6 saat) ile ön işlem uygulanmış fındık kabuklarının enzimatik hidrolizi sonucunda elde edilen şeker miktarları.....165
- 4.134. %2 lik H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ilave edilmiş NaOH (1/10, 30°C, 6 saat) ön işleminde, ön işlem sıvısının kimyasal bileşimi.....165

4.135. %2 lik H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ilave edilmiş NaOH (1/10, 30°C, 6sa) ön işlemi uygulanmış findık kabuklarının enzimatik hidroliz sonrasındaki kütle denklığı.....	167
4.136 1/10 katı/sıvı oranında, 30°C ön işlem sıcaklığında 6 saat boyunca %2 NaOH çözelti içerisinde hazırlanan %2 lik H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> çözeltisi ile ön işlem uygulanmış findık kabuklarının enerji denklığı.....	168
4.137. Yüksek sıcaklık ön işlem parametrelerinin glikoz kazanımı üzerine etkileri.....	172
4.138. Yüksek sıcaklık ön işlem parametrelerinin findık kabuklarının kimyasal kompozisyonu üzerine etkileri.....	175
4.139. %5,25 (a/h) NaOH, 180°C, 1/5 katı/sıvı, 30 dakika boyunca ön işlem uygulanmış findık kabuklarının kimyasal bileşimi .....	178
4.140. %5,25 (a/h) NaOH, 180°C, 1/5 katı/sıvı, 30 dakika boyunca ön işlem uygulanmış findık kabuklarının enzimatik hidrolizi sonucunda elde edilen şeker miktarları.....	179
4.141. %5,25 (a/h) NaOH, 180°C, 1/5 katı/sıvı, 30 dakika boyunca ön işlem uygulanmış findık kabuklarının ön işlem sonucu elde edilen kimyasalların içeriği.....	179
4.142. %5,25 (a/h) NaOH, 180°C, 1/5 katı/sıvı, 30 dakika ile 30 dakika boyunca ön işlem uygulanmış findık kabuklarının enzimatik hidroliz sonrasındaki kütle denklığı.....	180
4.143. %5,25 (a/h) NaOH çözeltisi ile 180°C, 1/5 katı/sıvı oranında 30 dakika boyunca ön işlem uygulanmış findık kabuklarının enerji denklığı.....	181
4.144. 180°C sıcaklıkta, 30 dakika süresince, %5,25 NaOH çözeltisi ile 1/5 katı/sıvı oranında uygulanmış findık kabuklarının enzimatik hidrolizi sonucunda elde edilen glikoz kazanımı, sakkarifikasyon ve selüloz hidroliz verimi üzerine parçacık boyutunun etkisi .....	182
4.145. 180°C sıcaklıkta, 30 dakika süresince, %5,25 NaOH çözeltisi ile 1/5 katı/sıvı oranında ön işlem uygulanmış findık kabuklarının kimyasal kompozisyonuna tanecik boyutunun etkisi.....	183
4.146. 180°C sıcaklıkta, 30 dakika süresince, %5,25 NaOH çözeltisi ile 1/5 katı/sıvı oranında ön işlem uygulanmış findık kabuklarının enzimatik hidrolizine selülaz enzim miktarının etkisi.....	184

- 4.147. 180<sup>0</sup>C sıcaklıkta, 30 dakika süresince, %5,25 NaOH çözeltisi ile 1/5 katı/sıvı oranında ön işlem uygulanmış fındık kabuklarının enzimatik hidrolizine selülaz enzimi üzerine ilave edilen beta glikozidaz enzim miktarının etkisi.....185
- 4.148. 180<sup>0</sup>C sıcaklıkta, 30 dakika süresince, %5,25 NaOH çözeltisi ile 1/5 katı/sıvı oranında ön işlem uygulanmış fındık kabuklarının enzimatik hidrolizine selülaz ve beta glikozidaz enzimi üzerine ilave edilen ksilanaz enzim miktarının etkisi.....185
- 4.149. 180<sup>0</sup>C sıcaklıkta, 30 dakika süresince, %5,25 NaOH çözeltisi ile 1/5 katı/sıvı oranında ön işlem uygulanmış fındık kabuklarının enzimatik hidrolizine selülaz enzimi üzerine ilave edilen ksilanaz enzim miktarının etkisi .....186
- 4.150. Alkali ön işlem uygulanmış fındık kabuğunun başlangıç enzimatik hidroliz hızına (deneysel ve farklı yaklaşımlarla çözülen Michaelis-Menten modelinden hesaplanan) başlangıç enzim konsantrasyonunun etkisi .....187
- 4.151. Alkali ön işlem uygulanmış haşhaş sapının başlangıç enzimatik hidroliz hızına (deneysel ve farklı yaklaşımlarla çözülen Michaelis-Menten modelinden hesaplanan) başlangıç substrat konsantrasyonunun etkisi. ....188
- 4.152. Ön işlem uygulanmış (A) ve alkali ön işlem uygulanmış fındık kabuklarının (B) SEM görüntüsü.....189

## ÇİZELGELER DİZİNİ

2.1 Dünya Fındık Üretimi (Ton) .....	27
2.2 Türkiyede Fındık Üretim Alanı ve Durumu .....	27
3.1. YBSK analizi sonucu standart şeker bileşiklerinin kalibrasyon doğrularının denklemleri.....	38
3.2. Ön işlem için kullanılan besiyeri bileşimi.....	43
3.3. Yüksek sıcaklık NaOH ön işleminde incelenen parametreler ve seviyeler.....	44
3.4. Yüksek sıcaklık alkali ön işlem deneylerinin bağımsız değişkenlerin istatistiksel kombinasyonları.....	45
3.5 Ön işlem reaksiyonlarının oluşum entalpileri .....	51
4.1. Dört değişkenli yanıt yüzey yöntemi için glikoz kazanımı deneysel sonuçları. ....	170
4.2. Dört değişkenli yanıt yüzey yöntemi için ön işlem sonrası kalan katı bileşen deneysel sonuçları.....	174
4.3 Glikoz kazanımının (%) yanıt yüzey yöntemi ANOVA testi katsayı sonuçları .....	176
4.4 Glikoz kazanımının (%) yanıt yüzey yöntemi ANOVA testi.....	177
4.5. Enzim konsantrasyonu değişimine göre Michaelis-Menten sabitleri.....	187
4.6. Substrat konsantrasyonu değişimine göre Michaelis-Menten sabitleri.....	188
5.1. Optimum noktalarda ön işlem koşulları.....	197
5.2 Ön işlem uygulanmış fındık kabuklarının kimyasal içerikleri.....	198
5.3 100 gram fındık kabuğundan kütle denliği sonucu elde edilen şeker miktarları ve glikoz kazanımları .....	198
5.4. Uygulanan ön işlemler sırasında kullanılan enerji miktarları .....	199

## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

E	:Enzim
S	: Substrat
ES	: Enzim-Substrat kompleksi
P	: Ürün
k	: Hız Sabiti
$V_{max}$	: Maksimum Hız
$K_m$	: Michaelis-Menten Sabiti
HMF	: Hidroksimetil Furfural
YBSK	: Yüksek Basınç Sıvı Kromatografisi
SEM	: Taramalı elektron mikroskobu
FPU	: Filtre kağıdı ünitesi (Filter paper unit)
CBU	: Sellobiyaz Birimi
XU	:Ksilanaz Birimi
DNS	: Dinitro Salisilik Asit
UV	: <i>Ultraviyole Ölçüm Cihazı</i>
[EMIM]Ac	: 1-Etil-3metilimidazolium asetat
[EMIM]DEP	: 1-Etil-3-metillimidazolium dietil fosfat
[EMIM]Cl	: 1-Etil-3metilimidazolium klorür
BSA	: Bovine Serum Albümin

## 1. GİRİŞ ve AMAÇ

Petrol ve petrole bağılı ürünlerde önümüzdeki yıllarda yaşanabilecek darboğaz dikkate alınarak son yıllarda özellikle yenilenebilir biyokütleden yakıt ve petrokimyasal ürünlerin üretilmesi ile ilgili araştırmalarda büyük bir artış söz konusudur. Ekolojik dengeyi bozmadan, orman atıkları, tarımsal atıklar, evsel ve endüstriyel atıklar öncelikli lignoselülozik biyokütle kaynaklarıdır. Özellikle tarım ülkesi olarak bilinen Ülkemizde tarımsal atıkların değerlendirilerek katma değeri yüksek ürünlere dönüştürülmesi önemlidir.

Lignoselüloz yapısı tam olarak belirli olmayan ancak başlıca selüloz, hemiselüloz ve ligninden oluşan oluşan kompleks bir kimyasal yapıya sahip maddedir. Selüloz sayıları birkaç yüzden binlerceye kadar değişen  $\beta$ -1,4 bağları ile bağlı glikozun düz zincirli yüksek moleköl ağırlıklı bir polimeridir ve biyokütle hücre duvarlarının temel bileşenidir. Hemiselülozlar, selülozla bağlı yaklaşık 500-3000 farklı şeker ünitesinden (arabinoz, galaktoz, mannoz, glikoz vb.) oluşan daha küçük polimerlerdir. Lignin ise hemiselüloza bağlı propil fenollerin çapraz bağlı yüksek moleköl ağırlıklı polimerleridir, selüloz ve hemiselüloz yapısının üzerinde bir duvar oluşturarak biyokütlenin yapısına sertlik kazandırmaktadır. Bulunduğu biyokütleye bağlı olarak lignoselülozik biyokütlenin yaklaşık %20-50 ni selüloz, %20-25 ini hemiselüloz, %20-30 unu ise lignin oluşturmaktadır. Hemiselüloz ve selülozlar monomerik şekerlerden oluşmaktadır. Bu bileşenlerin oranı lignoselülozik biyokütleye göre değişmekle birlikte, yapıda % 70- 75 civarında bulunurlar (Sun ve Cheng, 2002; Alvira ve ark., 2010; Sierra ve ark., 2008).

Lignoselülozik biyokütlenin ekonomik olarak değerlendirilip katma değeri ürünlerin üretimi, petrol rafinerilerinde olduğu gibi, biyorafineri yaklaşımı ile gerçekleştirilebilir. Bu yaklaşımda sadece bir ürün değil biyokütleden birden fazla katma değeri ürün üretimi söz konusudur. Bu nedenle lignoselülozun bileşenleri (selüloz, hemiselüloz ve lignin) fiziksel ve biyolojik işlemlerle parçalanarak çeşitli ürünler elde edilmektedir. Bu ürünler yakıt katkı maddeleri (biyoetanol, biyogaz, biyohidrojen, biyoyağ, biyodizel), selüloz/hemiselülozdan monomerik şekerler ve şekerlerden üretilen kimyasallar, lignin ve parçalanması ile oluşan lignin kimyasallardır (Koppram ve ark., 2014).

İkinci kuşak (lignoselülozik biyokütleden) biyoyakıt üretiminde, biyoetanol önemli bir yere sahiptir. Günümüzde endüstriyel olarak etil alkol üretimi birincil kuşak biyokütleden (şeker ve nişasta içeren biyokütle) üretilmektedir. Biyoyakıt olarak etanolün kullanılması için sürdürülebilir ve besin olarak kullanılmayan hammadde ihtiyacı için lignoselülozik biyokütle en önemli alternatiftir. Özellikle lignoselülozik biyokütle atıkları kolay ve ucuz bulunabilir hammaddelerdir. Lignoselülozik hammaddeden biyoetanol üretimi temel olarak dört basamaktan oluşmaktadır: 1. biyokütlenin fiziksel/kimyasal/biyokimyasal ön işlenmesi ile selüloz/hemiselüloz yapısınca zengin kütlenin elde edilmesi, 2. selüloz/hemiselülozun fermente şekerlere enzimatik hidrolizi, 3. monomerik şekerlerin alkole fermentasyonu ve 4. alkolün saflaştırılması (distilasyon). Lignoselülozik biyokütleden ikinci nesil bioetanol üretiminin ekonomik olarak endüstriyel boyutta üretilmesini kısıtlayan en önemli nedenlerin başında lignoselüloza uygulanan ön işlem maliyetleri gelmektedir. Yapılan araştırmalara göre ön işlem maliyetinin toplam üretim maliyetinin yaklaşık olarak %40'ını oluşturmaktadır. İkincisi ise hidroliz işleminde kullanılan enzimlerin maliyetidir. Hidroliz işlemi kimyasallar kullanılarak (asit, baz) yapılabilmesine rağmen çevre dostu uygulamalar olmadığından ve fermentasyon işleminden önce toksik maddelerin uzaklaştırılmaları gerektiğinden bu yöntemler günümüzde tercih edilmemektedirler (Quintero ve ark., 2013; Hernández, ve ark., 2014, Behera ve ark., 2014, Saleh ve ark., 2014). Bu teknolojinin yerine, son yıllarda biyoteknolojideki gelişmeye bağlı olarak yeni mikroorganizmaların geliştirilmesi ve yeni enzimlerin üretilmesi ile birlikte, lignoselülozdan şeker üretiminde enzimatik/mikrobiyal hidroliz kullanılmaktadır. Ancak direkt olarak hammaddeye enzimin kullanıldığı işlemlerde hidroliz süresi çok uzun ve şeker verimi ise düşüktür. Lignoselüloz yapısındaki lignin, enzimin selüloza erişimine engel oluşturmakta ve enzimin kristal haldeki selülozu monomerlere dönüştürme yüzdesini düşürmektedir. Bu nedenle, mikrobiyal/enzimatik hidroliz işleminden önce hammaddeye bazı ön işlemlerin uygulanması gerekmektedir. Bu işlemlerin temel amacı; lignini ve hemiselulozu uzaklaştırmak, selülozun kristal yapısını bozmak ve lignoselülozik biyokütlenin porozitesini artırmaktır. Mikrobiyal/enzimatik hidroliz işlemi başlıca küf mantarları ve bakteriler olmak



üzere lignoselülotik mikroorganizmalarla ve bunların ürettikleri enzimlerle (selülaz, ksilanaz vb.) gerçekleşmektedir (Cullen ve Kersten, 1992).

Ülkemizin yıllık petrol tüketimi yaklaşık olarak 30 milyon ton petrol eşdeğeridir. Bu değerin yaklaşık olarak %50'sine bitkisel atıkların değerlendirilmesi ile erişilebilmektedir (T.C. Enerji ve Tabii Kaynaklar Bakanlığı Yenilenebilir Enerji Genel Müdürlüğü Biyokütle Enerjisi Potansiyeli Atlası, 2014). Türkiye dünyanın en önemli fındık üretici ülkesi olup Dünya üretiminin yaklaşık % 70'ini sağlamaktadır (yıllık ortalama 600,000 ton). Fındığın yaklaşık %50'lik kısmının kabuk olduğu düşünülecek olursa Türkiye'nin yıllık yaklaşık olarak 300,000 ton fındık kabuğu atığı vardır. Fındık kabukları endüstriyel olarak değerlendirilmemektedir. Bu nedenle bu çalışmada, lignoselülotik bir tarımsal atık olan fındık kabuğundan katma değerli bileşik olan şekerlerin enzimatik hidrolizi ile üretim prosesi incelenmiştir. Çalışmada uygulanan ön işlemlerin enzimatik hidroliz ve glikoz verimi üzerine etkileri araştırılmış, uygulanan proseslerin her aşaması optimize edilerek, kütle ve enerji dengelikleri kurulmuş ve glikoz gerikazanımı üzerinden de en uygun ön işlem belirlenmiştir.

## 2. KAYNAK TARAMASI

Bu bölümde ikincil nesil biyoetanol üretiminde kullanılan lignoselülozik biyokütle, lignoselüloza uygulanan ön işlemler, fındık kabuğu ve Türkiye açısından önemi, enzim kinetiğinin modellenmesi ve proses parametrelerinin optimizasyonu hakkında literatür bilgisi verilecektir.

### 2.1 Lignoselülozik Biyokütle

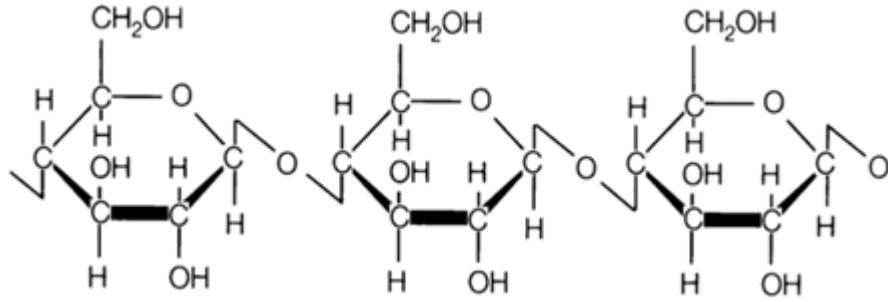
Lignoselülozlar, biyokütlenin içinde yaygın olarak bulunan organik bileşiklerdir. Odunsu bitkilerin ve çimen gibi odunsu olmayan maddelerin temel yapıtaşıdır. Endüstriyel lignoselülozik hammaddelerin büyük çoğunluğu tarım, orman, kağıt endüstrisi, kereste endüstrisi ve tarıma dayalı birçok sanayinin atıklarından oluşmaktadır. Lignoselülozik atıkların dünyada tahmin edilebilen yıllık üretimi  $1 \times 10^{13}$  tondur. Lignoselüloz lignin, hemiselüloz ve selülozdan oluşmaktadır (Şekil 2.1). Lignoselülozik hammaddenin yaygın olması, kolay ve ucuz bulunabilir olmasına rağmen, bu hammaddelerden enerji üretiminde ve endüstriyel olarak kimyasal üretiminde ekonomik olarak yararlanılamamaktadır (Alvira ve ark., 2010; Howard ve ark., 2004).



Şekil 2.1. Lignoselülozik Biyokütle

### 2.1.1 Selüloz

Sayıları birkaç yüzden binlerceye kadar değişen  $\beta$ -1,4 bağları ile bağlı glikozun düz zincirli yüksek molekül ağırlıklı bir polimeri olan selüloz biyokütle hücre duvarlarının temel bileşenidir (Şekil 2.2). Bu zincirler selüloz zincirlerini mikroliflere dönüştüren, doğal kristal yapıya sahip olmalarını sağlayan ve bozulmasını önleyen kuvvetli hidrojen bağlarıyla bağlanmıştır Lignoselülozik biyokütle selülozu genellikle her birinin çapı yaklaşık 3-6 nm olan ve binlerce glikoz kalıntılarına sahip 36 glukoz zincirleri içeren mikroliflerin içerisinde düzenlenmiş halde bulunmaktadır. Kristallik derecesine göre selüloz, kristal ve parakristaline (amorf) selüloz olarak sınıflandırılır. Selüloz; hemiselüloz, pektin ve hemiselüloz arasında gömülmüş bir yapıdadır. Lignin ve hemiselüloz, temel olarak selüloz mikrolif boşluklarında veya selüloz tabakalarının arasında bulunur (Van Dyk ve Pletschke, 2012). Selüloz, yeşil dönüşüm için en önemli yenilenebilir kaynaktır. Selüloz enzimatik olarak selülitik enzimler tarafından veya kimyasal olarak sülfürik ya da diğer asitler ile hidroliz işlemi ile glikoza parçalanır (Zheng ve ark., 2009).

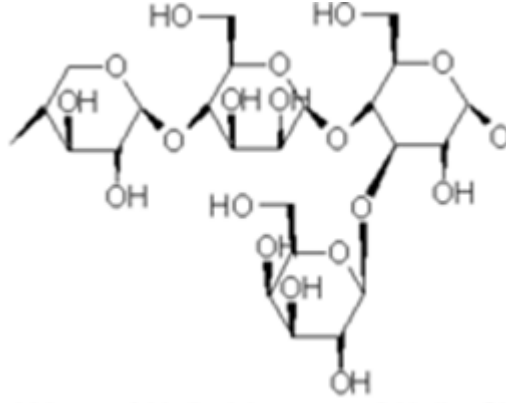


Şekil 2.2. Selülozun Yapısı

### 2.1.2 Hemiselüloz

Hemiselüloz, lignoselüloz yapısı içerisindeki karbonhidrat bileşimidir. Her bir lignoselüloz için farklı farklı hemiselüloz içeriği bulunmaktadır. Glikoz, ksiloz, arabinoz, galaktoz, fruktoz, mannoz, ve glukronik asit hemiselülozu oluşturan başlıca şekerlerdir. (Şekil 2.3).

Hemiselüloz, selüloz lifleri ile hidrojen bağları oluştur ve bu bağlar bitki hücre duvarının iskeletini oluşturmaktadırlar (Mosier ve ark., 2005).



Şekil 2.3. Hemiselüloz Yapısı

Hemiselülozu selülozdan ayıran en temel fark, hemiselülozun zincir yapısı üzerindeki yan dallarının farklı şekerlere sahip olmasıdır. Bu monosakkaritler petozları (ksiloz, arabinoz), heksozları (glukoz, galaktoz, mannoz) ve ürik asitleri (4-o-metilgulukuronik, D-gulukuronik asit) içerirler (Kumar ve ark., 2009).

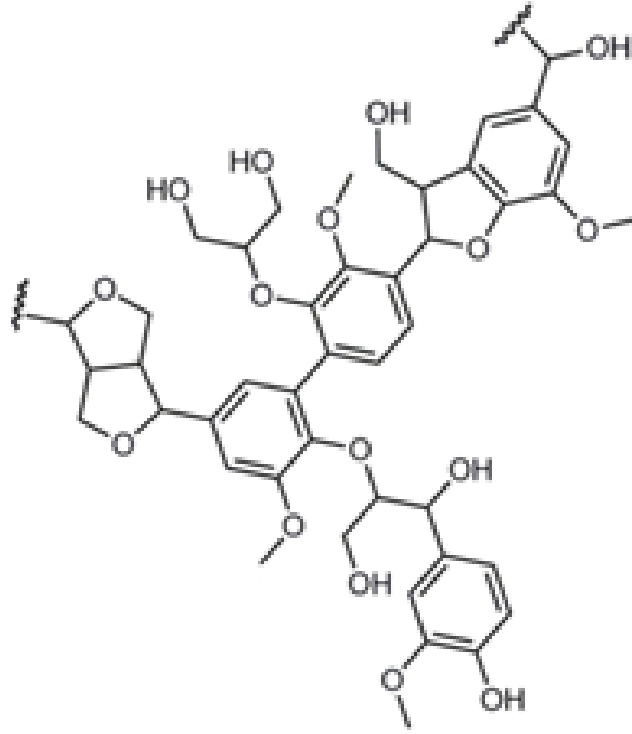
Hemiselülozun polisakkarit ailesine ait polimerlerin en yaygın türü ksilandır. Hemiselülozun yapısı ve bileşiminin en önemli özellikleri arasında kristal yapı eksikliğine sahip olmasıdır. Bunun temel sebebi ise yüksek ölçüde dallı yapısı nedeniyle, polimer zincirine bağlanmış asetil gruplarının varlığıdır. Bitkilerden ekstre edilen hemiselüloz yüksek derecede çoklu difüzyona, çoklu çeşitliliğe ve çoklu moleküleriteye (geniş bir biçimde boyut, şekil ve kütle özellikleri ) sahiptir. Ancak, polimerleşme derecesi 200 birimi aşamaz, halbuki alt sınır yaklaşık 150 monomer olabilir. Hemiselüloz düşük sıcaklıklarda suda çözünmez. Ancak hidrolizi selülozdan düşük sıcaklıklarda başlar, bu özelliği onu uygun sıcaklıklarda çözünür hale getirir. Asit suyun içerisinde hemiselülozu çözünürlüğünü yüksek oranda artırır (Harmsen ve ark., 2010).

### 2.1.3 Lignin

Lignin kompleks, değerli, hidrofobik, çapraz bağlı, C-C ve C-O-C ile bağlı *p-hidroksifenolpropanoidin* üç boyutlu aromatik polimeridir (Şekil 2.4). Lignin kimyasal ve enzimatik indirgenmeye karşı direnç gösterirken genellikle mantarlarla yapılan biyolojik indirgenmelerle bu sorun aşılabilir (Lee, 1997). Üç fenil propiyonik alkoller lignin monomeri olarak mevcuttur, bu alkoller koniferil alkol (guaiasil propanol), kumaril alkol (p -hidroksifenil propanol),ve sinapil (siringil alkol) alkollerdir. Genel olarak, çimen gibi otsu bitkilerde düşük oranda lignin bulunurken, yumuşak ağaçlar ise, yüksek oranda lignin içerirler (Kumar ve ark. 2009)

Lignin yenilenebilir kaynaklardan ve doğadan bolca elde edilebilen ağaç, bitki ve zirai mahsuller gibi kaynaklardan türetilirler. Toksik özelliği bulunmayan sahip lignin, geniş kullanım alanları ile endüstriyel olarak çokça kullanılmakta olan bir hammaddedir. (Ek ve ark., 2009).

Ligninin asıl amacı bitkiye destek sağlamak ve stres ve mikrobiyal girişimlere karşı direnç göstermektir. Orman ağaçları birincil olarak selüloz ve lignin polimerlerinden oluşmaktadırlar. En yüksek lignin seviyesine sahip olan bitkiler yumuşak ağaçlardır. Fermentasyon sürecinde mikrobiyal gelişimi engelleyen birçok inhibitör ön işlem ve enzimatik hidroliz işleminde ligninden kaynaklanmaktadırlar. Bu yüzden biyolojik dönüşümün ekonomik etkinliği üzerinde ligninin önemli bir etkisi vardır. Aynı zamanda selülozdan sonra biyokütle içerisinde en fazla bulunan lignin direk olarak yakıldığında yüksek miktarda enerji vermektedir. Yakıldığında yüksek enerji açığa çıkaran lignin çevre dostu bir teknoloji olan kombine ısı ve güç üretimi için iyi bir seçimdir. Ayrıca yakıtlar ve katma değerli kimyasalları içeren değişik ürünler için lignin harika bir hammaddedir. Bu yaklaşım biyoetanol üretimini daha ekonomik hale getirebilmektedir (Hendriks ve Zeeman, 2009).



Şekil 2.4. Lignin Yapısı

## 2.2 Lignoselüloza Uygulanan Ön İşlemler

### 2.2.1. Ön işlemlerin amaçları

Lignoselülozik biyokütleğe uygulanan çeşitli ön işlemler selüloz hidrolizini ve fermente edilebilir şeker verimini arttırmak için geliştirilmektedir. Ön işlemlerin temel amaçları;

- Enzimatik hidroliz işlemi süresince şeker verimini arttıran selülozca zengin katıların oluşumunu sağlamak
- Hemiselülozlardan ayrılmış şekerlerin (çoğunlukla pentozların) bozulmasını önlemek
- Bir sonraki basamak olan fermentasyon işleminde inhibitör oluşumunu engellemek
- Ligninin değerli yan ürünlere dönüşüm için geri kazanılması veya katıdan ayrılması

- Güç ve enerji gereksinimini en aza indirerek ve reaktörlerde en uygun boyutu kullanarak maliyetin en aza indirilmesidir (Kumar ve ark., 2009).

Lignoselülozik biokütlenin ön işlemini gerçekleştirmeye yönelik çok sayıda yöntem mevcuttur. Bunlar birkaç kategoride sınıflandırılabilirler:

- Fiziksel (boyut küçültme)
- Fizikokimyasal (oto hidroliz, sıvı sıcak su, buhar, süper kritik akışkanlar, buhar patlaması)
- Kimyasal (alkali, asit, oksitleyici maddeler, organik çözücüler, iyonik sıvılar), ve
- Biyolojik ön işlem.

Ön işlem prosesleri, lignin içeriğini azaltması ve karbonhidrat-lignin kompleksini ve selülozun kristalli yapısını bozması sebebiyle lignoselülozun enzimatik hidrolize olan direncini kırmada önemli bir adım olmasına rağmen, bu proseslerin uygulamada bazı kısıtlılıklar söz konusudur (Qiu ve Aita, 2013). Fiziksel ön işlemler yoğun enerjiye ihtiyaç duymakta olup aynı zamanda maliyetlidirler. Fizikokimyasal yöntemler yüksek basınç ve yüksek sıcaklıklara dayanıklı özel ekipman gerektirir ve kimyasal yöntemlerin maliyet, güvenlik ve çevre sorunları vardır. Bu nedenle alternatiflerin geliştirilmesi, düşük maliyetli ve enerji verimi yüksek ön işlem yöntemleri gerekir. Biyolojik yöntemlerin ise proses süresi aşırı uzundur (Qiu ve Aita, 2013).

Bu bölümde lignoselülozik hammaddeden fermente şekerlerin eldesi için enzimatik hidroliz öncesi biyokütleyle uygulanan fiziksel, fizikokimyasal, kimyasal ve biyolojik ön işlemler hakkında bilgi verilmektedir.

## **2.2.2 Fiziksel ön işlemler**

### **2.2.2.1 Mekanik ön işlemler**

Mekanik ön işlemlerin amacı daha sonraki işlemlerde kolaylık sağlaması için lignoselülozik hammaddenin boyutunu küçültmektir. Hammadde boyutunun ne kadar küçüldüğü mekanik ön işlemin performansının göstergesidir. Mekanik ön

işlem teknolojileri selüloz ve hemiselülozun lignoselülozik biyokütle içerisinde yer almasının anlaşılmasıyla artmaya başlamıştır. Darbeli, öğütücü, merdaneli ve bilyeli değirmenler kullanılarak gerçekleştirilen mekanik parçalama düşük maliyetli ön işlem teknolojisi olarak kullanılmaktadır (Mtui ve Godliving, 2009)

Fiziksel ön işlemler, biyokütlenin boyut ve kristalliğinin öğütme işlemleriyle azaltılmasını içerir. Biyokütle de boyut küçültme işlemi; malzemenin yüzey alanının artmasına ve selülozun kristalitesinin azalmasına sebep olmaktadır. Lignoselülozik biyokütlenin normal boyutları 10-30 mm iken, öğütme işlemleri sonrası 0,2-2,0 mm'ye kadar azaltılır. Biyokütle parçacık boyutunun küçültülmesi ve kristalliğinin azaltılması ile etkin bir hidroliz sağlanabilir (Yousuf, 2012).

### **2.2.3 Fizikokimyasal ön işlemler**

#### **2.2.3.1 Buhar ön işlem**

Biyokütlenin yüksek basınçtaki buharla (210-290°C arasında) birkaç dakika temas etmesiyle gerçekleşir. Buhar ile biyokütle temas ettikten sonra buhar hemen uzaklaştırılır ve biokütle aniden soğumaya başlar. Biyokütlenin enzimatik hidroliz için uygun hale gelebilmesi için biyokütlenin içerdiği hemiselülozların (katalizör olarak asetik asit, diğer asitler veya düşük pH değerine sahip su ile) hidroliz olması gerekmektedir. Bu ön işlemin etkili olabilmesi biyokütlenin tipine bağlıdır. Sert dokuya sahip biokütlerde, yumuşak dokululara göre bu yöntem daha etkilidir. Bunun sebebi ise yumuşak dokuların daha az asetil gruba sahip olmasıdır (Hayes, 2009).

Buhar ön işlemi görmüş biyokütlenin enzimatik hidroliz verimi ön işlem sıcaklığı ve ön işlem zamanına bağlıdır. Ön işlem zamanının arttırılması ile hemiselüloz hidrolizi zarar görmektedir. Ön işlem zamanı ilk 25 dakikada selüloz hidrolizini arttırırken, 60. dakikaya doğru azalttığı gözlemlenmektedir. Ön işlemde elde edilen sıvının fermentasyonu için ise herhangi bir zehir giderimi işlemine gerek duyulmamaktadır (Saha ve ark., 2013). Hidrotermal ön işlem ksilan, fenolik asit ve sıcaklığa bağlı olarak diğer polimerlerin çözünmesine yol açmaktadır. Biyokütlenin hücre yapısında ise selüloza ulaşılabilirliği ksilan ve ligninin yer



değiştirmesi ile sağlamaktadır. Kimyasal kompozisyon, hücre duvar analizi ve enzimatik hidroliz verimi ile kıyaslandığında en yüksek hidroliz verimine düşük ksilan konsantrasyonunda ve yüksek selüloz miktarında ulaşılmıştır (Holopainen-Mantila ve ark. 2013).

### **2.2.3.2 Amonyak fiber patlatmalı ön işlem**

Bu ön işlem etkin ve ekonomik olarak önem kazanması beklenen bir teknolojidir. Bu ön işlemde selüloz içeren hammadde sıvı amonyak ile 25-90<sup>0</sup>C ve 10-20 atm basınç arasında en fazla 20 dakika reaksiyona girmektedir. Reaksiyon tamamlandığında basınç tasfiye edilir (Vlasenko ve ark., 1997). Sıcaklık, nem, amonyak yükleme miktarı ve ön işlem zamanı gibi tüm parametreler ön işlem görmüş biyokütlenin enzimatik hidroliz hızını arttırmaktadır. Ayrıca bu ön işlem ile elde edilen biyokütlenin düşük enzim miktarı ile hidrolizi sonucunda yüksek ksiloz ve glikoz verimi elde edilmiştir. Bu da bu işlemin ekonomik açıdan önemini göstermektedir. Biokütleden elde edilen etanol maliyeti bu yöntem ile düşük enzim yüklemesi dolaylı azaltılabilir (Teymouri ve ark., 2005). Amonyak patlatmalı ön işlem enzimatik hidroliz ve fermentasyon verimini arttıran etkin bir ön işlem yöntemidir (Shao ve ark., 2010).

### **2.2.3.3 Karbondioksit patlatmalı ön işlem**

Bu ön işlem buhar patlatmalı ve amonyak fiber patlatmalı ön işlemlere benzer şekilde yapılmaktadır. Karbondioksit molekülleri su ve amonyak ile kıyaslanabilir boyutlarda olmalı ve küçük gözeneklere su ve amonyak molekülleri gibi sızabilmelidir. Burada, karbondioksitten karbonik asit oluşur. Buda zayıf asit etkisi göstererek hemiselülozun ve selülozun hidrolize olmasını sağlar. Ayrıca işlemin düşük sıcaklıkta yapılması monosakkaritlerin bozulmasını engeller. Bu metot, alfalfa (4 kg CO<sub>2</sub>/kg fiber, 5,62 MPa'da) bitkisinde kullanılmış ve 24 saatlik enzimatik hidrolizin sonunda teorik glikozun %75'ini elde etmiştir. Bu verim buhar ve amonyak patlatmalı ön işlemlere göre düşük; fakat ön işlemsiz enzimatik hidrolize göre yüksektir (Zheng ve ark., 1998, Sun ve Cheng, 2002).

## **2.2.4 Kimyasal ön işlemler**

### **2.2.4.1 Ozonlama**

Ozon lignin ayırımında kullanılan güçlü bir oksitleyici kimyasaldır. Ligninin hammaddeden ayrılması enzimatik hidrolizi arttırır. Bu ön işlem oda sıcaklığında ve normal basınç altında gerçekleşir ancak hiçbir şekilde fermantasyonu yada hidrolizi etkileyecek inhibitör oluşturmaz Ozonoliz işlemi atmosferik koşullarda, oda sıcaklığında ve normal basınç altında gerçekleştirilir. Bu yöntemde lignin giderimi sağlanırken, hemiselüloz az miktarda giderime uğrar, selüloz ise hiç etkilenmez. Bu nedenle selüloz ve hemiselülozdan kaynaklanan bağların yıkım miktarı oldukça düşüktür. Fakat ozon, bazı lignin kaynaklı yıkım ürünlerini oluşturan lignin tabanlı aromatik bileşiklerle reaksiyona girebilir. (Alvira ve ark., 2010, Tomas ve ark., 2011).

Ozon, buğday sapı, çavdar sapı, pamuk sapı, küspe ve kavak gibi sayısız lignoselülozik ham maddeyle ön işlem olarak uygulanmıştır. Bazı ilginç sonuçlara rağmen, ozonla ön işleme tabi tutulmuş lignoselülozik maddelerden etanol üretimi hakkında ileri araştırmalar gerçekleştirilmiştir. Bu yöntemin kullanılmasından kaçılmanın önemli bir nedeni yüksek miktarda ozon gerekliliğidir. Yüksek miktarda ozon bu ön işlemin maliyetini arttırmaktadır (Tomas ve ark., 2011).

### **2.2.4.2 Seyreltik asit ön işlemi**

Birçok lignoselülozik hammadde için en yaygın biçimde kullanılan ön işlem seyreltik asit hidrolizidir. Yüksek sıcaklıklarda asit ile hemiselüloz hidrolize uğrar. Böylece monomerik şekerler hücreden ayrılarak sıvı içerisine geçer. Hemiselülozun ayrılması ile hammaddenin porositesi ve enzimatik hidrolize uygunluğunu artar. Bu yüzden maksimum enzimatik hidrolize maksimum uygunluğu sağlayabilmek için tüm hemiselüloz hammaddeden ayrılmalıdır (Ballesteros ve ark., 2008).

Seyreltik asit ön işlemi sonucunda kalan katının içermiş olduğu hemiselüloz ve lignin miktarı azalmaktadır. Ayrıca kalan katının selüloz kompozisyonu artmaktadır. Böylece seyreltik asit ön işlemi enzimatik hidroliz veriminin artmasına katkıda bulunmaktadır (Sindhu ve ark., 2011). Seyreltik asit ön işlemi hidrotermal

ön işleme göre daha düşük sıcaklıkta etkili olmaktadır. Ancak ön işlem sıvısı yüksek oranda inhibitör içerdiğinden dolayı biyoetanole fermente olması oldukça zordur (Castro ve ark., 2011).

Lignoselülozik malzeme içerisindeki sert yapıların seyreltik veya derişik asit kullanılarak ayrıştırılması işlemine asidik hidroliz işlemi adı verilmektedir, ayrıca bu işlem sayesinde hemiselüloz ile selüloz arasındaki bağları kırılmaktadır. Sülfürik asit ve hidroklorik asit gibi kuvvetli asitler, bu işlem için uygun olmalarına rağmen aynı zamanda bu asitler aşındırıcı ve tehlikelidirler. Seyreltik asit hidrolizinde yüksek reaksiyon hızı ve daha verimli selüloz hidrolizi elde edilmektedir. Yüksek sıcaklıkta uygulanan asit ön işlemi süresince polisakkaritlerin bazıları hemiselülozların ise çoğu hidrolize olmaktadır. Bu işlem serbest şekerlerin furfurala (pentozdan) ve 5-hidroksi metil furfurala (HMF – heksozdan) indirgenmesiyle sonuçlanmaktadır. Bu bileşikler fermantasyon sırasında, etanol üretim hızının ve etanol veriminin düşmesine yol açarlar. Buna ilave olarak, bu bileşiklerin ürünleri fermente edilebilir şekerlerin kaybedilmesi yol açmaktadır. Maleik ve fumarik asitler gibi organik asitler HMF oluşumundan kaçınmak için tavsiye edilebilecek asitlerdir (Brodeur ve ark., 2011).

#### **2.2.4.3 Alkali ön işlem**

Bazı bazların lignoselülozik biyokütlenin üzerinde göstermiş oldukları etkiler alkali ön işlemlerin temelini oluşturmaktadır. Bu etkileşimde biyokütlenin lignin içeriğinin önemli bir etkisi vardır. Alkali ön işlemler selülozun indirgenmesini arttırıp, ligninin çözünürlüğü üzerinde etkilidir. Ancak, hemiselüloz ve selülozun çözünürlüğü asit ve hidrotermal işlemlere göre daha azdır (Alvira ve ark., 2010). Alkali hidrolizin mekanizması bir hemiselüloz olan ksilan ile lignin arasındaki moleküller arası ester bağlarının çapraz bağlanması sonucu gerçekleşen sabunlaşma reaksiyonuna benzer. Lignoselülozun porositesi çapraz bağların giderilmesiyle artar (Sun ve Cheng, 2002).

Alkali ön işlem su kamışının enzimatik hidroliz verimini yaklaşık olarak %78 arttırmıştır. %55,9 lignin oda sıcaklığında %4 lük NaOH çözeltisi kullanılarak giderilmiştir. Enzimatik hidrolizin etkinliği alkali ön işlemde kullanılan alkali konsantrasyonunun ve substrat başına yüklenen enzim miktarının bir

fonksiyonudur (Zhang ve ark., 2010). Alkali ön işlemler ksilan ve lignini ekstre ettiği gibi selüloz hidroliz verimini de arttırmaktadır. Şeker üretimini hızlandırdığı gibi düşük etkili fenoliklerinde salınımını arttırmaktadır. Ancak glikoz verimini maksimize edip aynı zamanda inhibisyonu minimize edecek olan uygun ön işlem koşullarının belirlenmesi gerekmektedir (Vancov ve McIntosh, 2011).

Alkali ön işlemler daha çok tarımsal atıklarda etkin olarak uygulanabilmektedir. Alkali ön işlem sayesinde enzimin hücre içerisine penetrasyonu kolaylaşır. Ayrıca holoselülozların parçalanması sabunlaşma ve hammaddenin alkali çözelti içerisinde çözülmesiyle daha rahat olur. Aynı zamanda alkali ön işlem ligninin yoğunlaşmasına ve kristal yapının değişmesine sebep olur. Birçok araştırmaya göre alkali ön işlem enzimatik sakkarifikasyonun hızlanmasına sebep olur (Yamashita ve ark., 2010).

#### **2.2.4.4 Peroksit ön işlemi**

NaOH ile birlikte kullanılan hidrojen peroksit ile yapılan ön işlemlerden, yüksek basınç ve yüksek alkali derişimde kullanılarak yapılan ön işlemlerde olduğu gibi yüksek miktarda glikoz ve indirgen şeker elde edilmiştir. Buna göre bu metot daha etkin ve çevreci olarak görülmektedir (Yamashita ve ark., 2010). Alkali hidrojen peroksit ön işlemi ile düşük miktarda selülaz enzimi yüklemesi yapılarak yüksek miktarda glikoz ve ksiloz verimi sağlanabilmektedir. Bu da bu işlemin lignoselülozdan etanol eldesinde ekonomik bir basamak olarak kullanılabileceğini göstermektedir (Banerjee ve ark., 2011). Alkali peroksit ön işlemi sonrasında elde edilen ön işlem sıvısında inhibitör olmaksızın yüksek miktarda glikoz bulunmaktadır. Böylece lignoselülozik etanol verimi artmaktadır (Karagöz ve ark., 2012).

#### **2.2.4.5. Organik çözücüler ile ön işlem**

Metanol, etanol, aseton, etilen glikol, trietilen glikol, tetrahidrofurfuril alkol, gliserol, seyreltik fenol ve seyreltik n-bütanol gibi organik çözücüler lignini çözmek ve selülozu enzimatik hidrolize hazırlamak için kullanılırlar. Ekonomik nedenlerden dolayı düşük molekül ağırlıklı etanol ve metanol gibi alkollerin

kullanımı tercih edilmektedir. Diğer kimyasal ön işlemlere göre en önemli avantajı yan ürün olarak lignin elde edilmesidir. Bazı çalışmalarda hemiselüloz bağlarını kırmak için asit katalizör kullanılmaktadır. Bunun yerine 180°C gibi yüksek sıcaklıklara çıkılarak asit kullanılması önerilebilir (Alvira ve ark., 2010).

Organik çözücü işlemi bir lignin giderim işlemidir. Bu işlemde, asit ya da alkali katalizör kullanımının öneminin olmadığı bir organik ya da seyreltik organik çözücü karışımı, lignin ve hemiselüloz arasındaki iç bağların kırılması için kullanılmaktadır. Genellikle, katalizörün varlığı hemiselülozun çözünebilirliğini artırabilmekte ve ön işlem uygulanmış substratın hidrolizini de arttırmaktadır. Genel yöntemde organosolvun sıcaklığı 150-200°C aralığındadır.

Yapılan araştırmalarda 185°C den daha yüksek sıcaklıklara çıkıldığında katalizör eklenmesinin istenilen hidroliz verimi için gereksiz olduğu görülmüştür. Organik çözücüler maliyetlidir ve uçuculuklarının yüksek olması sebebiyle yüksek-basınç ekipmanlarının kullanımını gerektirmektedir. İşlem maliyetlerini düşürmek için çözücülerin kullanımında geri dönüşüm ve geri besleme esas alınmalıdır. Çözücünün ön işlem görmüş biyokütleden uzaklaştırılması gereklidir çünkü çözücü kalıntıları enzimatik hidroliz ve fermentasyon işlemlerini engelleyebilmektedir. Organik çözücü kullanımının diğer ön işlemlere göre en önemli avantajı diğerlerine göre saf olmasıdır, düşük molekül ağırlıklı lignin yan ürün olarak toplanmaktadır. Organik çözücü işleminin endüstriyel olarak kullanımı hala oldukça karışık ve pahalı bir işlemdir (Soccol ve ark., 2011).

#### **2.2.4.6 İyonik sıvılar ile ön işlem**

Genel olarak, iyonik sıvı yardımıyla gerçekleştirilen biyokütle ön işlemi, enzimatik hidroliz basamağında büyük bir avantaj sağlar (Sun ve ark., 2013). İyonik sıvı diye adlandırılan uçucu olmayan çözücüler son yıllarda selülozu çözmede kullanılmaya başlanmıştır. İyonik sıvı ile üretilen selüloz, özellikle amorf ve gözenekli bir yapıya sahiptir ayrıca hidrolize de daha yatkın olduğu gözlemlenmiştir. Bu süreç mevcut olarak kullanılan ticari metotlara göre daha az enerji gerektiren, kolay idare edilebilir ve daha çevre dostu bir süreçtir. Selülozu çözen iyonik sıvılar genel olarak selüloz ile uygun sıcaklıklarda kuvvetli hidrojen

bağı oluşturan klor, format, asetat ve alkil fosfat gibi anyonları içerirler ve bu bağlar biyo moleküllerin çözülmesini sağlar. Selüloz çözünürlüğü 3-metil-N-butylpyridinium klorür ([BMPy]Cl) ve 1-N-butil-3-metillimidazolium klorür ([BMIM]Cl) ile sırasıyla %39 ve %25'e kadar arttırılmıştır.

Asetat ve fosfat bazlı iyonik sıvılar klor bazlı iyonik sıvılara göre viskoziteleri daha düşük olup, termal kararlılıkları da format bazlı olanlara göre daha yüksektir. Fosfat bazlı iyonik sıvılar ise, asetat bazlı olanlara göre daha kolay sentezlenebilirler. İmidazolyum bazlı fosforlu iyonik sıvılar ([EMIM][DEP] ve [BMIM][DBP]) yüksek verimli olması bakımından büyük bir avantaja sahiptirler (Li ve ark., 2009).

İyonik sıvılar biyokütlenin içerdiği selülozun kolayca çözüldüğü kimyasallardır. Oda sıcaklığında sıvı halde bulunan iyonik sıvılar 300<sup>0</sup>C ye kadar bozunmazlar. İyonik sıvılar biyokütlenin yüzey alanını enzimatik hidroliz için artırır, lignin miktarını azaltırlar. Ayrıca biyokütlenin kristal indeksini azaltırlar. İyonik sıvılar toksik veya patlayıcı gazlar oluşturmadıkları için çevre dostu çözücü olarak da adlandırılırlar. Ayrıca geniş bir sıcaklık aralığında çalışabilirler (Li ve ark., 2010).

### **2.2.5 Biyolojik ön işlemler**

Biyolojik ön işlemler genellikle mikroorganizmalar, beyaz çürükçül funguslar ile gerçekleştirilmektedir. Bu ön işlemde lignin uzaklaştırılır ve hemiselüloz bozundurulur. Düşük maliyetli olması, az enerji gereksinimi, kimyasal ihtiyacı olmayışı gibi bir çok avantajı vardır (Alvira ve ark., 2010, Brodeur ve ark., 2011). Biyolojik ön işlemler çevre dostu, güvenli ve daha az enerjiye gereksinim duymaktadır. Ancak bu ön işlem süresi oldukça uzun bir zamandır. Bu sebeple selüloz ve hemiselüloz geri kazanımı düşebilir ve toplam verim azalabilir. Biyolojik ön işlemlerin verimliliği buhar ve amonyak patlatmalı ön işlemlerle kombine edilerek arttırılabilir (İbrahim, 2012).

Bu yöntemde mantarın salgıladığı bir tür enzim ile lignin ve hemiselülozun uzaklaştırılması, sağlanır. Bu işlem sırasında selüloz da bozulmaktadır. Biyolojik ön işlem teknolojisi, diğer ön işlem teknolojilerinden daha düşük maliyetli olmasına

rağmen, hidroliz hızının düşük olması ve önişlem süresinin uzun olması gibi dezavantajlara sahiptir (Brodeur ve ark., 2011).

### 2.3 Lignoselülozik Maddelerin Enzimatik Hidrolizi

Selülozun enzimatik hidrolizi spesifik selüloz enzimleri ile gerçekleştirilmektedir. Hidroliz işleminin ürünü genel olarak glikoz içeren indirgen şekerlerdir. Enzimatik hidroliz işlemi düşük sıcaklık (45-50<sup>0</sup>C) ve pH (4,8) da gerçekleşmesi ve korozyona neden olmaması sebebiyle asit ve alkali işleme göre daha az maliyetlidir. Enzimatik hidroliz sırasında selüloz selüloz enzimi ile indirgenip etanol üretimi için fermente şekerlere dönüştürülür (Sun ve Cheng, 2002). Hemiselülaz ve ligninaz gibi enzimlerin ilavesi ile selülozun selüloza ulaşması kolaylaşabilir (Margeot ve ark., 2009). Şeker verimini ve enzimatik hidroliz hızını etkileyen birçok önemli faktör bulunmaktadır. Biyokütle açısından bakıldığında; selüloz kristalinitesi, polimerizasyon derecesi, hemiselüloz, asetil grubu içeriği, tanecik boyutunun artması gibi parametreler enzimatik hidroliz güçleştirmektedir. Tüm bunlar uygun ön işlem yönteminin seçilmesi ile önlenir (Hayes, 2009). Ligninin biyokütle yapısında azda olsa var olması enzimatik hidrolizi güçleştirir. Ayrıca enzimatik hidroliz verimi biyokütle yapısındaki ksilan miktarına da bağlıdır. Ksilan enzimin selüloza ulaşmasını engeller. Selüloz hidrolizinin ürünü olan glikoz ve sellobiyoz selüloz aktivitesini inhibe edebilirler. Yüksek substrat konsantrasyonu hidroliz hızını ve verimini arttırabilmesine rağmen yüksek substrat miktarı inhibisyona yol açabilir. Hidroliz işlemi yüzey aktif madde, farklı enzimler ve enzim karışımlarının ilavesi ile hızlandırabilir. (Hayes, 2009).

Önişlem tamamlandıktan sonra açığa çıkan selüloz, hidrolize hazırlanır. Hidroliz işlemi yapıdan bir molekül koparılarak yerini bir su molekülü alması işlemidir.



Yukarıda gösterilen reaksiyona göre yürüyen hidroliz işlemi seyreltik asit, derişik asit veya enzimler tarafından katalizlenir. Bunlardan enzim ile hidroliz

işlemi, düşük sıcaklık ortamında ( pH=4,8 ve T=25-50°C ) bile yüksek verim elde edilebilmesi açısından diğer yöntemlere göre daha üstün bir yöntemdir. Ayrıca alkali veya asit katalizli yöntemler ile kıyaslandığında, enzim ile hidroliz yönteminde korozyon problemi olmaması sebebiyle de diğer yöntemlere göre daha üstün ve maliyet açısından daha avantajlıdır. Lignoselülozik maddenin hidroliz verimi Önişlem öncesinde %20'den daha az iken, önişlem sonrasında bu verim %90'lara kadar çıkartılabilir.

Selülozun hidroliz işlemi ile indirgen şekere (glikoz) dönüşümü için birçok proses geliştirilmiştir. Bu işlemlerden büyük bir çoğunluğu enzimatik hidroliz veya derişik konsantrasyonlarda sülfürik asit kullanımıyla gerçekleştirilmektedir. Biyokütleden etanol üretimi için kullanılacak enzim maliyetinin önceleri yüksek oluşu sebebiyle daha çok sülfürik asit tercih edilmekteydi. Bu yöntem glikoz verimini düşürmesi ve yüksek sıcaklık gerektirmesi gibi olumsuz koşulları beraberinde getirdiği için enzimatik hidroliz yöntemi yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır (Chiaramontive ark., 2012).

Selülozun parçalanması ön işlemde sonra selülaz enzimi tarafından gerçekleştirilir. Selülaz sistemi endo glikonaz, ekzo glikonaz ve sellobiyaz enzimlerini içermektedir. Hemiselülaz enzimi  $\beta$  1,4 ksilan ve diğer çeşitli zincirleri parçalar. Bu yüzden hemiselülaz enzim hidrolizi ticari anlamda selüloz enzimine göre çok fazla avantajlı değildir. Çünkü özellikle seyreltik asit ön işlemlerinde enzimatik hidroliz öncesinde hemiselülozlar lignoselülozik maddeden uzaklaştırılmalıdırlar (Kareemulla ve ark., 2008). Bu hidrolizde oluşan ürün indirgen şekerdir. Selülaz enzimi hem bakteriler (*Cellulomonas*, *Thermomonospora*) hem de küflerden (*Trichoderma reesei*, *Trichoderma virde v.s*) üretilir. Enzimatik hidroliz sonucunda seyreltik asit hidrolizine göre daha yüksek oranda monosakkaritler oluşur. Çünkü selülaz enzimleri sadece hidroliz reaksiyonları katalizlerler (Duff ve Murray, 1996). Enzimatik hidrolizde 40 ila 50°C'de, pH 4,8 de yüksek verim sağlanır. Enzimatik hidrolizin verimi; ön işlem türüne, enzimlerin yapısına, lignin ve hemiselüloz gibi inhibitörlerden arınmış olup olmaması gibi birçok etkene bağlıdır (Kareemulla ve Tyagi, 2008).



## **2.4 Lignoselülozik Maddelerin Hidrolizinde Etkili Parametreler**

Lignoselülozik maddelerin hidroliz süreçleri ve lignoselülozik maddelerin yapıları oldukça karmaşıktır uygulanan ön işlemin etkisi, . Substrat özellikleri, lignin bariyeri (içeriği ve dağılımı) ve hemiselüloz içeriği hidrolize etki eden faktörler arasındadır.

### **2.4.1 Ön işlemin etkisi**

Selüloz ve hemiselülozun monomerik fermente şekerlere etkili hidrolizi için bazı ön işlemler gerekmektedir. Substratın hidrolizi için lignoselülozun kimyasal, fiziksel ve morfolojik özellikleri oldukça önemlidir. Bu karakteristik özellikler ön işleme değişir ve madde şekerlere hidroliz için daha uygun hale gelir. Bu nedenle, ön işlem biyoetanol üretiminde dönüşüm işlemindeki diğer bütün adımları büyük oranda etkileyen en önemli adımdır. Maliyeti büyük ölçüde etkileyen ve genelde enerjiye ihtiyaç duyan ön işlem metotları; kimyasal (seyreltik asit, alkali vb.),fiziksel (parçalama, öğütme vb.), termal (buhar vb.) ve biyolojik (mantarlar vb.) olarak sınıflandırılır. Bu yöntemlerin zaman zaman birlikte uygulanması da olasıdır. Ön işlem metotları, sıcaklık, zaman ve pH gibi etkenler kullanılarak karşılaştırılabilir. Fakat, empirik yolla bu şekilde bir değerlendirme tam olarak hücre duvarının yapısını ve kimyasını açıklamak üzere bilgi vermez (Kristensen, 2009).

### **2.4.2 Substratın özellikleri**

Hidrolizi etkileyen faktörlerden biri substratın özellikleridir. Nötrleştirme kapasitesi, kolaylıkla hidroliz olabilme oranı, zor hidrolize olan birimlerin sayısı veya oranı, makro moleküllerin uzunluğu, selülozun kristalitesi, selüloz polimerizasyon derecesi, selüloz zincirinin dizilimi, selülozun bitki hücre duvarında bulunan diğer koruyucu polimerler (lignin, pektin, hemiselüloz, protein, mineral elementler v.b.) ile olan ilişkisi ve hammaddenin yüzey alanı büyüklüğü hidrolize etki eden substrat özellikleridir (Tahezadeh ve Karimi, 2008).

Selülozik substratların şekerlere hidroliz hızını belirlemede ve bu substratların sınıflandırılmasında selülozun kristalitesi önemlidir. Kristal selülozu hidrolize edebilen selülaz kompleksleri ile selülozun kristalitesinin etkisi incelenmiştir. Selüloz hidrolizinde polimerizasyon derecesinin yani selülozun zincir uzunluğunun etkili olduğu bilinmektedir. Depolimerizasyon ise substratın yapısına bağlıdır. Enzimatik hidroliz işlemi gerçekleşirken substratların polimerizasyon derecesini azaltmak üzere endoglukanlar, iç kısımda selüloz zincirini koparırlar.

### **2.4.3 Lignin bariyeri (içeriği ve dağılımı)**

Selülaz enziminin selüloza ulaşımı lignin ve hemiselüloz varlığında zordur. Bu yüzden hidrolizin etkinliği azalır. Lignin, enzimin hidroliz olacak substrata fiziksel olarak ulaşmasını engeller, sonuç olarak enzimatik hidrolizin hızı azalır.

Lignoselülozik biyokütleye alkali ön işlem uygulanması, selülaz enziminin lignine adsorpsiyonunun önlenmesi, protein veya polietilen glukol vb. bileşenlerin ilavesi ile sağlanmaktadır. Ön işlemler ve ilave kimyasal kullanımı enzimatik hidrolizi artırır ancak prosesin maliyetinin artmasına sebep olur.

Enzimlerin lignine adsorpsiyonu substratın yapısıyla ilgilidir. Çeşitli selülazlar ligninle farklı inhibisyonlara yola açar, ksilanazlar ve glikozidazlar lignin içeriğinden daha az etkilenmektedir. Enzimatik hidrolizi olumsuz etkileyen lignin, biyorafineri işlemlerinde katma değeri yüksek ürün elde etme potansiyeline sahip olması nedeniyle günümüzde ana araştırma alanlarından içinde yer almaktadır (Alvira ve ark., 2010).

### **2.4.4. Hemiselüloz içeriği**

Lignoselülozik hammaddenin içermiş olduğu hemiselülozların uzaklaştırılması ile substratın gözenek boyutu ile birlikte selülozun hidrolize olma olasılığı ve enzime ulaşılabilirliği de artar. Ön işlem uygulanmış katlardaki hemiselülozik şekerlerin geri kazanımının daha yüksek toplam fermente şeker elde etmek için uygun olduğu söylenebilir. Bundan dolayı hemiselüloz uzaklaştırılırken

enzimatik olarak geri kazanımı da dikkate alınmalıdır. Lignin ve asetil grupların hemiselüloz matrisine bağlı ve polisakkarit bozunumuna engel olabilir bir yapıya sahip olmaları nedeniyle, hemiselülozdaki asetilasyonun derecesi enzimatik hidroliz verimini etkileyen bir başka etkidir (Alvira ve ark., 2010).

## **2.5. Selüloz Enzimi**

Glikozil hidrolazlar selülozik materyallerin biyoyakıtlara dönüşümünde önemli bir rol oynamaktadır ve selüloz enzimi olarak adlandırılır. (Goldbeck ve ark., 2013). Lignoselülozik biyokütlelerden alternatif yakıtların ve kimyasalların üretiminde kullanılan önemli katalizörler olan selülozlar ve hemiselülozlar, lignoselülozların glikoz, mannoz, arabinoz ve ksiloz gibi fermante şekerlere hidrolizi için gereklidirler (Hideno ve ark., 2011).

Selülozlar Dünya endüstriyel enzim talebinin %8'ini oluşturmaktadırlar. Selüloz pazarı, selülozların, biyoetanol ve biyolojik ürünlerin üretimi için, ön işlem görmüş lignoselülozik maddelerin fermente şekerlere hidrolizinde kullanıldıkları sürece önemli oranda büyüyecektir. Selülozların maliyeti toplam biyoetanol üretim maliyetinin geniş bir kısmını oluşturmaktadır. Selülozın yüksek miktarda üretiminin gerçekleşmesi için, yüksek verimli mantar ve pahalı olmayan karbon kaynağı gereklidir (Hideno ve ark., 2011). Selüloz üretim maliyeti için en önemli faktör substratın maliyetidir (Singh ve ark., 2009).

Selülozu parçalayabilen birçok mikroorganizma olmasına rağmen sadece bir kısmı kristal selülozu tamamen hidrolize edebilen biyoaktif bileşenleri önemli bir miktarda üretebilmektedir (Bail ve ark., 2012). Genellikle mantarlar ve bakteriler selüloz üretiminde kullanılmaktadır. Gelişim hızlarının yavaş olması nedeniyle mantarlardan üretilen selülozın maliyeti yüksektir. Mantarlar kolay saflaştırma ve ayırım için yetiştirme ortamına salınacak bol miktarda selüloz ve hemiselüloz üretme kapasitesine sahiptir. Selüloz yapısı üzerine mekanik baskı oluşturup, selülozın bol miktarda üretimini sağlayan yapılar mantarların uzamış lifleridir. Mantarlardan üretilen selülozların çoğu, hidrolitik ve oksidatif enzimleri salgılayarak, selüloz, hemiselüloz ve ligninin dağılmasını gerçekleştirmektedirler (Pandit ve Maheshwari, 2012). Mantarlardan üretilen enzimler bakteriyel enzimlere

göre daha komplekstir (Otajevwo, 2011). Yüksek gelişim hızına sahip selüla $\zeta$  üretiminde sıklıkla kullanılan bakteriler ile mantarlar karşılaştırıldığında, bakteriler selüla $\zeta$  üretimi için daha iyi bir potansiyeldirler. Bakterilerden üretilen selüla $\zeta$ lar lignoselülozik maddenin daha az inhibe olmasını sağlamaktadır ve daha verimli katalizörlerdir (Ariffin ve ark., 2006).

Selüla $\zeta$ lar selülozik substrattaki hareket kısımlarına göre içteki selüloz ile lif bağlarını bölen endoglukanazlar, selülozun dış bölgesinde çalışan ekzoglukanazlar ve sellobiyohidrolazlar ile çözünebilir glikoz oligosakkaritleri hidroliz eden beta-glikosidazlar olmak üzere üç gruba ayrılırlar.

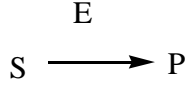
Endoglukanazlar, endo  $\beta$ -1-4 glukana $\zeta$  ve karboksi metil selüla $\zeta$  olarak bilinirler. Selülozun  $\beta$ -1-4 glukosidaz iç bağlarının katalitik hidrolizini sağlar. Selüloz endoglukanazların doğal substratları olarak çalışır. Endoglukanazlar, sadece selülozun şekilsiz kısmında hareket eder. Selüloz zincirinin uzunluğu boyunca bu enzimlerin aktivitesi azalmaktadır.

Ekzoglukanazlar, selüloz zincirinin indirgen ve indirgen olmayan kısımları içerisinde hareket etmektedir. Glikoz ve sellobiyohidrolazları ana ürün olarak serbest bırakır. Ekzoglukanazlar, mikrokristal selüloz üzerinde hareket ederler ve böylece polisakkarit zinciri kısalır. Karboksimetil selüloz (CMC) ve hidroksietilselüloz (HEC) gibi zincirler üzerinde sınırlı etkiye sahiptir.

$\beta$ - glikosidazlar; Çözünebilir sellobiyozu ve kısa oligosakkarit zincirini glikoza hidroliz etmek amacıyla kullanılırlar. Ayrıca  $\beta$ -D-glikozid glukohidrolaz olarak da isimlendirilirler. Selüloz zinciri boyunun artması ile aktivitesini kaybeder. Uçta  $\beta$ -D-glikoz oligosakkaritlerinin hidrolizini gerçekleştirirler (Sharada ve ark., 2013).

## **2.6. Basit Enzim Kinetiği**

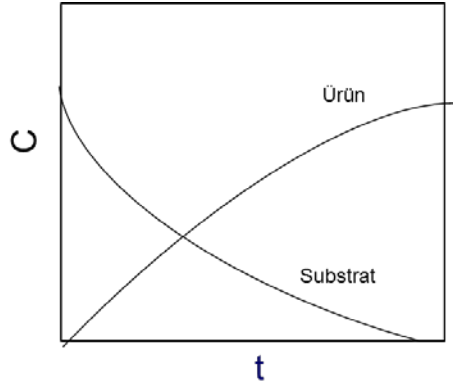
Bir reaktörde enzim katalizörlüğünde substratın (S) ürüne (P) dönüştüğü varsayılır. Zamanla substrat veya ürün konsantrasyonları ölçüldüğünde ürün konsantrasyonunun artarak maksimuma ulaştığı ve substrat miktarının da azaldığı Şekil 2.5’de görülmektedir.



Reaksiyon hızları substrat (S) ve ürün (P) cinsinden Denklem 2.1 ve 2.2’de verilmiştir.

$$r_s = -\frac{dC_s}{dt} \quad (2.1)$$

$$r_p = \frac{dC_p}{dt} \quad (2.2)$$



**Şekil 2.5.** Enzim katalizörlüğünde substrat ve ürün konsantrasyonunun zamanla değişimi

Basit enzim kinetiğinde enzimin substrat ile bir kompleks oluşturduğu varsayılmıştır. Bu kompleks daha sonra ürün ve enzime tekrar parçalanacaktır (Reaksiyon 1 ve 2). Bu teorideki Enzim-Substrat (ES) kompleksinin varlığı daha sonra spektroskopik yöntemlerle kanıtlanmıştır.



Bu teoride yapılan varsayımlar:

1) Reaksiyon boyunca toplam enzim konsantrasyonu  $[E_0]$  sabit kalır.

$$[E_0] = [ES] + [E]$$

2) Substrat miktarına oranla kullanılan enzim miktarı çok azdır. Böylece enzim-substrat oluşumunda ne substrat ne de enzim tükenmez.

3) Oluşan ürün konsantrasyonu çok azdır.

Bu varsayımlar ışığı altında hız eşitliğinin mekanizması Michaelis-Menten yaklaşımı geliştirilmiştir.

Bu yaklaşımda 2. reaksiyonlarındaki ürün oluşum basamağı denge reaksiyonuna (1. reaksiyon) kıyasla çok yavaştır ve böylece reaksiyonun hızını bu basamak (2.3) belirler. Bu kimyasal kinetikte heterojen katalizlere uygulanan yaygın bir varsayımdır.

$$r = \frac{d[P]}{dt} = -\frac{d[S]}{dt} = k_3[ES] \quad (2.3)$$

Reaksiyon 1 dengededir. Yani dengede reaksiyon hızları birbirine eşittir (2.4).

$$k_1[S][E] = k_2[ES] \quad (2.4)$$

Başlangıçtaki enzim konsantrasyonu Reaksiyon 1 ve 2 deki  $[ES]$  ve  $[E]$  konsantrasyonlarının toplamına eşittir (2.5).

$$[E_0] = [ES] + [E] \quad (2.5)$$

Konsantrasyonlar Denklem 2.2'deki hız ifadesinde yerine konulursa Michaelis-Menten hız ifadesi elde edilir (Fogler, 2005).

$$r = \frac{d[P]}{dt} = -\frac{d[S]}{dt} = k_3[ES] \quad (2.6)$$

$$[ES] = \frac{[E_0][S]}{\frac{k_2}{k_1} + [S]} \quad (2.7)$$

$$r = k_3[ES] = k_3 \frac{[E_0][S]}{\frac{k_2}{k_1} + [S]} = \frac{\vartheta_{max}[S]}{K_M + [S]} \quad (2.8)$$

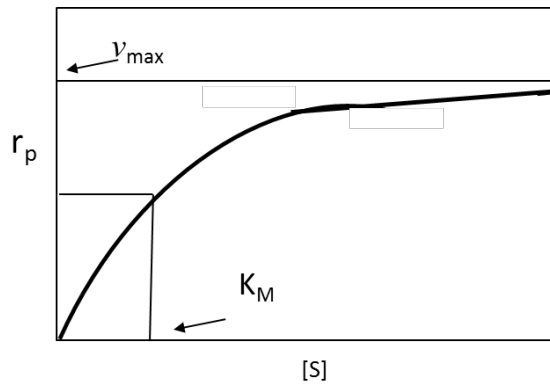
$$r = \frac{\vartheta_{max}[S]}{K_M + [S]} \quad (2.9)$$

Bu eşitlikte  $K_M = k_2/k_1 = 1/K_{eq}$ ,  $K_{eq}$ : Birinci reaksiyonun denge sabitidir.

$$K_M = \frac{k_2}{k_1} = K_1 = \frac{[S][E]}{[ES]} = \frac{1}{K_{eq}} \quad (2.10)$$

$$\vartheta_{max} = k_3[E_0] \quad (2.11)$$

Denklem 2.11 kullanılarak Cs konsantrasyonuna karşı reaksiyon hızı ( $r_p$ ) grafiğe geçirilecek olursa Şekil 2.6 elde edilmektedir. Bu şekilden de görüleceği gibi düşük substrat konsantrasyonlarında reaksiyon hızı substrat konsantrasyonu ile doğru orantılıdır (birince merteye) substrat konsantrasyonu çok yüksek olduğunda reaksiyon hızı substrat konsantrasyondan bağımsızdır (0. merteye). Maksimum konsantrasyon hızı ( $V_{max}$ ) kullanılan enzim konsantrasyonu ile orantılıdır. Maksimum reaksiyon hızının yarısında  $K_M$  substrat konsantrasyonuna ( $[S]$ ) eşittir.



Şekil 2.6. Substrat konsantrasyonu ile reaksiyon hızının değişimi

## 2.7 Fındık Üretimi

Çalı formunda bir kültür bitkisi olan fındık, (takımı Fagales, familyası Betulaceae alt familyası Coryleae, cinsi *Corylus*) Dünya üzerinde 36-41 kuzey enlemlerinde yetişebilen bir bitkidir. Uzun ömürlü olmasına karşın kendine özel bir iklime ihtiyaç duymaktadır. (Anonim 2013; Yavuz ve Polat 2012). Fındığın yetişme ortamı genel olarak nemli ve ılıman (13-16°C) iklim koşullarında gerçekleşmektedir. Fındık yetiştirilen toprak ise derin, tınlı, besin ve minerallerce zengin, humuslu, asidik (pH= 6) özelliklere sahip olmalıdır *Corylus avellane* L. (Adi fındık), *Corylus colurna* L. (Türk fındığı) ve *Corylus maxima* Mill. (Lambert fındığı) gibi fındık türlerinin ekonomik olarak kültürü yapılmaktadır. (Yavuz ve Polat 2012).

Kuzey yarı küre ılıman iklim kuşağında (Japonya'dan, Çin, Mançurya, Kafkasya, Türkiye, Avrupa ve Kuzey Amerika'ya kadar) fındık yabancı olarak yetişmektedir (Yavuz ve Polat, 2012). Dünya fındık üretiminin yaklaşık %75'i ülkemiz tarafından gerçekleştirilmekte olup dünyanın en önemli fındık üreticisi ülke Türkiye'dir. Karadeniz Bölgesi ülkemizde fındık üretimi bakımından oldukça elverişli ekolojik şartlara sahiptir. Fındık yoğun olarak Karadeniz Bölgesi'nde olmak üzere ülkemizin 34 ilinde üretilmekte ve ülkemiz ekonomisinde önemli bir yer teşkil etmektedir. 395 bin aile yaklaşık 690 bin hektar alanda fındık yetiştiriciliği yapmaktadırlar. Tarımsal ihracatımızın ise yaklaşık %15-20 lik kısmını fındık ihracatı oluşturmaktadır (Anonim 2013).



**Çizelge 2.1.** Dünya Fındık Üretimi (Ton) (Anonim 2013)

ÜLKELER	2005/06	2006/07	2007/08	2008/09	2009/10	2010/11	2011/12	2012/13
<b>Türkiye</b>	<b>530.000</b>	<b>661.000</b>	<b>530.000</b>	<b>800.791</b>	<b>500.000</b>	<b>600.000</b>	<b>430.000</b>	<b>660.000</b>
İtalya	65.000	138.000	95.000	125.000	85.000	87.200	140.000	80.000
A.B.D.	25.400	39.010	33.570	36.280	42.600	24.500	35.000	38.000
Azerbaycan	27.986	25.000	30.800	40.000	30.000	25.000	55.000	27.000
Gürcistan	16.393	14.000	25.000	35.000	27.000	40.000	30.000	25.000
İspanya	20.000	28.000	18.000	26.000	18.000	20.000	22.000	17.000
Diğer	47.876	52.244	48.880	5.900	20.000	27.000	27.000	18.000
Toplam	732.655	957.254	781.250	1.068.971	722.600	823.700	739.000	865.000

Ülkemizde yıllık ortalama 600,000 tonluk fındık üretimi yapıldığı ve kabuklu fındığın yaklaşık %50'lik kısmının kabuk olduğu düşünülecek olursa Türkiye'nin yıllık yaklaşık olarak 300,000 ton fındık kabuğu üretimi vardır.

**Çizelge 2.2.** Türkiyede Fındık Üretim Alanı ve Durumu (Anonim 2013).

Yıllar	Üretim Alanı (Ha)	Üretim (Ton)	Verim (Kg/da)
<b>2001</b>	555.000	625.000	113
<b>2002</b>	560.000	600.000	107
<b>2003</b>	600.000	480.000	80
<b>2004</b>	650.000	350.000	54
<b>2005</b>	655.000	530.000	81
<b>2006</b>	666.226	661.000	99
<b>2007</b>	663.817	530.000	80
<b>2008</b>	663.192	800.791	121
<b>2009</b>	642.866	500.000	78
<b>2010</b>	667.865	600.000	90
<b>2011</b>	696.964	430.000	62
<b>2012</b>	696.964	660.000	94

Çerez olarak da tüketilen fındığın Türkiye ve Dünya'da % 90'a yakın kısmı kavrulmuş, beyazlatılmış, kıyılmış olarak kullanılmaktadır. Ayrıca fındığın bir çok

gıda endüstrisinde (çikolata, bisküvi ve şekerleme, tatlı, pasta ve dondurma, yemek ve salatalarda yardımcı madde olarak) kullanımı bulunmaktadır. Beş bin yıldır bilinmekte olan fındık meyvesinden bitki odununa kadar bir insanoğluna birçok faydası vardır (Sobutay 2006).

Fındık kabuğu ülkemizde yüksek kalorili bir yakacak olarak kullanılmaktadır. Fındık odunu ise sepet, baston, sandalye, çit ve el aletleri gibi malzemelerin yapımında da kullanılmaktadır. Bazı fındık türleri süs bitkisi olarak Park ve bahçelerde yetiştirilir. Yağlık olarak değerlendirilen fındıklar üretim fazlasıdır. Fındık ham yağı rafine edilerek yemeklik yağ olarak kullanılmaktadır. Fındık küspesi ise hayvan yemine katkı olarak kullanılmaktadır (Sobutay 2006).

## **2.8. Konu ile İlgili Bitkilerin Kabukları ile Yapılan Çalışmalar**

Literatürde bitkilerin kabukları ile ilgili yapılan birçok çalışma bulunmaktadır. Ön işlemlerin glikoz, hidroliz ve sakkarifikasyon verimine etkisinin incelendiği bazı çalışmalar özetlenmiştir.

Kamelya çiçeğinin kabukları kullanılarak yapılan bir çalışmada (Zhu ve ark., 2013) kabuktan biyoetanol yanında vanilin ve ksilooligosakkaritler üretilmiştir. Bu çalışmada ön işlem olarak NaOH kullanılmış ve proses parametreleri (sıcaklık, zaman, katı/sıvı oranı, alkali derişimi) optimize edilmiştir. Ön işlemde sonra kalan katıya selülaz enzimi uygulanmış ve hidroliz sıvısı fermente edilmiştir. optimum ön işlem koşulları %12 lik NaOH ile 120<sup>0</sup>C de, %10 katı sıvı oranında 150 dk şartları olarak belirlenmiştir. Bu şartlarda gerçekleştirilen ön işlem sonucunda %82,39 hemiselüloz giderimi, %78,67 lignin giderimi ve %58,82 toplam sakkarifikasyon verimi elde edilmiştir (Zhu ve ark., 2013).

Kaktüs, hindistan cevizi kabuğu, olgun hindistan cevizi lifi ve olgun hindistan cevizi kabuklarından etanol eldesi üzerine yapılan bir çalışmada (Gonçalves ve ark., 2014) alkali hidrojen peroksit ve NaOH ön işlemlerinin sırasıyla uygulanması ile selülozca zengin katının elde edilmesi amaçlanmış ve elde edilen katı verimleri kaktüs, hindistan cevizi kabuğu, olgun hindistan cevizi lifi ve olgun hindistan cevizi kabukları için sırasıyla %50,90, %38,40, %46,35, %49,76 olarak bulunmuştur. Çalışmada elde edilen lignin giderimleri ise kaktüs, hindistan

cevizi kabuğu, olgun hindistan cevizi lifi ve olgun hindistan cevizi kabukları için sırasıyla %54,78, %70,64, %66,57 ve %69,17 olarak bulunmuştur. 96 saat sonundaki enzimatik hidroliz verimlerinin %68,44, %70,20, %76,21, %74,50 olduğu görülmüştür (Gonçalves ve ark., 2014).

Kestane kabuklarından fermente şeker eldesi üzerine ön işlem metotlarının karşılaştırılmasının yapıldığı bir çalışmada (Maurelli ve ark., 2013) en yüksek selüloz hidroliz verimine sulu amonyak ön işlemi ile ulaşılmıştır. Sıcak asit ve buhar patlatma gibi alternatif ön işlemler daha az selüloz hidrolizine neden olmuş ayrıca buhar patlatma kayda değer miktarda ksilani çözmüştür. 70°C sıcaklıkta, %10 (h/h) amonyum hidroksit çözeltisi ile 22 saat uygulanan ön işlem sonucunda %67,8 glikoz verimi elde edilmiştir. 121°C sıcaklıkta, %0,45 (h/h) sülfürik asit çözeltisi ile 20 dakika uygulanan ön işlem sonucunda %20,6, 190°C sıcaklıkta, 10 dakika boyunca uygulanan buhar patlatması ön işlemi ile %39,1 glikoz verimi elde edilmiştir. ksiloz verimi açısından bakıldığında ise sulu amonyak çözeltisi ile uygulanan ön işlem sonrasında enzimatik hidroliz ile %92,7 ksiloz verimi elde edilmiştir (Maurelli ve ark., 2013).

Badem (*prunus dulcis*) kabuğundan entegre ön işlem ile fermente şeker ve lignin eldesi için yapılan bir çalışmada (Gong ve ark., 2011) selüloz, hemiselüloz ve lignin ayırmak için sıcak su ön işlemi ile birleştirilmiş organik çözücü ön işlemi içeren çevre dostu bir su/etanol işlemi geliştirilmiştir. Optimum iki kademeli işleminin ilk sıcak su ön işlemi 195°C'de 30 dk boyunca uygulanmış ve işlem sonunda %95,4 selüloz kazanım verimi ve %92,2 ksiloz giderimi elde edilmiştir. İkinci organik çözücü aşaması %50 lik etanol –su çözeltisi ile 195°C'de 20 dk süre ile gerçekleştirilmiş ve yaklaşık % 100 selüloz kazanım verimi gözlenmiştir, ayrıca bu ön işlem sonucunda sırasıyla %90 ve %61 Ksiloz ve lignin giderimi elde edilmiştir. Enzimatik hidroliz sonrasında glikoz verimi %95' e kadar yükseltilmiş olup ön işlem görmemiş bademin verimi ile kıyaslandığında glikoz verimini %61 oranında arttırdığı gözlenmiştir (Gong ve ark., 2011).

Şeker kamışı küspesi, pirinç kabuğu, fıstık kabuğu ve cassava sapı gibi tarımsal atıklardan etanol üretiminin araştırıldığı çalışmada (Martin ve ark., 2007) seyreltik asit ön işleminin süresinin etkisi araştırılmıştır. Sülfürik asit ön işlemleri 122°C'de 20, 40, 60 dak boyunca katı-sıvı oranı 1/10 olacak şekilde %2 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>

kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Ön işlem süresinin artışı ile şeker oluşum hızının arttığı, ksiloz, glikoz, arabinoz ve galaktozun tüm ön işlem sıvılarında gözleendiği ancak mannozun yalnızca fıstık kabuğu ve cassava sapının ön işlem sıvısında ortaya çıktığı gözlenmiştir. Küspenin içerdiği hemiselülozlar sırasıyla 19,1 ve 2,2 g/L konsantrasyonlarındaki ksiloz ve arabinoza hidrolize edilirken, ksilan dönüşümü %80'den fazla olmuştur. Pirinç kabuğunun ön hidrolizinde kabukta kalan tahıl nişastasının hidrolizinin sebep olduğu yüksek glikoz konsantrasyonları (26-33,5 g/L) gözlenmiştir. Fıstık kabuğu ve cassava sapının ön işlem sıvılarında düşük miktarlarda şeker vermeleri, nicel olarak bu maddelerdeki hemiselülozların hidrolizi için ön işlem koşullarının yeterli şiddette olmadığını göstermiştir. Seyreltik asit ön işlemi küspenin enzimatik hidrolizini 2,7-3,7 kat arasında arttıracak sonuçlar vermiştir; fakat fıstık kabuğu, cassava sapı ve pirinç kabuğunun enzimatik hidrolizini arttırmada etkili olmamıştır. Bu çalışmada fıstık kabuğunun enzimatik hidroliz veriminin artırılması için yüksek sıcaklığa ihtiyaç olduğu belirlenmiştir (Martin ve ark., 2007).

Yumuşak kereste karışımları ve badem kabuklarının polimerizasyon derecesinin ve selüloz fraksiyonunun enzimatik hidrolizinin artırılması için yapılan bir çalışmada (Martinez ve ark., 1997) otohizoliz (sıcak su ile) ve seyreltik asit ön işlemlerinin etkileri araştırılmıştır. Ön işlem boyunca iki substrattaki selülozun da benzer ölçüde depolimerize olduğu açığa çıkmıştır. Yumuşak kereste karışımları için 231<sup>0</sup>C, sıcaklıkta %0,44 sülfürik asit çözeltisi ile 1,7 dakika boyunca uygulanan ön işlem sonucunda glikoz verimi maksimum % 44 olarak elde edilirken bu oran badem kabukları için 180<sup>0</sup>C, sıcaklıkta 38 dakika boyunca uygulanan oto hidroliz ön işlem sonucunda %97'ye çıkmıştır (Martinez ve ark 1997)

Hint fıstığı kabuklarının eş zamanlı sakkarifikasyon ve fermantasyonuna asit ve alkali ön işlemlerinin etkilerinin incelendiği çalışmada (Visser ve ark., 2012) %0,5 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ve %1,0 NaOH ile iki seyreltik ön işlem uygulanmıştır. Lignin giderimi alkali ön işlem sonucunda %63,1, asit ön işlemi sonucunda ise %10,6 olarak belirlenmiştir. Ön işlem uygulanmış hammaddelerin selüloz içerikleri asit ve alkali ön işlem için sırasıyla %33,6 ve %50 olarak belirlenmiştir. Ön işlem uygulanmış katıda glukanın etanole dönüşümünün maksimum verimi; asit ve alkali

önişlem görmüş biyoküteller için sırasıyla; %40,43 ve %41,03 olarak bulunmuştur (Visser ve ark., 2012).

Şeker kamışı, pirinç kabuğu, cassava sapları ve fıstık kabukları için ıslak oksidasyon önişleminin etanol üretimi üzerine etkisinin incelendiği çalışmada (Martin ve Thomsen, 2007) biyokütellere 195°C 'de 10 dakika, 2g/kg Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> ile, 3-12 bar oksijen basıncı altında önişlem uygulanmıştır. Fıstık kabukları ıslak oksidasyon sonucunda %26,8 selüloz kazanımı ve sırasıyla %56,6 %43,4 hemiselüloz ve lignin giderimi sağlanmıştır. Fıstık kabuklarının, hammaddedeki selüloz içeriğinin %10 ve %16'sına eşdeğer %11,15 ve 17,11'lık enzimatik hidroliz dönüşümü diğer biyokütellere göre en düşük dönüşüm verimini göstermiştir. Bunun sebebi fıstık kabuklarının yüksek lignin içeriğidir.

### 3. MATERYAL ve YÖNTEM

#### 3.1 Materyal

Bu çalışmada Trabzon Beşikdüzü ilçesinden sağlanan fındık kabukları kullanılmıştır. Ön işlemler ve analizlerde kullanılan, potasyum sodyum tartarat tetrahidrat, sodyum metabisülfid, fenol, nitrik asit, etanolamin, dietanolamin, etilen glikol, dietilen glikol, mannoz, Merck Millipore'dan, sülfürik asit, asetik asit, NaOH, kalsiyum karbonat, kalsiyum hidroksit, amonyum hidroksit, hidrojen peroksit, 1-etil 3-imidozolyum klorit, 1-etil 3-imidozolyum asetat, 1-etil 3-imidozolyum fosfat, 3-5 dinitrosalisilik asit, NaOH, asetik asit, sodyum asetat, glikoz, sellobiyoz, arabinoz, galaktoz, ksiloz, selülaz enzimi (Celluclast® 1.5L), sellobiyaz enzimi (Novozyme 188) ve ksilanaz enzimi (xylanase from *Thermomyces lanuginosus*) ise Sigma Aldrich'den satın alınmıştır.

#### 3.2 Yöntem

##### 3.2.1 Hammadde hazırlanması

Fabrikadan alınan ve kurutulan fındık kabuğu Retsch marka (Haan/Almanya) öğütücüde öğütülüp belirli mesh numaralarına göre Retsch marka (Haan/Almanya) elek cihazından geçirilip elenmiştir. 0,224-0,850 mm boyutlu elek aralığında kalan örnekler cam kavanozlara ayrılıp saklanmıştır. Ortalama parçacık boyutu Eşitlik 3.1'e göre hesaplanmış ve 0,519 mm bulunmuştur

$$D_w = \sum_{i=1}^n X_i D_{pi} \quad (3.1)$$

Bu eşitlikte  $D_w$  kütleli ortalama parçacık boyutunu,  $x_i$  elek aralıklarındaki maddenin ağırlıkça yüzdesini,  $n$  elek sayısını,  $D_{pi}$  ise elek aralıklarındaki en büyük ve en küçük parçacık boyutlarının aritmetik ortalamasını (Mc Cabe ve ark. 1993).

### 3.2.2 Analitik yöntemler

#### 3.2.2.1 Nem miktarının belirlenmesi

Fındık kabuğunun içindeki nem miktarının bulunabilmesi için yaklaşık olarak 0,5 gram numune Mettler Toledo marka (Liebestrasse, İsviçre) nem tayin cihazının alüminyum tartım kefesine konulmuştur. Cihaz 105<sup>0</sup>C kurutma sıcaklığına programlandıktan sonra nem miktarı cihazın üzerindeki dijital göstergeden yüzde olarak okunmuş ve hammadde içindeki nem yüzdesi % 9,0 olarak bulunmuştur.

#### 3.2.2.2 Kül miktarının belirlenmesi

Kül tayini için sabit tartıma getirilmiş porselen krozelere 2 şer gram kuru hammadde tartılmıştır. Krozeler önceden ısıtılarak 600<sup>0</sup>C' ye getirilen kül fırınında 2 saat boyunca yakılmıştır. Yakma işlemine sabit ağırlık veya açık gri kül elde edilene kadar devam edilmiştir. Yakma işlemi biter bitmez krozeler desikatöre alınarak soğutulduktan sonra tartılmış ve kül miktarı Eşitlik 3.2 kullanılarak hesaplanmıştır (Slutier ve ark., 2008a).

$$\text{Kül miktarı (\%)} = \frac{\text{Kül ağırlığı (g)}}{\text{Örnek ağırlığı (g)}} \times 100 \quad (3.2)$$

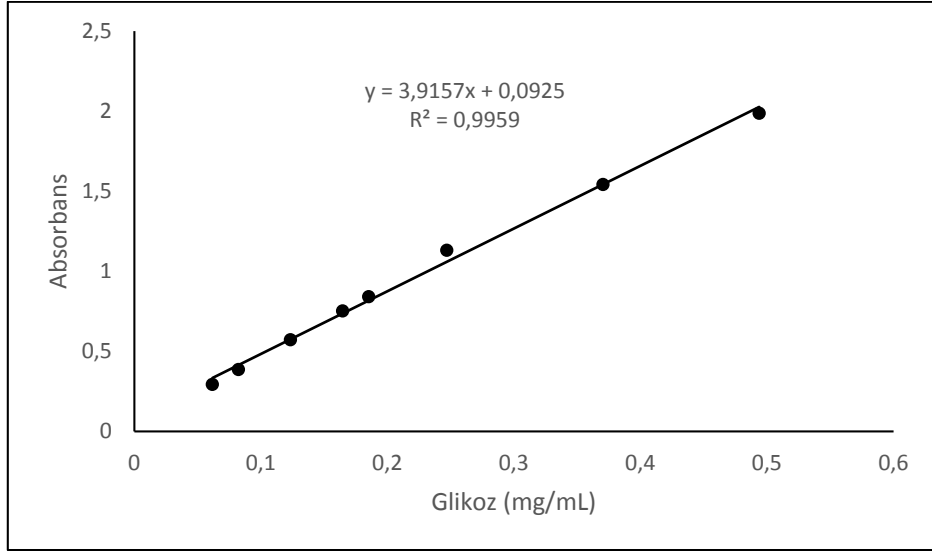
#### 3.2.2.3 Ekstraktif madde miktarının belirlenmesi

Hammaddenin içermiş olduğu ekstraktif maddelerin belirlenmesi için fındık kabuklarına sekiz saat boyunca etanol su karışımı ile Soxhlet ekstraksiyonu uygulanmıştır. Ekstre edilen katı madde 105<sup>0</sup>C etüvde kurutulduktan sonra kalan katı madde miktarı tartılmış ve ekstraktif madde yüzdesi Eşitlik 3.3'e göre hesaplanmıştır (Slutier ve ark., 2008c).

$$\text{Ekstraktif miktarı (\%)} = \frac{\text{ekstre edilen miktar (g)}}{\text{örnek miktarı (g)}} \times 100 \quad (3.3)$$

### 3.2.2.4 İndirgen şeker analizi

Enzimatik hidroliz sonucunda sıvıda çözünen indirgen şeker miktarı DNS metodu ile belirlenmiştir (Miller, 1959). 1,5 mL şeker çözeltisi ile 3 mL DNS çözeltisi karıştırılıp kaynar su banyosunda 5 dakika bekletilmiştir. Kaynar su banyosundan alınan çözeltiler hemen soğuk su banyosunda soğutulmuş ve 540 nm dalga boyunda kör tampon çözeltiliye karşı Optima SP3000 marka UV (Slovakya) ile absorbans değerleri okunmuştur. Çözeltideki indirgen şeker miktarları (mg/ml) DNS yöntemi saf glikoz çözeltileri kullanılarak hazırlanmış ve mg/ml glikoz-absorbans kalibrasyon doğrusu ( $r^2:0,9959$ ) (Şekil 3.1.) kullanılarak belirlenmiştir.



Şekil 3.1. DNS kalibrasyon doğrusu

### 3.2.2.5 Enzim aktivitesinin belirlenmesi

#### *Selülaaz Aktivitesi*

Selülaaz aktivitesi filtre kağıdı yöntemine (FPU/mL) göre belirlenmiştir (Adney ve Baker 2008d). 50 mg Whatman no:1 filtre kağıtları tartılıp santrifüj tüplerine yerleştirilmiş ve sonra farklı konsantrasyonlarda hazırlanan selülaaz enzim



(Celluclast® 1.5L)örneklerinden 0,5 mL enzim ve 1 mL (pH= 4,8'lik) tampon çözeltisi filtre kağıdının üzerine eklenmiştir. Bu karışım 50°C'lik çalkalamalı inkübatörde 60 dakika boyunca çalkalanmış ve bu sürenin sonunda her bir tüpe 3 ml DNS çözeltisi eklenerek tüpler 5 dakika sıcak su banyosunda bekletilmiştir. Daha sonratüpler soğuk suda 1 dakika bekletilip soğutulduktan sonra 540 nm dalga boyunda absorbanları okunmuş ve içermiş olduğu indirgen şeker miktarları DNS yöntemine göre Şekil 3.1 deki kalibrasyon doğrusu kullanılarak belirlenmiştir. Enzim konsantrasyonuna karşı indirgen şeker miktarı grafiği çizilmiş ve 2 mg indirgen şeker miktarına karşılık gelen enzim konsantrasyonu belirlendikten sonra, Eşitlik 3.4' e göre enzim aktivitesi filtre kağıdı birimi cinsinden belirlenmiştir

$$\text{Filtre Kağıdı Aktivitesi (FPU/mL)} = \frac{0,37}{2 \text{ mg indirgen şeker elde edilen enzim derişimi}} \quad (3.4)$$

### ***Sellobiyaz Aktivitesi***

β-glukosidaz aktivitesi standart IUPAC yöntemine göre belirlenmiştir (Ghose 1987). Bu yöntemine göre bir birim β-glucosidase aktivitesi 1 μmol sellobiyozdan 2 μmol glikozun 1 dakikada üretilmesi için gerekli olan enzim miktarı olarak ifade edilmektedir ve sellobiyaz birimi (CBU) ile gösterilmektedir. Farklı konsantrasyonlarda hazırlanmış sellobiyaz enzimi (Novozyme 188) ve 15 mM D(+) sellobiyoz substrat çözeltisi 50°C'lik inkübatörde 30 dakika boyunca reaksiyona sokulmuştur. Daha sonra çözeltiler 5 dakika boyunca kaynar su banyosunda bekletilmiş, soğutulmuş ve indirgen şeker miktarları DNS yöntemi ile belirlenmiştir. Enzim konsantrasyonuna karşı indirgen şeker grafiği çizilmiş ve 1 mg indirgen şeker miktarına karşılık gelen enzim konsantrasyonu belirlendikten sonra, Eşitlik 3.5'e göre enzim aktivitesi sellobiyaz birimi cinsinden belirlenmiştir

$$\text{Sellobiyaz birimi (CBU/mL)} = \frac{0,0926}{1 \text{ mg indirgen şeker elde edilen enzim derişimi}} \quad (3.5)$$

### *Ksilanaz Aktivitesi*

Bu yöntemin temeli 60 dakika boyunca ksilandan üretilen ksiloz miktarına dayanmaktadır (Ghose ve Bisaria 1987). Eşit miktarlarda ksilanaz enzimi (xylanase from *Thermomyces lanuginosus*) ve %1 (a/h) lik yulaf (oat) ksilan karışımlarının pH=5 tampon ortamında, 50°C'lik çalkalamalı inkübatörde, 60 dakika boyunca reaksiyonu gerçekleştirilmiştir. Oluşan şeker miktarları ksiloz cinsinden DNS yöntemine göre belirlenmiştir. Bunun için farklı konsantrasyonlarda hazırlanan ksiloz çözeltileri kullanılarak DNS yöntemi ile standart faktör hesaplanmış daha sonra XU/mL olarak ksilanaz aktivitesi hesaplanmıştır (Eşitlik 3.6 ve 3.7) kullanılarak

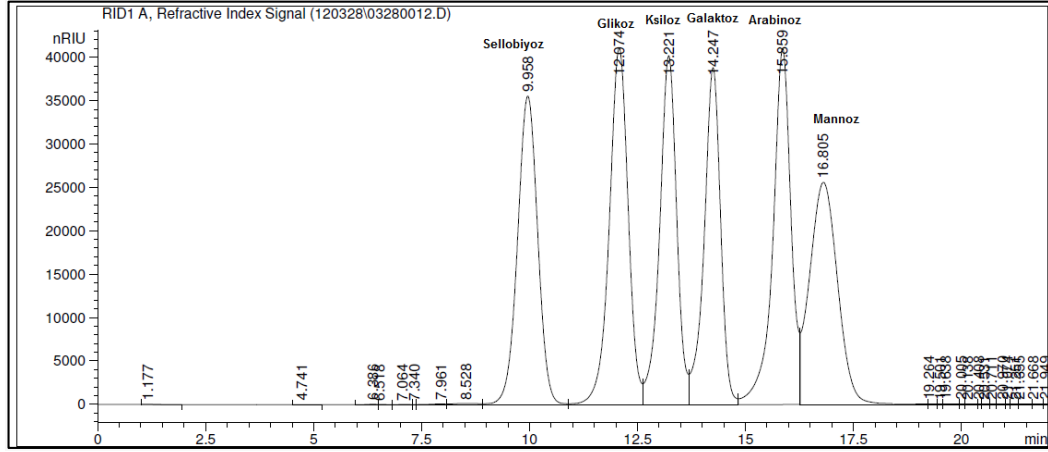
$$\text{Standart faktör} = \frac{\text{standart konsantrasyonu} \left( \frac{\text{mg}}{\text{ml}} \right) \times 1000}{\text{absorbans} \times 30 \times 150} \quad (3.6)$$

$$\text{Ksilanaz aktivitesi (XU/mL)} = \text{Absorbans} \times \text{Standart faktör} \quad (3.7)$$

#### **3.2.2.6 Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (YBSK) yöntemi ile monomerik şeker miktarlarının belirlenmesi**

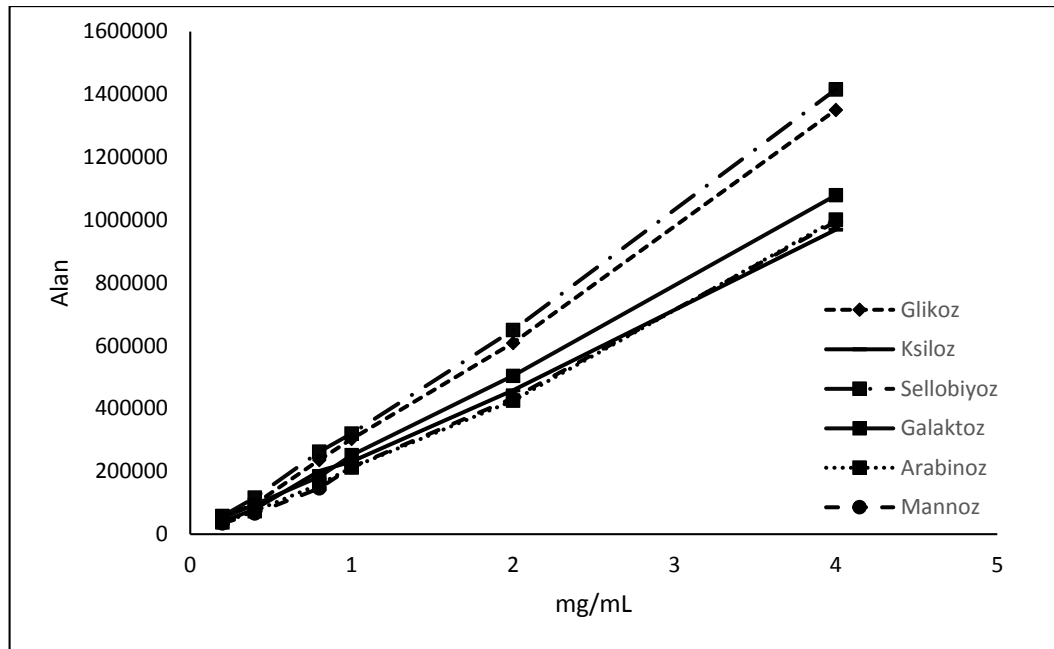
Monomerik şeker bileşiklerinin Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi yöntemi ile miktarlarının belirlenmesi çalışmalarında dörtlü pompa, refraktif indeks dedektör, otomatik enjeksiyon ünitesi ve kolon fırınından oluşan Agilent 1100 serisi YBSK sistemi kullanılmıştır. Ayırımlar 80°C de Aminex HPX 87P kolonda (Biorad, Hercules/USA) gerçekleştirilmiştir. Hareketli faz olarak 0,6 mL/dak akış hızında saf su kullanılmıştır. Miktar tayinleri ticari olarak sağlanan standart monomerik ve dimerik şeker (glikoz, sellobiyoz, ksiloz, mannoz, arabinoz, galaktoz) kalibrasyon doğruları kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Örnekler kolona verilmeden önce Nylon membran (40µm) filtrelerden süzölmüş ve iki enjeksiyonun ortalama değerleri kullanılarak miktar tayinleri gerçekleştirilmiştir. Örneklerin kromatogramından alınan piklere ait bileşikler, standart bileşiklerin alıkonma zamanları (tR) ile karşılaştırılarak belirlenmiştir. Standart şeker bileşiklerine ait

örnek bir kromatogram Şekil 3.2’de gösterilmiştir. Monomerik şekerlere ait kalibrasyon doğruları Şekil 3.3-3,8’de ve kalibrasyon doğrularının denklemleri de Çizelge 3.1 de verilmiştir (Sluiter ve ark. 2006).



Şekil 3.2. Standart şeker bileşiklerinin YBSK ile ayrılması

YBSK ile glikoz, ksiloz, sellobiyoz, galaktoz, arabinoz ve mannoz miktarları saf çözeltiler kullanılarak hazırlanmış ve mg/ml çözelti-alan kalibrasyon grafikleri kullanılarak miktarlara geçilmiştir.



Şekil 3.3. YBSK analizi sonucu standart şeker bileşiklerinin kalibrasyon doğruları

**Çizelge 3.1.** YBSK analizi sonucu standart şeker bileşiklerinin kalibrasyon doğrularının denklemleri

Şeker	Denklem	r <sup>2</sup>
Glikoz	y = 338581x - 27611	0,9974
Ksiloz	y = 242509x - 8058,1	0,9988
Sellobiyoz	y = 327735x - 5896,6	0,9983
Galaktoz	y = 272071x - 20228	0,9986
Arabinoz	y = 254014x - 37543	0,9950
Mannoz	y = 254606x - 41721	0,9963

### 3.2.2.7 Lignin, selüloz ve hemiselüloz mikratlarının belirlenmesi

Lignin tayini için, analizi yapılacak hammaddeden 300 mg (m<sub>0</sub>) tartılarak erlenlere konulmuş, üzerine 3 mL %72' lik sülfürik asit eklenmiş ve 1 dakika karıştırılmıştır. 30°C'de, 60 dak çalkalamalı su banyosunda karıştırılan örneklerdeki H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> konsantrasyonu daha sonra 84 mL saf su ile %4 oluncaya kadar seyreltilmiştir ve 121°C'de otoklavda 60 dakika hidroliz işlemine devam edilmiştir. Otoklav işleminden sonra, erlenlerin ağzı açılmadan önce oda sıcaklığına gelmeleri beklenmiş ve daha sonra kaba filtre kağıdından geçirilerek süzölmüştür. Filtre kağıdında kalan katı su ile yıkandıktan sonra 105°C'de etüvde kurutulup ardından tekrar tartılmıştır (m<sub>1</sub>). Kurutulmuş örnek daha sonra 600°C Nabertherm marka kül fırınında 24 saat yakılarak ve krozede kalan kül tartılıp kaydedilmiştir (m<sub>2</sub>). Lignin miktarı kuru baz üzerinden Eşitlik 3.8 kullanılarak hesaplanmıştır (Slutier ve ark., 2008b).

$$\text{Lignin miktarı (\%)} = \frac{m_1 - m_2}{m_0} \times 100 \quad (3.8)$$

Lignin tayininde filtre kağıdından ayrılan süzüntü biyoküttelede bulunan selüloz ve hemiselülozun konsantre asit ile hidroliz ürünleri olan monomerik şekerleri içermektedir. Bu sıvıda bulunan ve Bölüm 3.2.9’da verilen YBSK yöntemi ile belirlenen glikoz ve sellobiyoz miktarlarından biyoküttelede bulunan selüloz (Eşitlik 3.9); ksiloz, arabinoz, mannoz ve galaktozun miktarlarının toplamı üzerinden ise katıda bulunan hemiselüloz miktarları (Eşitlik 3.10) hesaplanmıştır (Slutier ve ark., 2008b).

$$\text{Selüloz miktarı (\%)} = \frac{(\text{glikoz} + \text{sellobiyoz})(g)}{0,3 \text{ g}} \times 0,90 \times 100 \quad (3.9)$$

$$\text{Hemiselüloz miktarı (\%)} = \frac{(\text{ksiloz} + \text{arabinoz} + \text{mannoz} + \text{galaktoz})(g)}{0,3 \text{ g}} \times 0,88 \times 100 \quad (3.10)$$

### 3.2.3 Hammaddeye uygulanan kimyasal, fizikokimyasal ve biyolojik ön işlemler

Biyokütlenin selülozca zenginleştirilmesi ve lignoselüloz yapısının enzimatik hidroliz için bozundurulması için, fındık kabuklarına asit, alkali (düşük sıcaklık düşük zaman, düşük sıcaklık uzun zaman, yüksek sıcaklık), buhar, sıcak su, hidrojen peroksit, organik çözücülerle, biyolojik ve iyonik sıvılarla ön işlem uygulanmıştır. Bu işlemler için ortalama parçacık boyutu 0,519 mm olan fındık kabukları kullanılmıştır.

Düşük sıcaklık ön işlemleri ağzı kapaklı şişelerde su banyosunda gerçekleştirilmiştir. Yüksek sıcaklık ön işlemleri ise yüksek sıcaklık ve yüksek basınca dayanıklı paslanmaz çelik (PARR, USA) reaktörde gerçekleştirilmiştir. Su buharı uygulamaları dışındaki ön işlemlerde kullanılan çözücüler sıvı halde tutulmuş ve bu işlem için ise reaktöre azot gazı ile basınç uygulanmıştır. Yüksek sıcaklıkta uygulanan ön işlemlerde çözelti çalışma sıcaklığına geldikten sonra ön işlem zamanı kadar bekletilmiştir, daha sonra ısıtıcı kapatılarak reaktör soğutulmaya bırakılmıştır. İyonik sıvı ön işlemleri ağzı kapaklı şişelerde otoklav içerisinde gerçekleştirilmiştir. Ön işlem uygulanan fındık kabukları otoklavdan

çıkartıldıktan sonra manyetik karıştırıcı üzerinde karıştırılarak üzerine saf su eklemiş ve iyonik sıvıların çözdüğü selülozun çökmesi sağlanmıştır. Ön işlem sonrasında katı madde süzülüp süzüntü daha sonra rejenere edilip tekrar kullanılmak üzere saklanmıştır.

Bütün ön işlemler sonrasında, hammadde filtre kağıdıyla süzülüp saf su ile nötrleştirildikten sonra havada yaklaşık %50 neme kadar kurutulmuş ve plastik torbalara konularak enzimatik hidroliz deneyleri için buzdolabında saklanmıştır. Ön işlem sonrası hammaddedeki selüloz, hemiselüloz ve lignin miktarları belirlenmiş ve Eşitlik 3.11, 3.12, 3.13 kullanılarak yüzde selüloz kazanımı, lignin giderimi ve hemiselüloz giderimi hesaplanmıştır.

$$\text{Selüloz Kazanımı (\%)} = \frac{\text{katıda kalan Selüloz}}{\text{başlangıçtaki katıda bulunan Selüloz miktarı}} \times 100 \quad (3.11)$$

$$\text{Hemiselüloz Giderimi (\%)} = \frac{\text{Başlangıçtaki Hemiselüloz} - \text{katıda kalan Hemiselüloz}}{\text{başlangıçtaki katıda bulunan Hemiselüloz miktarı}} \times 100 \quad (3.12)$$

$$\text{Lignin Giderimi (\%)} = \frac{\text{Başlangıçtaki Lignin} - \text{katıda kalan Lignin}}{\text{başlangıçdaki katıda bulunan Lignin miktarı}} \times 100 \quad (3.13)$$

### 3.2.3.1 Asit ön işlemleri

#### Düşük sıcaklık ön işlemleri

Düşük sıcaklık asit ön işlemlerinde farklı asit çeşitlerinin enzimatik hidroliz işlemleri üzerine etkisi incelenmiştir. Bu işlemler H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, HNO<sub>3</sub> ve CH<sub>3</sub>COOH asitlerinin farklı derişimlerinde (%0,4-1,0-2,0 (h/h)) 90°C de, 1/10 katı sıvı oranında ve 30 dakika boyunca su banyosunda gerçekleştirilmiştir.

### **Yüksek sıcaklık ön işlemleri**

Yüksek sıcaklık asit ön işlemleri sabit katı sıvı oranında (1/10), farklı derişimlerdeki (%0,5-1,0-1,5 h/h) H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ile farklı sıcaklıklarda ile (120-160-200 °C) ve farklı reaksiyon zamanlarında (1-10-30 dak), PARR reaktörde teflon liner içerisinde gerçekleştirilmiştir.

#### **3.2.3.2 Su buharı ön işlemleri**

Öğütölmüş fındık kabuğuna PARR reaktörde, 120-150-200 °C de su buharı ile ön işlem uygulanmıştır. Çalışmada katı/sıvı oranının (1/5, 1/10, ve 1/20) ve reaksiyon süresinin (15-30-60 dak) hammaddenin kimyasal yapısı ve enzimatik hidrolizi üzerine etkisi incelenmiştir.

#### **3.2.3.3 Alkali ön işlemler**

##### **Düşük sıcaklık kısa zaman alkali ön işlemleri**

Çalışmalarda öncelikle öğütölmüş fındık kabuğuna sabit alkali konsantrasyonunda (%2,25 a/h), farklı alkalilerle (Ca(OH)<sub>2</sub>, CaO ve NaOH) 60°C’de, 1/10 katı/sıvı oranında ve 30 dak reaksiyon zamanında ön işlemler gerçekleştirilmiştir.

##### **Düşük sıcaklık kısa zaman NaOH ön işlemleri**

Çalışmalara daha sonra NaOH ile devam edilmiştir. NaOH miktarının (%0,5-2,25-4,0 (a/h)), ön işlem zamanının (30, 60 ve 120 dak), sıcaklığın (30-60-90 °C) ve katı sıvı oranının (1/10-1/20-1/40) ön işlem görmüş hammadde karakterizasyonuna ve enzimatik hidroliz üzerine etkileri incelenmiştir.

### **Düşük sıcaklık uzun zaman NaOH ön işlemleri**

Düşük sıcaklık uzun zaman NaOH ön işlemleri, %2-4-6-8-10 (a/h) çözelti derişimlerinde, 30 °C de, farklı katı sıvı oranlarında (1/5-1/10-1/20-1/40) ve ön işlem zamanlarında (1-2-3-4 gün) gerçekleştirilmiştir. Daha sonra seçilen en uygun koşullarda (%6 (a/h) NaOH konsantrasyonu, 3 gün, 1/10 katı sıvı oranı) sıcaklık 60 ve 90 °C'ye arttırılmış ve sıcaklığın etkisine de bakılmıştır.

### **Yüksek sıcaklık NaOH ön işlemleri**

Yüksek sıcaklık NaOH ön işlemleri, sabit katı sıvı oranında (1/10), farklı NaOH derişimlerinde (%0,5-2,25-4,0 g/ml ) derişimlerinde farklı sıcaklıklarda (120-150-180°C de) ve ön işlem zamanlarında (30-60-90 dak) PARR reaktörde teflon liner içerisinde gerçekleştirilmiştir.

#### **3.2.3.4 Hidrojen peroksit ön işlemleri**

Hidrojen peroksit ön işlemi için %2 (a/h) lik NaOH çözeltisi içerisinde % 2 ve %4 (v/v) lük hidrojen peroksit çözeltileri kullanılmıştır. Bu işlemler 1/10 katı sıvı oranında farklı sıcaklıklarda (30-60-90°C) ve zamanlarda (6-24-48 sa) gerçekleştirilmiştir.

#### **3.2.3.5 Amonyum hidroksit ön işlemleri**

Amonyum hidroksit ön işlemi için %3-15-26 (v/v) konsantrasyonlarındaki amonyum hidroksit çözeltileri kullanılmıştır. Öğütülmüş fındık kabuğuna uygulanan ön işlemler 1/10 katı/sıvı oranında 30-60-90 °C de, 1-2-3 gün boyunca su banyosunda gerçekleştirilmiştir.

#### **3.2.3.6 İyonik sıvılarla ön işlemleri**

İyonik sıvı ön işlemi için [EMIM]Ac [EMIM]DEP [EMIM]Cl kullanılmıştır. Öğütülmüş fındık kabuğuna uygulanan ön işlem iki farklı katı/sıvı



oranında (1/10 ve 1/20), 30-60-120 dakika boyunca 120 °C de otoklavda (Alp, Tokyo/Japonya) gerçekleştirilmiştir.

### 3.2.3.7 Organosolv ön işlemleri

Organosolv ön işlemleri için etanolamin, dietilen glikol ve etilen glikol, %50 etanol çözeltisi içerisinde %0,5-2,25-4,0 (a/h) çözelti derişimlerindeki NaOH ve %0,4-1,0 (h/h) H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> çözeltileri kullanılmıştır. Öğütülmüş (ortalama partikül boyutu 0,519 mm) fındık kabuğuna uygulanan ön işlem 120-150°C de, 1/10 katı sıvı oranında, 30-60 dakika boyunca paslanmaz çelik PARR reaktörde teflon liner içerisinde gerçekleştirilmiştir.

### 3.2.3.8 Biyolojik ön işlemler

Funguslarla fındık kabuğuna uygulanan ön işlemler Anadolu üniversitesi fen fakültesi biyoloji bölümünde gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmalarda *Pleurotus sajor-caju*, *Trametes versicolor*, *Phanerochaete chrysosporium*, *Pleurotus ostreatus* fungusları kullanılmıştır.

Potato dextrose agar (PDA) ortamında 28 °C geliştirilen 7 günlük küf kolonilerinden 6 mm çapında kesilerek çıkartılmış agar diski, Çizelge 3.2 de bileşimi verilmiş olan 100 mL lik besiyeri ortamlarına inokule edilmiştir.

Çizelge 3.2. Ön işlem için kullanılan besiyeri bileşimi

(NH <sub>4</sub> )SO <sub>4</sub>	0,10g
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0,10g
MgSO <sub>4</sub> -7H <sub>2</sub> O	0,02 g
Fındık kabuğu	5,00g
Distile su	100ml

Besiyeri içeriği uygun hacimde distile suda çözüldükten sonra, otoklavda (121°C sıcaklıkta 1.1 atm) 15 dak sterilize edilmiştir. İnokulasyon sonrasında erlenler 30 °C 125 rpm'de 7 gün inkübe edilmiştir ve deneylerde her bir fungus türü

için agar disk sayısının (5-10 disk) ön işlem görmüş fındık kabuğunun kimyasal bileşimi ve enzimatik hidroliz üzerine etkisi incelenmiştir.

### 3.2.3.9 Yüksek sıcaklık NaOH ön işlemlerinin cevap yüzey yöntemi ile optimizasyonu

Yüksek sıcaklık NaOH ön işlem parametrelerinin cevap yüzey yöntemi ile optimizasyonu deneylerinde 27 deneysel noktadan üç tekrarlı 4 değişkenden oluşan tümleşik istatistiksel tasarım (Central Composite Rotatable Design) kullanılmıştır. Yöntemi kullanılmıştır. İncelenen sıcaklık (°C) ( $X_1$ ), zaman (dakika) ( $X_2$ ), sıvı katı oranı (mL/g) ( $X_3$ ) ve NaOH miktarı (g /mL) ( $X_4$ ) parametrelerinin seviyeleri Çizelge 3.3. de, bağımsız değişkenlerin istatistiksel kombinasyonu ise Çizelge 3.4. de gösterilmiştir.

Cevap (Y) değerini belirlemek için önerilen ikinci derece polinom model eşitliği Eşitlik 3.14'de gösterilmiştir.

$$Y = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_3 X_3 + \beta_4 X_4 + \beta_{11} X_1^2 + \beta_{22} X_2^2 + \beta_{33} X_3^2 + \beta_{44} X_4^2 + \beta_{12} X_1 X_2 + \beta_{13} X_1 X_3 + \beta_{14} X_1 X_4 + \beta_{23} X_2 X_3 + \beta_{24} X_2 X_4 + \beta_{34} X_3 X_4 \quad (3.14)$$

Verilerin istatistiksel olarak modele uygunluk analizleri %95 güven aralığında ANOVA testi ile Minitab 16 istatistik programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

**Çizelge 3.3.** Yüksek sıcaklık NaOH ön işleminde incelenen parametreler ve seviyeler

Faktörler	Seviyeler		
	-1	0	1
$X_1$ : Sıcaklık (°C)	120	150	180
$X_2$ : Zaman (dakika)	30	45	60
$X_3$ : Sıvı katı oranı (mL/g)	10	15	20
$X_4$ : NaOH miktarı (g /mL)	1,5	2,75	4,0

**Çizelge 3.4.** Yüksek sıcaklık alkali ön işlem deneylerinin bağımsız değişkenlerin istatistiksel kombinasyonları

Sıcaklık (°C)	Zaman (dakika)	Sıvı/katı oranı (mL/g)	NaOH miktarı (g /mL)
120	30	10	1,50
150	45	15	2,75
120	30	20	4,00
180	30	10	4,00
90	45	15	2,75
180	60	10	4,00
120	60	10	1,50
210	45	15	2,75
180	30	10	1,50
150	45	25	2,75
120	30	20	1,50
150	45	15	2,75
180	30	20	1,50
120	60	20	4,00
180	60	10	1,50
150	75	15	2,75
120	60	20	1,50
120	30	10	4,00
180	60	20	4,00
150	45	5	2,75
150	15	15	2,75
150	45	15	5,25
120	60	10	4,00
180	60	20	1,50
180	30	20	4,00
150	45	15	0,25

### 3.2.4 Enzimatik hidroliz işlemleri

Selülozca zengin biyokütleden fermente şeker elde etmek için fındık kabuklarına enzimatik hidroliz işlemi uygulanmıştır. Enzimatik hidroliz deneyleri Sartorius marka çalkalamalı inkübatör içerisinde gerçekleştirilmiştir. Selülaz enzimi olarak Novozyme marka Celluclast 1,5L<sup>®</sup> kullanılmıştır. Selülaz enzimin aktivitesi Filtre Kağıdı Birimi (FPU) olarak belirlenmiştir (Bölüm 3.2.2.5). 1 FPU selüloz substrattan 50 °C sıcaklıkta, pH4,8’de ve bir dakikada 1 mg glikoz üreten enzim miktarı olarak tanımlanmaktadır. Beta-glikozidaz enzimi olarak da Novozyme 188 kullanılmıştır. Enzim aktivitesi Sellobiyoz birimi (CBU) olarak hesaplanmıştır (Bölüm 3.2.2.5). 1 CBU 1 mmol sellobiyoz substratın 50 °C ve pH 4,8’de bir dakika glikoza dönüşümüdür. Ksilanaz enzimi olarak X2753 SIGMA

(Xylanase from *Thermomyces lanuginosus*) enzimi kullanılmıştır. Toz enzim % 0,5 lik BSA (Bovine Serum Albümin) çözeltisi içerisinde çözülerek sıvı hale getirilmiştir. Ksilanaz aktivitesi ksilanaz birimi (XU) dakikada 1 mmol xylanın 1 mg ksiloza dönüştürülmesidir. İndirgen şeker miktarları DNS yöntemi ile spektrofotometrik yöntem ile Bölüm 3.2.2.4 de, monomerik şekerleri ise YBSK ile Bölüm 3.2.2.6 da belirtildiği şekilde belirlenmiştir. Eşitlik 3.15, 3.16, 3.17 deki gibi sırasıyla glikoz kazanımı, sakkarifikasyon ve selüloz hidrolizi hesaplanmıştır.

$$\text{Glikoz kazanımı (\%)} = \frac{\text{elde edilen glikoz}}{\text{ön işlem uygulanmamış katıdaki selüloz miktarı}} \times 0,90 \times 100 \quad (3.15)$$

$$\text{Sakkarifikasyon (\%)} = \frac{\text{elde edilen indirgen şeker}}{\text{selüloz+hemiselüloz}} \times 0,90 \times 100 \quad (3.16)$$

$$\text{Selüloz hidrolizi(\%)} = \frac{\text{elde edilen glikoz}}{\text{selüloz}} \times 0,90 \times 100 \quad (3.17)$$

#### **3.2.4.1 Alkali ön işlem uygulanmış fındık kabuğuna selülaz ve beta-glikozidaz enzim miktar belirlenmesi**

Alkali (60°C sıcaklıkta, %2,25 NaOH ile 30 dakika) ön işlem uygulanmış fındık kabuğunun enzimatik hidroliz işlemlerinde selülaz enzimi 30, 60, 90 FPU/g kuru hammadde olarak, β-glikozidaz enzimi ise 20, 40 CBU/ g kuru hammadde olarak selülaz enzimine ilave edilmiş ve katı sıvı oranı 1/5 1/10-1/20 olacak şekilde gerçekleştirilmiştir. Tüm deneylerde 3, 6, 12, 24, 36, 48, 72 saatte bir numune alınmış ve hidroliz ürünleri olan şekerler DNS yöntemi ile belirlenmiştir. Tüm deneyler 50 °C sıcaklıkta, pH4,8'de, 100 rpm karıştırma hızında gerçekleştirilmiştir.

#### **3.2.4.2 Farklı ön işlemlere uygulanan enzimatik hidroliz**

Ön işlem uygulanmış fındık kabuğunun enzimatik hidroliz işlemlerinde 60 FPU/g (kuru hammadde) selülaz enzimi ve 40-CBU/g (kuru hammadde) β-glikozidaz enzimi karışımı kullanılmış ve katı sıvı oranı 1/20 olacak şekilde sabit

tutulmuştur. Tüm deneyler 50 °C sıcaklıkta, pH4,8’de, 100 rpm karıştırma hızında, 48 saat boyunca gerçekleştirilmiştir.

### 3.2.4.3 En uygun ön işleme uygulanan enzimatik hidroliz

Optimum ön işlem seçildikten sonra bu ön işlem ile elde edilebilecek maksimum şeker çözeltisi için farklı enzim bileşimlerinin optimizasyonu gerçekleştirilmiştir. Ön işlem uygulanmış fındık kabuğunun enzimatik hidroliz işlemlerinde Selülaz enzimi 30-60-90-150 FPU/g kuru hammadde olarak, Beta-glikozidaz enzimi ise 10-20-40 CBU/ g kuru hammadde ksilanaz enzimi ise 0,15-0,30-0,45 XU/g kuru hammadde olarak ilave edilmiş ve katı sıvı oranı 1/20 olacak şekilde gerçekleştirilmiştir. Tüm deneyler 50 °C sıcaklıkta, pH4,8’de, 100 rpm karıştırma hızında, 48 saat boyunca gerçekleştirilmiştir.

### 3.3. Alkali Ön İşlem Uygulanmış Fındık Kabuklarının Enzimatik Hidroliz Verilerinin Michaelis-Menten Kinetik Modeli

Michaelis-Menten kinetik modeli (Eşitlik 3.18) sabit enzim derişiminde farklı substrat yüzdelerinde ve sabit substrat yüzdesinde farklı enzim derişimleri kullanılarak ayrı ayrı hesaplanmıştır. Her bir substrat miktarında başlangıç hızları, indirgen şeker miktarlarının zamana karşı grafiklerinden ilk 30 dakikada elde edilen veriler dikkate alınarak hesaplanmıştır. Maksimum reaksiyon hızı ( $\vartheta_{max}$ ) ve yarı doygunluk sabitinin ( $K_m$ ) değerleri Michaelis-Menten kinetik modelinin doğrusallaştırılmış hali olan Langmuir izotermi (Eşitlik 3.19) kullanılarak ve direkt olarak lineer olmayan (Eşitlik 3.18) eşitliğin Microsoft Excel çözümleyicisi ile analiz edilerek belirlenmiştir.

$$V_o = \frac{\vartheta_{max}[So]}{K_{m+}[So]} \quad (3.18)$$

$$\frac{So}{V_o} = \frac{K_m}{\vartheta_{max}} + \frac{So}{\vartheta_{max}} \quad (3.19)$$

$S_0/V_0$ 'a karşı  $S_0$  grafiği çizildiğinde elde edilen doğrunun eğimi  $1/ \vartheta_{max}$ , kesim noktası ise  $K_m/ \vartheta_{max}$  dır. Lineer grafikten elde edilen veriler ile maksimum hız ( $\vartheta_{max}$ ) ve yarı doygunluk sabiti ( $K_m$ ) hesaplanmıştır.

Deneysel sonuçlardan elde edilen  $\vartheta_{max}$  ve  $K_m$  değerleri ile başlangıç hızları hesaplanmıştır. Hesaplanan başlangıç hızları ile deneysel başlangıç hızları arasındaki farklar ortalama mutlak sapma (OMS) olarak hesaplanmıştır (Eşitlik 3.20).

$$OMS(\%) = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n \frac{V_{o\text{deneysel}} - V_{o\text{hesaplanan}}}{V_{o\text{deneysel}}} \quad (3.20)$$

Her bir deney sonucundan elde edilecek maksimum hız ( $\vartheta_{max}$ ) ve yarı doygunluk sabiti ( $K_m$ ) enzim miktarına ve substrat miktarına bağlı olarak hesaplanmış olup enzim ve substratın enzimatik hidrolizdeki etkisi gözlenmiştir.

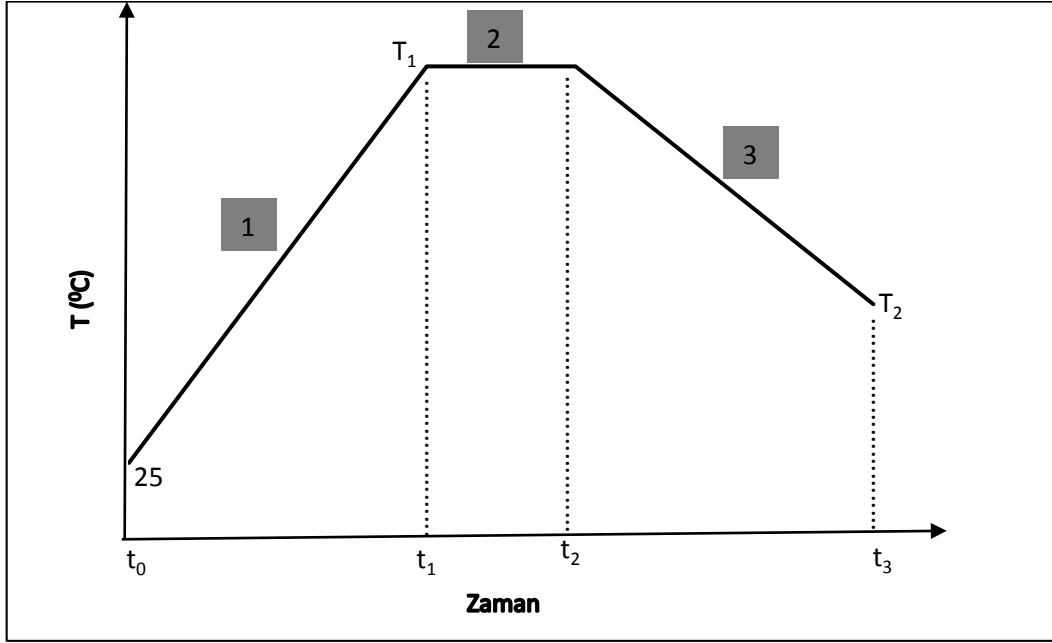
### 3.4 Uygulanan Ön İşlemlerde Kütle ve Enerji Dengesi

#### 3.4.1. Kütle dengesi

Biyokütleden fermente şeker eldesinin her basamağında kütle kayıpları gerçekleşebilir. Bundan dolayı toplam proses ekonomisinin değerlendirilmesi açısından kütle kayıpları son derece önemlidir. Bu çalışmada ön işlem uygulanmamış hammaddenin içeriği belirlendikten sonra ön işlem uygulanmış ve elde edilen katının miktarı ve lignin, selüloz, hemiselüloz içeriğine bağlı olarak ön işlem sıvısındaki kayıplar hesaplanmıştır. Ön işlem uygulanmış katının enzimatik olarak hidroliz edilmesi ile üründeki glikoz ve ksiloz miktarları belirlenmiş ve toplam proses etkinliği olarak hesap edilmiştir.

### 3.4.2. Enerji dengesi

Uygulanan ön işlemler sırasında kullanılan enerjinin belirlenmesi ve bu enerjinin üretilen birim ürün başına ne kadar olduğunu hesaplanması için ön işlemlerin enerji denklileri kurulmuştur. Şekil 3.4’de ön işlem uygulanan biyokütlenin sıcaklık profili verilmektedir.



Şekil 3.4. Ön işlem sürecinin sıcaklık profili

Kapalı sistem için net enerji denklği yazılacak olursa;

$$\Delta E = Q - W \quad (3.21)$$

Burada  $\Delta E$  sistemin iç enerjisindeki değişim,  $Q$  sisteme verilen enerji,  $W$  ise sistemin yaptığı iştir. Eşitlik 3.21, Şekil 3.4’deki üç bölüme için uygulandığında;

$$\Delta E = Q_1 + Q_2 + Q_3 \quad (3.22)$$

elde edilir.

Şekil 3.4’de gösterilen zaman (dak)-sıcaklık (°C) grafiğinde Bölüm 1 ısıtma sürecidir, Bölüm 3 ise soğuma evresidir, Bölüm 1 ve 2 de ayrıca hidroliz reaksiyonları gerçekleşir. Bölüm 3 için sisteme enerji verilmesine gerek yoktur. Bölüm ikide sıcaklığı sabit tutmak için sisteme verilen enerji ısı kayıplarından meydana gelen enerjidir. Burada sisteme karıştırma işi için enerji ilave edilmelidir. Böylece Eşitlik 3.22-yeniden düzenlendiğinde;

$$\Delta E = Q_{\text{ısıtma}} + Q_{\text{reaksiyon}} + Q_{\text{kayıp}} + Q_{\text{karıştırıcı}} \quad (3.23)$$

elde edilir.

Eşitlik 3.23’de  $Q_{\text{ısıtma}}$  terimini eşitlik 3.24’de ayrıntılı olarak yazabiliriz

$$Q_{\text{ısıtma}} = m_w \int_{T_0}^{T_H} C_{pw} dT + m_b \int_{T_0}^{T_H} C_{pb} dT + m_a C_{pa} (T_H - T_0) \quad (3.24)$$

Eşitlik 3.24 de  $C_p$  (Kj/kg °C) özgül ısı,  $m$  (kg) kütle,  $w$ ,  $b$  ve  $a$  sırasıyla su, biyokütle ve çözücüyü temsil etmektedir.  $T$  sıcaklık (olup  $T_H$  ön işlem sıcaklığı  $T_0$  ise çevre sıcaklığını (25 olarak kabul edilmiştir) °C cinsinden ifade etmektedir (Mafe ve ark. 2015).

Biyokütlenin özgül ısısı Kopp kuralına göre elementel analiz verileri esas alınarak teorik olarak belirlenmiştir (Felder ve Rousseau, 2008). Fındık kabuğunun özgül ısı hesabı aşağıda verilmektedir. İyonik sıvının da özgül ısısı kopp kuralına göre hesaplanırlar diğer maddelerin özgül ısıları <http://www.engineeringtoolbox.com/> adresinden alınmıştır (Anonim 2015).

$$C_{pb} = 0,3707 \times C_{pO} + 0,279 \times C_{pN} + 0,0451 \times C_{pH} + 0,4880 \times C_{pC} + 0,0032 \times C_{ps} \quad (3.25)$$

Burada;  $C_{pO} = 17 \text{ J/g } ^\circ\text{C}$ ,  $C_{pN} = 26 \text{ J/g } ^\circ\text{C}$ ,  $C_{pH} = 9,6 \text{ J/g } ^\circ\text{C}$ ,  $C_{pC} = 7,5 \text{ J/g } ^\circ\text{C}$ ,  $C_{ps} = 26 \text{ J/g } ^\circ\text{C}$ .

$C_{pb} = 17,73 \text{ kJ/kg } ^\circ\text{C}$  olarak kullanılmıştır.



### 3.4.2.1 Reaksiyon enerjilerinin hesaplanması

Reaksiyon ısılarının hesaplanmasında Eşitlik 3.26 kullanılmıştır.

$$Q_{reaksiyon} = \sum_{n=1}^{\infty} (m_b \times C_r \times X_r \times \Delta H_f / M_w) \quad (3.26)$$

Eşitlik 3.26’de  $C_r$  ve  $X_r$  sırasıyla reaksiyona giren maddelerin bileşimi ve dönüşüm oranlarıdır.  $M_w$  ise reaksiyona giren maddelerin molekül ağırlıklarıdır.  $\Delta H_f$  ise her bir reaksiyonun oluşum entalpisi olup Çizelge 3.5’de verilmiştir. Çizelge 3.5’de ön işlemler ve enzimatik hidroliz sırasında gerçekleşebilen reaksiyonların oluşum entalpileri verilmiştir. Ancak bu çalışmada reaksiyon entalpileri hesaplanırken sadece glukanın glikoza ve ksilanın ksiloza dönüşüm reaksiyonları dikkate alınmıştır.

**Çizelge 3.5** Ön işlem reaksiyonlarının oluşum entalpileri (Mafe ve ark. 2015).

Reaksiyon	Oluşum Entalpisi (cal/mol)
$(\text{Glukan})_n + n \text{H}_2\text{O} \rightarrow n \text{Glikoz}$	1004
$(\text{Ksilan})_n + n \text{H}_2\text{O} \rightarrow n \text{Ksiloz}$	892
$(\text{Glukan})_n \rightarrow n \text{HMF} + 2n \text{H}_2\text{O}$	-2941
$(\text{Ksilan})_n \rightarrow n \text{Furfural} + 2n \text{H}_2\text{O}$	-2102
Asetat $\rightarrow$ Asetik Asit	26
$(\text{Lignin})_n \rightarrow n \text{Çözünür Lignin}$	0
$(\text{Arabinan})_n + n \text{H}_2\text{O} \rightarrow n \text{Arabinoz}$	892
$(\text{Arabinan})_n \rightarrow n \text{Furfural} + 2n \text{H}_2\text{O}$	-2102
$(\text{Mannan})_n + n \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{Mannoz}$	1004
$(\text{Mannan})_n \rightarrow n \text{Furfural} + 2n \text{H}_2\text{O}$	-2941
$(\text{Galaktan})_n + n \text{H}_2\text{O} \rightarrow n \text{Galaktoz}$	1004
$(\text{Galaktan})_n \rightarrow n \text{Furfural} + 2n \text{H}_2\text{O}$	-2941

### 3.4.2.2 Karıştırma işinin hesaplanması

Karıştırıcının yapmış olduğu iş Eşitlik 3.27'ye göre hesaplanmıştır.

$$Q_{\text{karıştırıcı}} = P_i t \quad (3.27)$$

Eşitlik 3.27'de  $P_i$  Mekanik güç,  $t$  ise dakika saniye cinsinden zamandır. Mekanik güç ( $P_i$ ), güç numarasının ( $P_0$ ) dönüştürülmesi ile hesaplanmıştır. Türbin/karıştırıcı tarafından akışkana verilen güç Eşitlik 3.28'ye göre hesaplanmıştır (Vani ve ark. 2012);

$$P_0 = P_i / \rho N^3 D^5 \quad (3.28)$$

Burada  $P_0$  güç numarası  $N$  karıştırıcının dönüş hızı  $D$  karıştırıcı çapı,  $\rho$  ise akışkan yoğunluğudur.  $P_i$  yi hesaplamak için  $P_0$ 'ı hesaplamaya ihtiyaç vardır.  $P_0$  sistemin geometrisine bağlıdır ve  $P_0$  Eşitlik 3.29'a göre şu şekilde ifade edilir (Vani ve ark. 2012):

$$P_0 = 1,507 (T/D)^{-0,365} (h/D)^{-0,165} (H/T)^{0,140} nb^{0,171} (\sin\alpha)^{2,077} \quad (3.29)$$

Bu eşitlik Reynolds sayısının  $10^4$  den büyük olduğu durumlarda geçerlidir. Bu eşitlikte  $nb$  karıştırıcının pervane sayısı,  $\alpha$  karıştırıcı pervane ile yüzey arasındaki açı,  $h$  karıştırıcı pervanesinin yüzeyden yüksekliği,  $T$  tank çapı,  $D$  karıştırıcı çapı,  $H$  tank yüksekliğidir (Vani ve ark. 2012).

### 3.4.2.3 Isı kayıpları

Ön işlem reaktörünü yalıtılmış silindirik bir reaktör olarak varsayıldığında, ön işlem süresinde sistemden kaybolacak enerjiyi bir borudan kaybolan enerji gibi düşünebilir ve Eşitlik 3.30'daki gibi ifade edilebilir;

$$Q_{\text{kayıp}} = UA\Delta T \quad (3.30)$$

Burada ısı kaybı silindirik reaktörün duvarlarından gerçekleştiği düşünüldüğünde, tüm ısı transfer katsayısı (U)

$$U=1/[(R_3/R_1 h_{in})+(r_2 \ln(R_2/R_1)k_{pipe})+(R_3 \ln R_3/R_2)/k_{insulation})+1/h_{out}] \quad (3.31)$$

olarak yazılabilir.

Eşitlik 3.31'in paydasındaki ilk iki terimin diğer iki terimden daha düşük olacağından bu iki terimin toplam ısı transfer katsayısını etkilemesi ihmal edilebilir. Böylece Eşitlik 3.31 sadeleştirilerek Eşitlik 3.32'e dönüştürülür.

$$U=1/[(R_3 \ln R_3/R_2)/k_{yaltım})+1/h_{out}] \quad (3.32)$$

Burada  $R_3$  reaktörün dış yarı çapı (iç yarı çap+et kalınlığı),  $R_2$  ise reaktörün iç yarı çapıdır.  $k_{yaltım}$  ise reaktörün imal edildiği termal iletkenliğidir.  $h_{out}$  ise dış çevrenin ısı transfer sabitidir. Dış transfer sabitini paslanmaz çelik reaktör için hava olarak aldığımızda bu değer çevre koşullarına bağlı olarak  $40-50 \text{ W/m}^2 \text{ } ^\circ\text{C}$  olarak değişeceğinden ortalama 45 olarak alınmıştır (Mafe ve ark. 2015).

Tüm bu Eşitliklerden  $\Delta E$  hesaplandıktan sonra elde ürün (glukoz) başına harcanan enerji miktarları  $Q$  spesifik Eşitlik 3.33'e göre hesaplanmıştır.

$$Q_{spesifik} = \frac{\Delta E}{\text{elde edilen glukoz miktarı}} \quad (3.33)$$

### **3.5 Ön İşlem Uygulanmış ve Ön İşlem Uygulanmamış Fındık Kabuklarının SEM Analizi**

Ön işlem görmüş ve ön işlem uygulanmamış haşhaş sapı örneklerinin SEM görüntüleri Anadolu Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Malzeme Mühendisliği Bölümü laboratuvarında bulunan EVO 50 marka taramalı elektron mikroskobu ile

görüntüleri alınmıştır. Görüntü alınmadan önce hammaddeler karbon bandı üzerine yerleştirilmiş ve AGAR marka kaplama cihazı ile altın ve paladyum kaplanmıştır.

### **3.6. Sonuçların Değerlendirilmesinde Kullanılan İstatistiksel Analizler**

Fındık kabuğuna uygulanan ön işlemlerin her basamağından paralel olarak ikişer numune alınmış, bu numunelerde yapılan analizlerin sonuçları tablolarda aksi belirtilmediği sürece üç deneyin ortalaması (toplam altı değer) değeri olarak verilmiştir. Yöntemlerin ve uygulanan proseslerin karşılaştırılmasında alınan veriler, Statgraphics 3.1 istatistik programı kullanılarak tekyönlü ANOVA testine tabi tutulmuş ve gruplar arasındaki farklılıkların anlamlılık testleri,  $\alpha=0.95$  güven aralığında en küçük anlamlı fark (Least Significant Differences) testi uygulanarak gerçekleştirilmiştir.

## **4. DENEYSEL BULGULAR**

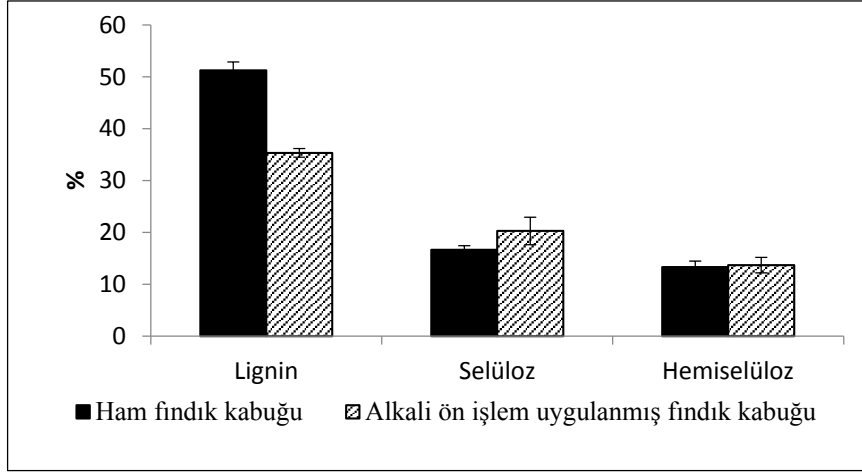
Deneysel çalışmalardan elde edilen sonuçlar bu bölümde verilmektedir.

### **4.1. Fındık Kabuğunun Lignoselülozik İçeriği**

Bu çalışmada kullanılan fındık kabuklarının içeriği kuru kütle üzerinden %16,67 selüloz, %13,30 hemiselüloz olarak bulunmuştur. Lignin %51,10 ile fındık kabuklarını oluşturan ana bileşendir. Fındık kabuğunun hemiselüloz kompozisyonunu ksiloz (%9,78), galaktoz (%2,97) ve arabinoz (%0,6) oluşturmaktadır. Kül ve ekstraktif içeriği sırasıyla %2,09 ve %5,10 dur.

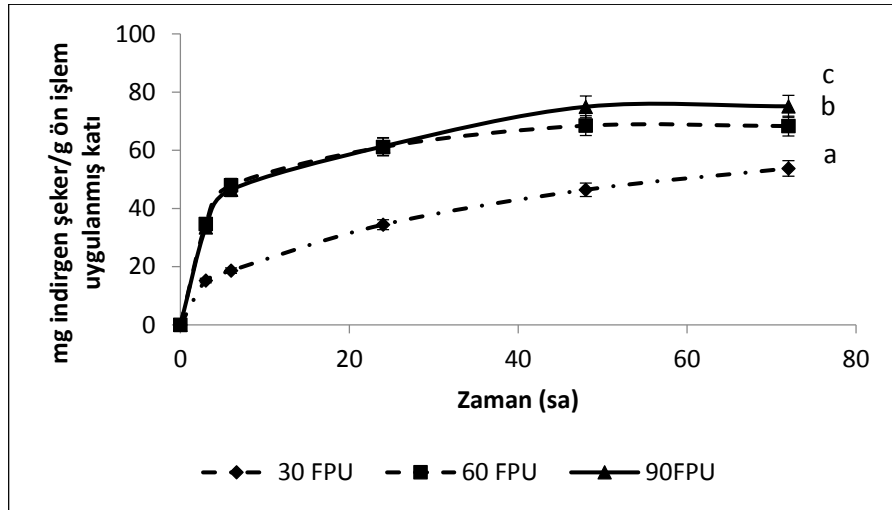
### **4.2. Ön İşlemlerde Kullanılan Enzim Belirlenmesi**

Çalışmada fındık kabuğuna uygulanan ön işlemlerinin selülozun şekerlere enzimatik hidrolizi üzerine etkisi incelendiği için, öncelikle enzimatik hidroliz koşullarının belirlenmesine yönelik çalışmalar yapılmıştır. Selülozun glikoza indirgenmesi işleminde, selülaz enziminin içermiş olduğu endo ve ekzo glukanazlar selülozu oligosakkaritlere ve sellobiyoza parçalarlar. Oluşan bu moleküllerin glikoza indirgenmesi ve hidroliz işleminin son basamağının gerçekleşmesi için beta-glikozidaz enzimlerine ihtiyaç vardır. Her ne kadar ticari selülaz enzimleri beta-glikozidaz enzimi içerselerde etkin bir enzimatik hidroliz için beta-glikozidaz enzimi ilavesine ihtiyaç vardır. Bu çalışmalar için Bölüm 3.2.4.1’de belirtildiği gibi selülaz ve beta-glikozidaz enzim karışımları kullanılmıştır. Hidroliz işlemi için 60°C sıcaklıkta %2,25 NaOH çözeltisi ile 30 dakika boyunca ön işlem uygulanan fındık kabukları kullanılmıştır ve bu işlem sonucunda kalan katı bileşimi Şekil 4.1’de verilmektedir.



**Şekil 4.1.** Ön işlem uygulanmamış ve alkali ön işlem uygulanmış fındık kabuklarının kimyasal bileşimi

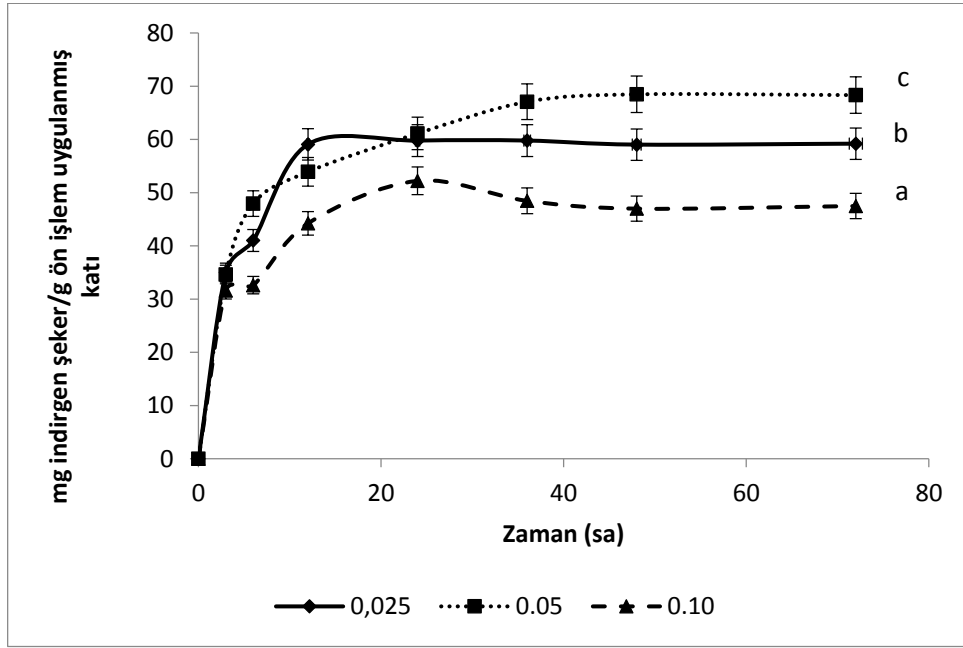
Şekil 4.1'e göre NaOH ön işlem sonucunda fındık kabuklarının içerdiği lignin miktarları %51,10 dan %35,35'e düşürülmüş selüloz miktarı ise %16,67 dan % 20,30'a arttırılmıştır. Şekil 4.2'de selülaz enzim miktarının ön işlem uygulanan fındık kabuklarına etkisi görülmektedir.



**Şekil 4.2.** %2,25 NaOH ile 60 °C de ön işlem uygulanmış fındık kabuklarının enzimatik hidroliz hızına selülaz miktarının etkisi (aynı parametrenin farklı etkilerindeki farklı harfler ortalama değerler arasında anlamlı bir ( $p < 0,05$ ) fark olduğunu gösterir)

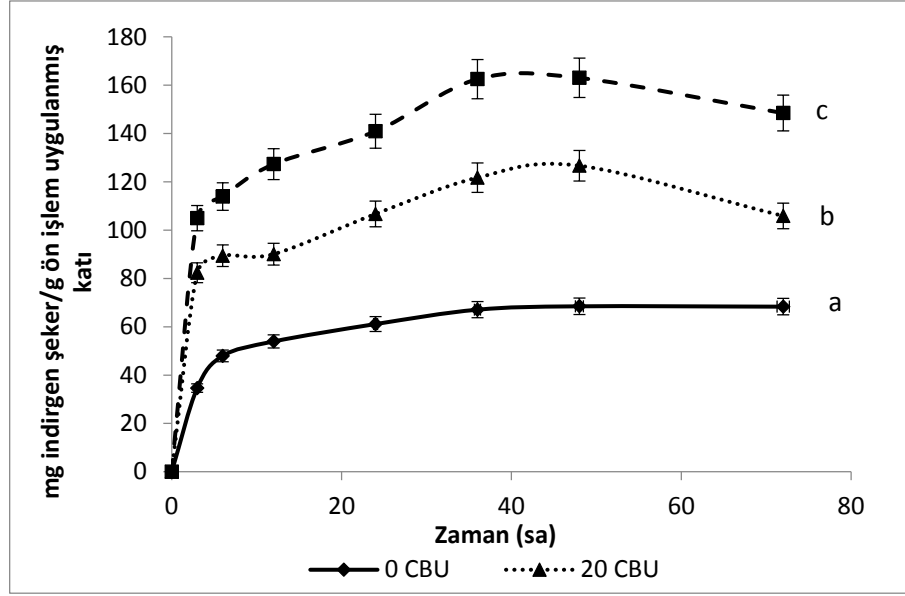
Selülaz enzim miktarı 30 FPU dan 60 FPU'ya arttırıldığında indirgen şeker miktarının anlamlı ( $p < 0,05$ ) bir şekilde arttığı görülmektedir. Şekil 4.2'ye göre

enzim miktarının 60 FPU'dan 90 FPU ya artırılması ile elde edilen indirgen şeker miktarının anlamlı ( $p<0,05$ ) bir şekilde artmasına rağmen artış miktarı %10 dan fazla değildir. Bu yüzden katı sıvı miktarı denemelerine her bir gram substrat miktarı başına 60 FPU selüloz enzimi ile devam edilmiştir. Şekil 4.3'de birim ön işlem görmüş katı başına kullanılacak 60 FPU/g selüloz enzim çözeltisi miktarının (ml) enzimatik hidrolize etkisi görülmektedir.



**Şekil 4.3.** %2,25 NaOH ile 60 °C de ön işlem uygulanmış fındık kabuklarının enzimatik hidroliz hızına katı/sıvı (g katı/ml 60 FPU enzim çözeltisi) miktarının etkisi (aynı parametrenin farklı etkilerindeki farklı harfler ortalama değerler arasında anlamlı bir ( $p<0,05$ ) fark olduğunu gösterir)

Ön işlem görmüş katı-selüloz enzim çözeltisi (60 FPU/g) oranı 0,025 g /ml çözeltiden 0,05'e artırılmasıyla enzimatik hidroliz veriminde anlamlı ( $p<0,05$ ) bir artış gözlemlenmektedir. Ancak katı sıvı oranı 0,1 g/ml'ye arttırıldığında hidroliz verimi ( $p<0,05$ ) azalmıştır. Buna göre 0,05 g substrat/ml 60 FPU/g selüloz enzimi oranı sabit tutulmuş ve bu oranda selüloz enzimi üzerine  $\beta$ -glikozidaz enzimi ilave edilmiştir. Şekil 4.4'de 60 FPU/g selüloz enzimi üzerine ilave  $\beta$ -glikozidaz enziminin enzimatik hidrolize etkisi görülmektedir.



**Şekil 4.4.** %2,25 NaOH ile 60°C de ön işlem görmüş fındık kabuklarının enzimatik hidroliz hızına 60 FPU/g selüloz enzimi üzerine  $\beta$ -Glikozidaz ilavesinin etkisi

$\beta$ -glikozidaz enzimi ilavesi enzimatik hidroliz üzerine olumlu bir etki yapmıştır. İlave edilen  $\beta$ -glikozidaz enzimi miktarı 40 CBU/g kuru biyokütle ye artırıldığı zaman en yüksek indirgen şeker miktarı 48 saat hidroliz sonucunda elde edilmiştir (163,01mg/g). Bu çalışmada da toplam indirgen şeker miktarı 40 CBU/g kuru biyokütle  $\beta$ -glikozidaz enzimi ilavesi ile yaklaşık olarak 2,5 kat artmıştır.

Sonuç olarak farklı ön işlemlerin enzimatik hidroliz üzerine etkisi çalışmalarında, 0,05 g ön işlem uygulanmış katı başına bir ml enzim karışımı (60 FPU selüloz + 40 CBU  $\beta$ -glikozidaz ) kullanılarak devam edilmiştir.

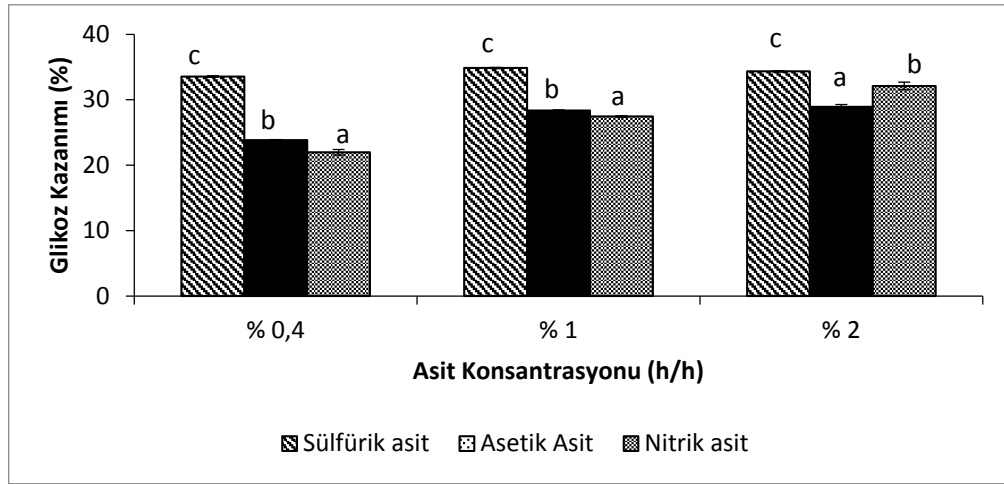
#### 4.3 Farklı Asitler ile Yapılan Ön İşlemlerinin Fındık Kabuğunun Bileşimi ve Enzimatik Hidrolizi Üzerine Etkisi

Bu bölümde Bölüm 3.2.3.1 de belirtilen şartlarda asit ön işlemlerinde kullanılan asitlerin ( $H_2SO_4$ ,  $HNO_3$  ve  $CH_3COOH$ ), ön işlem görmüş hammaddenin kimyasal kompozisyonuna ve enzimatik hidrolizi üzerine etkileri incelenmiştir. Enzimatik hidroliz sonuçları hidroliz verimi, sakkarifikasyon ve glikoz kazanımı (g glikoz/100 g ön işlem görmemiş hammaddedeki selüloz) üzerinden değerlendirilmiştir.



#### 4.3.1. Farklı asitler ile yapılan ön işlemlerinin fındık kabuğunun enzimatik hidrolizi üzerine etkisi

Şekil 4.5’de kullanılan asitlerin farklı konsantrasyonda glikoz kazanımı üzerine etkisi verilmiştir.

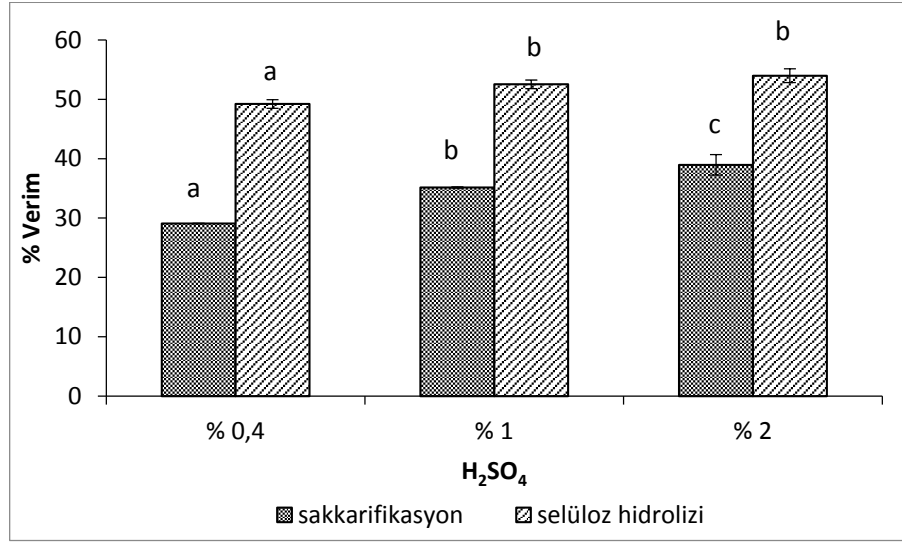


**Şekil 4.5.** Farklı asitler ile 1/10 katı/sıvı oranında, 90°C sıcaklıkta 30 dakika ön işlem uygulanmış fındık kabuklarının enzimatik hidrolizi sonucunda elde edilen glikoz kazanımına asit çeşidi ve derişimlerinin etkisi (aynı parametrenin farklı etkilerindeki farklı harfler ortalama değerler arasında anlamlı bir ( $p<0,05$ ) fark olduğunu göstermektedir)

Farklı asit ön işlemlerine göre en yüksek glikoz kazanımı sülfürik asit çözeltisi ile yapılan ön işlemler sonucunda elde edilmiştir (%34,87). Asetik asit çözeltisi için derişim %1’den %2 ye arttırıldığında glikoz kazanımının azaldığı görülmektedir. % 1 asetik asit çözeltisi ile elde edilen glikoz kazanım miktarı % 28,36’dır. HNO<sub>3</sub> için ise derişimin etkili olduğu görülmektedir. %2 (h/h) HNO<sub>3</sub> çözeltisi ile uygulanan ön işlem sonucunda elde edilen glikoz kazanım miktarı % 32,11’ dir (Şekil 4.5). Asetik asit ve HNO<sub>3</sub> çözeltileri yerine sülfürik asit (tüm asit derişimlerinde % 0,4-1,0-2,0) kullanıldığında elde edilen glikoz kazanımının anlamlı ( $p<0,05$ ) olarak arttığı gözlemlenmiştir. Bunun sebebi asetik asit ve HNO<sub>3</sub> ön işlemlerinin fındık kabuklarında bulunan hemiselülozu yeterince giderememesi ve selüloz enziminin hemiselüloz bariyerini geçip selüloza ulaşamamasıdır. %2 (h/h) HNO<sub>3</sub> çözeltisiyle uygulanan ön işlem sonucunda hemiselüloz giderimi

yükselirken buna bağı olarak glikoz kazanımı nerdeyse sülfürik asit ile uygulanan ön işlemin miktarına ulaşmıştır.

Şekil 4.6'da sülfürik asit ön işleminin fındık kabuklarının enzimatik hidrolizi (sakkarifikasyon ve hidroliz verimi) etkisi görülmektedir.

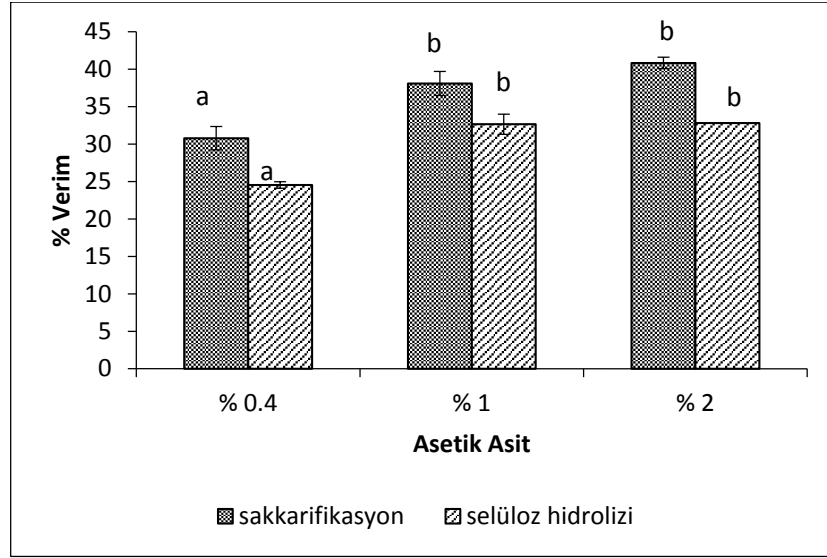


Şekil 4.6. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> derişiminin (90<sup>0</sup>C, 1/10 katı/sıvı, 30 dak) ön işlem uygulanmış fındık kabuklarının sakkarifikasyon ve selüloz hidrolizine asit derişiminin etkisi

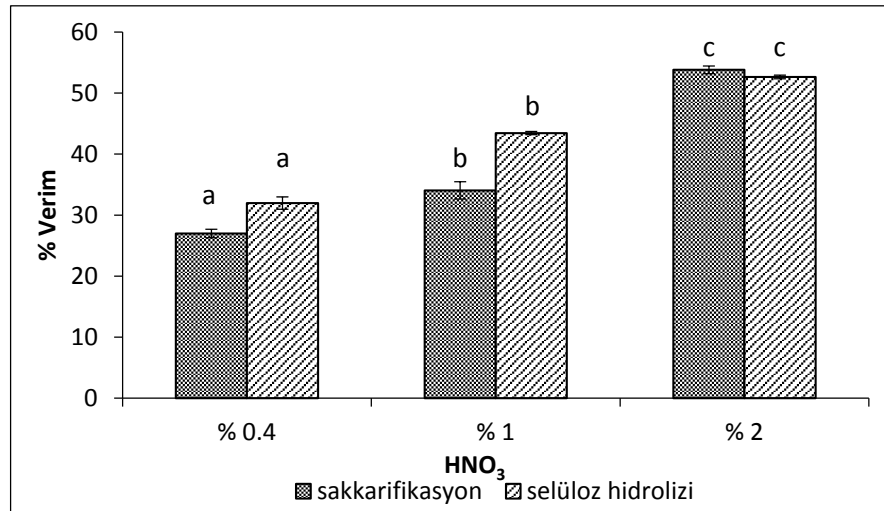
Şekil 4.6'ya göre sakkarifikasyonun ön işlemden kullanılan asit konsantrasyonu ile arttığı (p<0,05) görülmektedir. Selüloz hidrolizi ise asit derişimi %0,4 den %1'e artırıldığında artarken (p<0,05), asit derişiminin %2 ye artırılması ile değışmemiştir (p>0,05). Asit derişimi %0,4 den %2 ye yükselttiğinde sırasıyla selüloz hidrolizi %29,08 den %38,96'ya, sakkarifikasyon ise %49,22 den %53,98'e artmaktadır. Asit derişimin artması ile hemiselüloz giderimi artmakta ve buda sakkarifikasyon ve selüloz hidroliz veriminin artmasına neden olmaktadır.

Ön işlemden kullanılan asetik asit derişiminin %0,4'den %1'e arttırılmasıyla sakkarifikasyon ve selüloz hidrolizinin de anlamlı (p<0,05) bir şekilde arttığı Şekil 4.7'de görülmektedir. Bunun sebebi derişimin artması ile hemiselülzoun çözünürlüğünün artması ve selülaz enziminin selüloza daha kolay ulaşmasıdır. Asetik asit derişiminin %2'ye arttırılması ile bu değıerler değışmemiştir (p>0,05). %2 lik asetik asit ile uygulanan ön işlem sonucunda enzimatik hidrolize uğrayan

findık kabuklarının selüloz hidroliz yüzdesi % 40,83'e yükselmiştir (Şekil 4.7). Şekil 4.8'de selüloz hidrolizi ve sakkarifikasyonun HNO<sub>3</sub> derişimi ile arttığı gösterilmektedir (p<0,05). Bunun sebebi HNO<sub>3</sub> derişiminin hemiselüloz gideriminde oldukça etkili olmasıdır. %2 (h/h) HNO<sub>3</sub> derişimi ile uygulanan ön işlem sonucunda %53,81 sakkarifikasyon, %52,64 selüloz hidrolizi elde edilmiştir.



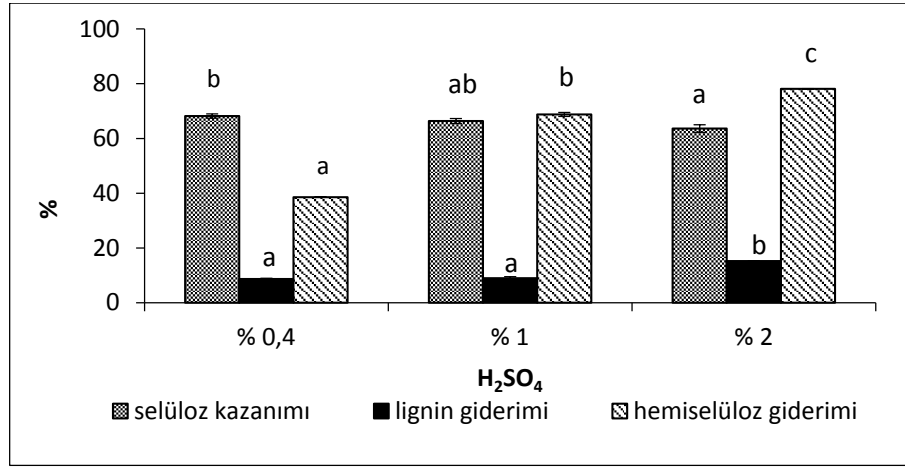
Şekil 4.7. CH<sub>3</sub>COOH derişiminin (90°C, 1/10 katı/sıvı, 30 dak) ön işlem uygulanmış findık kabuklarının sakkarifikasyonu ve selüloz hidrolizine asit derişiminin etkisi



Şekil 4.8. HNO<sub>3</sub> derişiminin (90°C, 1/10 katı/sıvı, 30 dak) işlem uygulanmış findık kabuklarının sakkarifikasyonu ve selüloz hidrolizine asit derişiminin etkisi

### 4.3.2. Farklı asitler ile yapılan ön işlemlerinin fındık kabuğunun bileşimi üzerine etkisi

Şekil 4.9’da sülfürik asit ön işleminin fındık kabuklarının kimyasal kompozisyonlarına olan etkisi görülmektedir. Selüloz kazanımı sülfürik asit derişimi ile artmaz iken, lignin gideriminde ise asit derişiminin %0,4 den %1’e arttırılması ile bir artış meydana gelmez iken ( $p>0.05$ ), asit derişiminin %2 ye arttırılması ile ( $p<0,05$ ) bir artış meydana gelmiştir (Şekil 4.9). Sülfürik asit derişiminin hemiselüloz gideriminde etkili olduğu görülmektedir. Asit konsantrasyonu %0,4’den %1’e arttırıldığında hemiselüoz giderimi % 38,55 den %68,75’e yükselmiştir. Asit konsantrasyonu %2’ye arttırıldığında ise %78,11 giderim elde edilmiştir. Bu derişimde %15,20 lignin giderimi, %63,64’de selüloz kazanımı elde edilmiştir. Hemiselüloz gideriminin derişim ile artması sülfürik asit ön işleminin için beklenen bir sonuçtur.

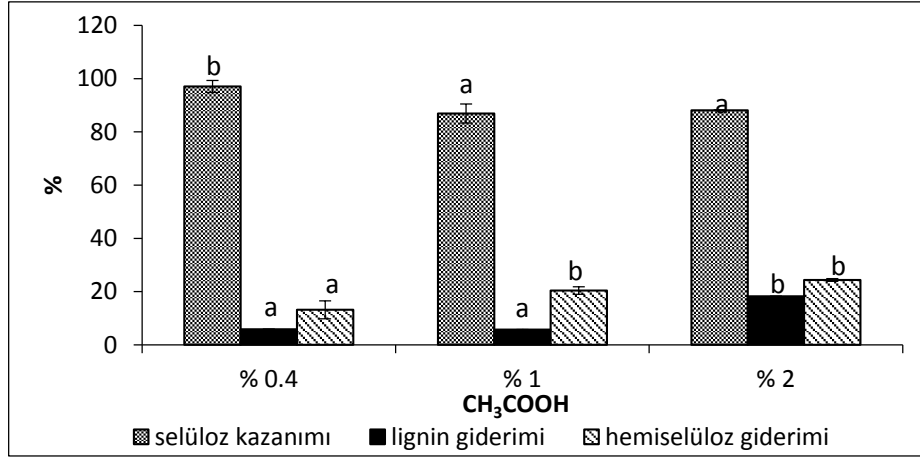


Şekil 4.9. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> derişiminin (90°C, 1/10 katı/sıvı, 30 dak) ön işlem uygulanmış fındık kabuklarının kimyasal bileşimi üzerine etkisi

Asetik asit ön işleminin fındık kabuklarının kimyasal kompozisyonlarına olan etkisi Şekil 4.10’da verilmiştir.

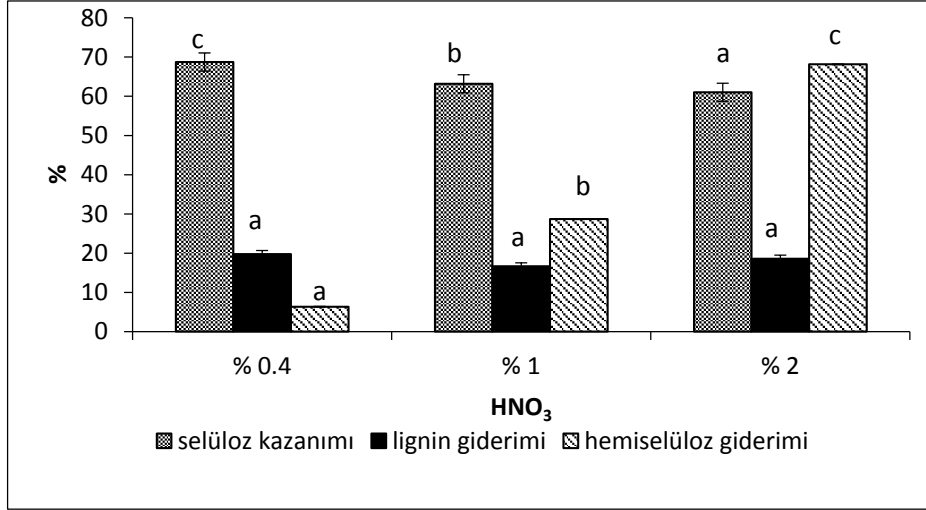
Asetik asit ile yapılan ön işlemde hemiselüloz giderimi sülfürik asite göre çok fazla etkili olmadığı görülmektedir. Asetik asit konsantrasyonunun %0,4 den %1’e arttırılması ile hemiselüloz gideriminde bir artış gözlemlenirken ( $p<0.05$ ), asit

derişiminin % 2'ye arttırılması ile anlamlı hemiselüloz giderimi değişmemiştir ( $p>0.05$ ). Asetik asit konsantrasyonu %2'ye arttırıldığında hemiselüloz giderimi %24,39'a yükselirken, selüloz kazanımı ise %88,14 olmuştur (Şekil 4.10). Asetik asitin hemiselüloz gideriminde etkili olamayışının sebebi zayıf bir asit olması olabilir.



Şekil 4.10. CH<sub>3</sub>COOH derişiminin (90°C, 1/10 katı/sıvı, 30 dak) ön işlem uygulanmış fındık kabuklarının kimyasal bileşimi üzerine etkisi

HNO<sub>3</sub> derişiminin fındık kabuklarından hemiselüloz gideriminde etkili olduğu ancak lignin giderimini değiştirmedeği görülmektedir. HNO<sub>3</sub> derişimi %2'ye arttırıldığında %68,14 hemiselüloz giderimi elde edilmektedir. Bu koşullarda elde edilen selüloz kazanımı % 61,01 iken % 18,59 lignin giderimi elde edilmiştir (Şekil 4.11). hemiselüloz gideriminde HNO<sub>3</sub> derişiminin oldukça etkili olmasının sebebi HNO<sub>3</sub>'ün kuvvetli bir asit olması olabilir. Sonuç olarak; farklı asitler arasından en uygun çözelti sülfürik asit çözeltisi olarak seçilip uygulanan ön işlemin yüksek sıcaklıklardaki etkileri incelenmiştir.



Şekil 4.11. HNO<sub>3</sub> derişiminin (90<sup>0</sup>C, 1/10 katı/sıvı, 30 dak) ön işlem uygulanmış fındık kabuklarının kimyasal bileşimi üzerine etkisi

#### 4.4. Yüksek Sıcaklıklarda Sülfürik Asit ile Yapılan Ön İşlemlerin Fındık Kabuğunun Kompozisyonu ve Enzimatik Hidrolizi Üzerine Etkisi

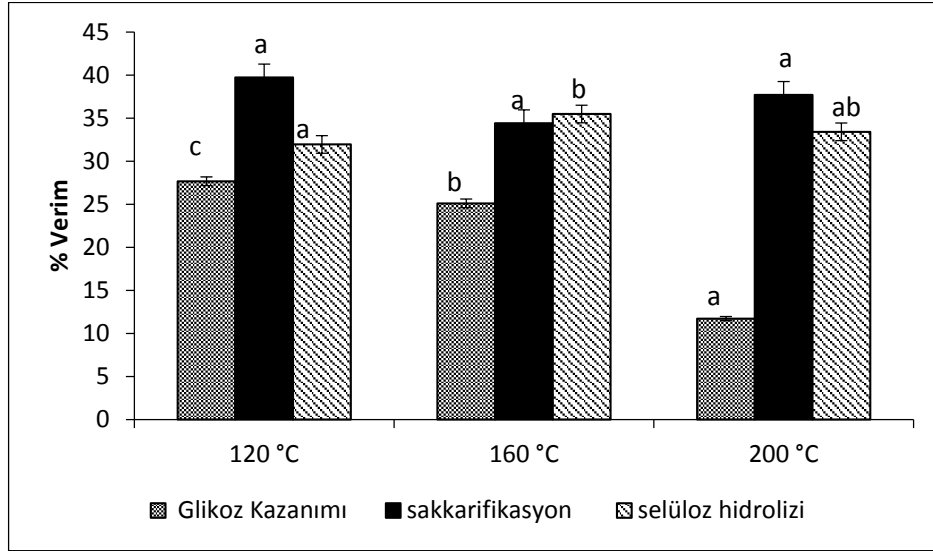
Sülfürik asit ön işleminin amacı hemiselülozu tamamen gidermek ve enzimatik hidroliz hızını artırmaktır. Ancak sülfürik asit sadece hemiselülozu çözmekle kalmaz aynı zamanda selülozuda hidroliz edebilir. Bu yüzden ön işlem zamanı, sıcaklığı ve asit derişimi optimize edilmelidir. Bu bölümde farklı sıcaklık (120, 160 ve 200<sup>0</sup>C), zaman (1, 10 ve 30 dak) ve derişimlerde (%0,5, %1,0 ve %1,5, h/h) sülfürik asit ile yapılan ön işlemlerin fındık kabuğunun kimyasal bileşimine ve enzimatik hidrolizi üzerine etkileri incelenmiştir.

##### 4.4.1. Yüksek sıcaklıklarda sülfürik asit ile yapılan ön işlemlerin fındık kabuğunun enzimatik hidrolizi üzerine etkisi

Şekil 4.12’de sülfürik asit ön işleminde sıcaklığın fındık kabuğunun enzimatik hidrolizi sonucunda elde edilen glikoz kazanımı ve selüloz hidrolizi ve sakkarifikasyon verimi üzerine etkisi görülmektedir.

Sıcaklığın artırılması sülfürik asit ön işleminde glikoz kazanımının azalmasına neden olmuştur. Sıcaklığın 200<sup>0</sup>C’ye arttırılması ile glikoz kazanımı en düşük seviyelere ulaşmıştır (p<0,05). Bunun sebebi 200<sup>0</sup>C’de selülozun fazla

çözülmesi ve selülozu kazanımının düşük olmasıdır. %1 sülfürik asit çözeltisi ile en yüksek glikoz kazanımına 120°C’de ulaşılmış olup, bu değer %27,67 dir.

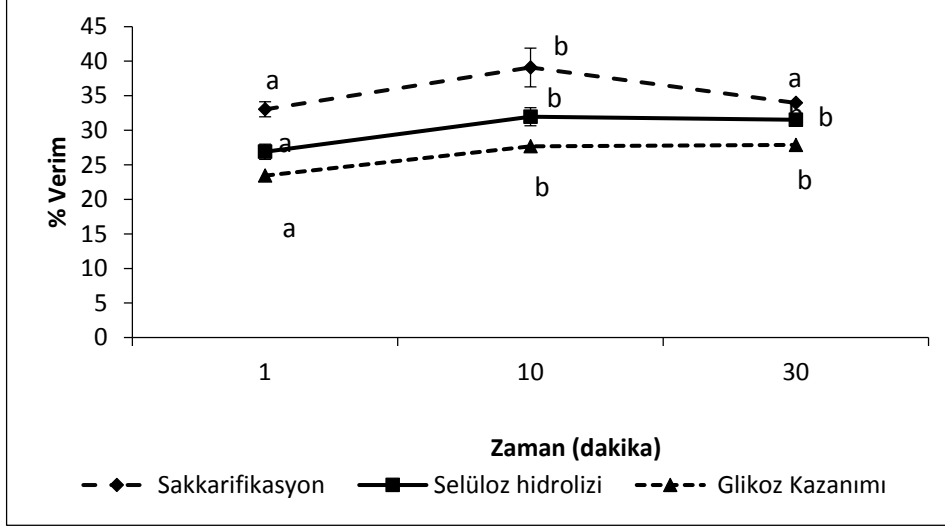


**Şekil 4.12.** H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ön işleminde (% 1 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 1/10 katı/sıvı, 10 dak) sıcaklığın ön işlem uygulanmış fındık kabuklarının enzimatik hidrolizi sonucunda elde edilen glikoz kazanımı, sakkarifikasyon ve selüloz hidroliz verimi üzerine etkisi

Sıcaklığın çalışılan ön işlem şartlarında (% 1 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 1/10 katı/sıvı, 10 dak) sakkarifikasyon üzerine etkisi görülmemiştir (p>0.05). Sakkarifikasyon yüzdesi %35-%40 arasında değişmiştir. Selüloz hidrolizi yüzdesinde ise yaklaşık olarak %10 luk (p<0,05) bir artış meydana gelmiştir (Şekil 4.12) ve en yüksek değer 160°C de elde edilmiştir (%35,49).

H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ön işleminde (%1 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 1/10 katı/sıvı, 120°C) ön işlem zamanının glikoz kazanımı ve sakkarifikasyon ile enzimatik hidroliz verimi üzerine etkisi Şekil 4.13’de verilmiştir. Ön işlem zamanının 1 dakikadan 10 dakikaya artırılması ile glikoz kazanımı %23,45 den% 27,67 ye artarken (p<0.05), 30 dak’da glikoz kazanımı sadece %27,88 bulunmuştur (p>0.05). Bunun sebebi bu sıcaklıkta ilk 10 dakikadan sonra fındık kabuklarının kimyasal yapısında herhangi bir değişiklik olmamasıdır. 120°C de 10 dakika ön işlem sonunda enzimatik hidroliz ile elde edilen sakkarifikasyon ve selüloz hidrolizi en yüksek değere ulaşmıştır. Ön işlem zamanının 1 dakikadan 10 dakikaya arttırılması ile her iki değerde de anlamlı (p<0,05) bir artış meydana gelirken, 30 dak’da dakikaya her iki değer de azalmıştır.

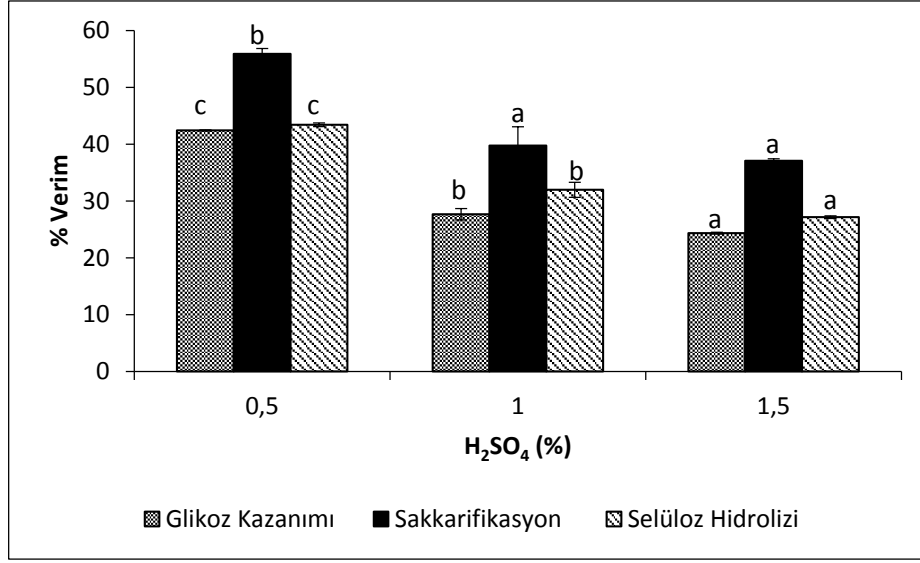
120 °C de 10 dakika ön işlem sonucunda sırasıyla %39,09 sakkarifikasyon, %31,96 selüloz hidroliz verimine elde edilmiştir (Şekil 4.13).



**Şekil 4.13.** H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ön işleminde (% 1 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 1/10 katı/sıvı, 120 °C) ön işlem zamanının fındık kabuklarının enzimatik hidrolizi sonucunda elde edilen glikoz kazanımı, sakkarifikasyon ve selüloz hidroliz verimi üzerine etkisi

Sülfürik asit derişiminin (%0,5, %1,0, %1,5) 1/10 katı/sıvı oranında 120°C’de, 10 dak ön işlem şartlarında fındık kabuğunun enzimatik hidrolizi sonucunda glikoz kazanımı, sakkarifikasyon ve selüloz hidrolizi (Şekil 4.14) üzerine etkisi incelendiğinde, asit derişiminin azalması ile glikoz kazanımının arttığı görülmektedir (p<0,05). Bunun sebebi asit derişiminin selüloz çözünürlüğünde etkili olmasıdır. Çalışılan şartlarda en yüksek glikoz kazanımına %0,5’lik sülfürik asit çözeltisi ile ulaşılmıştır (%42,41). Sakkarifikasyon ve selüloz hidrolizi sonuçları da glikoz kazanımı ile aynı paralelliktedir (Şekil 4.17). Derişim %1,5’den % 1’e düşürüldüğünde sakkarifikasyon yüzdesi değişmez iken, derişim %0,5’e azaltıldığında sakkarifikasyon yüzdesi %35 artmıştır (p<0.05). Sonuç olarak, 120°C’de, 1/10 katı/sıvı oranında 10 dakika boyunca %0,5 sülfürik asit çözeltisi ile ön işlem uygulanan fındık kabuklarından selüloz hidrolizi ve sakkarifikasyon için sırasıyla %43,41 ve%55,88 lik verimler elde edilmiştir.



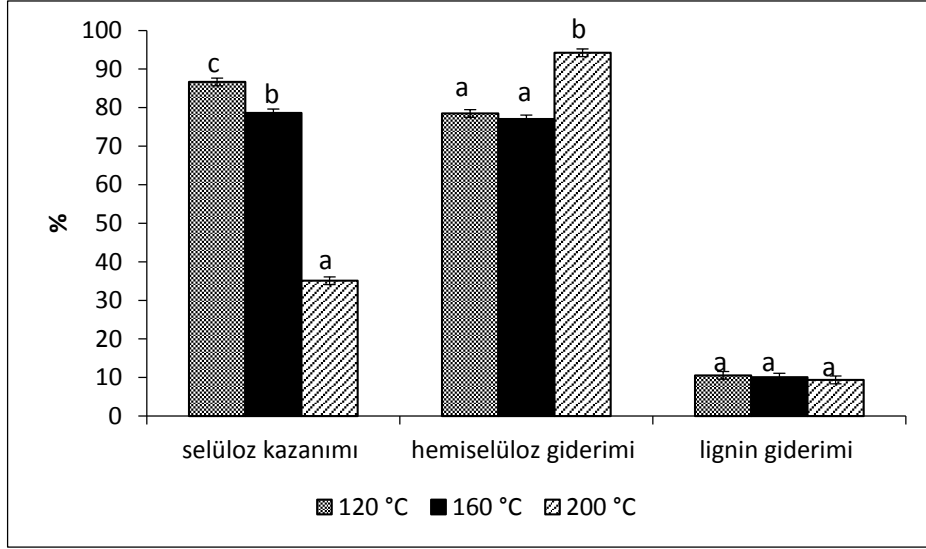


**Şekil 4.14.** H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ön işleminde 120 °C, 1/10 katı/sıvı, 10 dak) derişimin ön işlem uygulanmış fındık kabuklarının enzimatik hidrolizi sonucunda elde edilen glikoz kazanımı, sakkarifikasyon ve selüloz hidroliz verimi üzerine etkisi

#### 4.4.2. Yüksek sıcaklıklarda sülfürik asit ile yapılan ön işlemlerin katı bileşimine üzerine etkisi

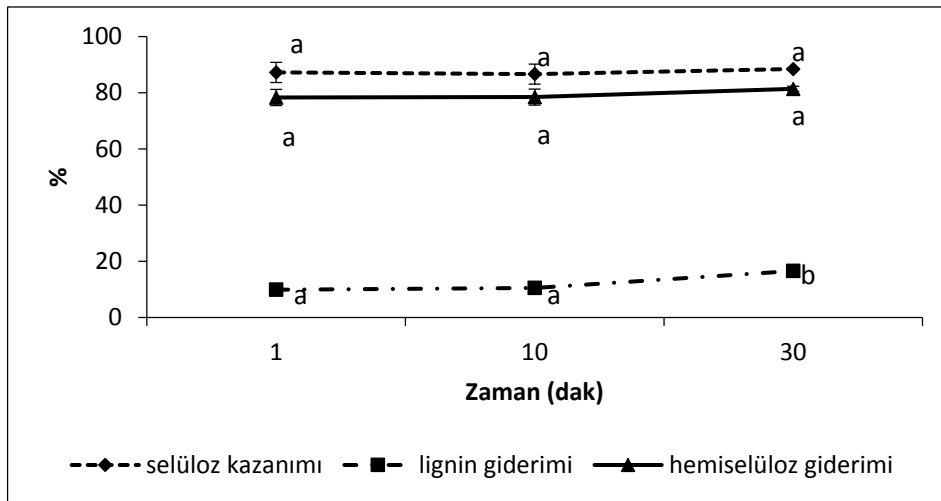
Yüksek sıcaklık (120-200<sup>0</sup>C) asit ön işlem uygulanan fındık kabuklarının farklı ön işlem zamanlarında (1, 10, 30 dak) ve derişimlerde (%0.5, %1 ve %2) elde edilen lignin giderimi, selüloz kazanımı ve hemiselüloz giderimi üzerine etkileri Şekil 4.15-4.17’de verilmiştir.

1/10 katı/sıvı oranında, 10 dak, %1’lik sülfürik asitle yapılan ön işlemlerde, ön işlem sıcaklığının ön işlem sonucu kalan katı bileşimi üzerinde etkisi sonucunda selüloz kazanımı (%) sıcaklığın artması ile azalmış, hemiselüloz giderimi de artmıştır (p<0,05). Lignin giderimi üzerinde sıcaklığın anlamlı (p<0,05) bir etkisinin olmadığı görülmektedir. Selüloz kazanımı 120<sup>0</sup>C’de %86,67 iken 200<sup>0</sup>C de %35,08’e düşmüştür. Hemiselüloz giderimi ise sıcaklığın 160<sup>0</sup>C ‘den 200<sup>0</sup>C’ye artırılması %77,04’dan %94,22’ye artmaktadır. Bunun sebebi yüksek sıcaklıkta selüloz ve hemiselüloz çözünürlüğünün artmasıdır (Şekil 4.15).



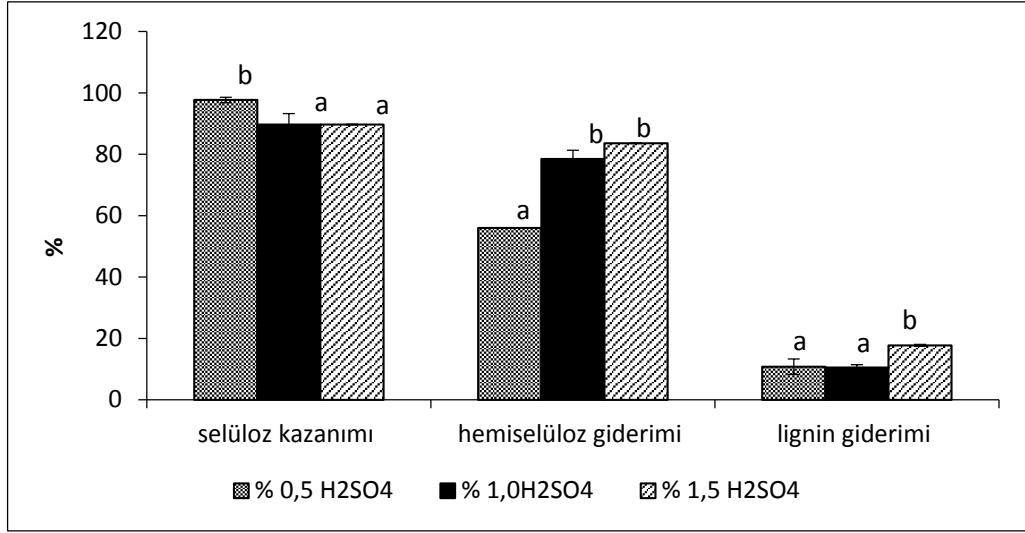
**Şekil 4.15.** H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ön işleminde (% 1 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 1/10 katı/sıvı, 10 dak) ön işlem sıcaklığının ön işlem uygulanmış fındık kabuklarının kimyasal bileşimi üzerine etkisi (aynı parametrenin farklı etkilerindeki farklı harfler ortalama değerler arasında anlamlı bir (p<0,05) fark olduğunu göstermektedir)

Ön işlem sıcaklığının sabit tutulup (120<sup>0</sup>C) ön işlem görmüş katı bileşimi üzerine ön işlem zamanının etkisinin incelendiği çalışma sonucunda (Şekil 4.16) ise zamanın selüloz kazanımı (ort. %87)ve hemiselüloz giderimi (ort. %79,50) üzerine etkisi görülmezken (p>0,05), lignin giderimi 10 dak'dan (%10,54) 30 dak'ya (16.57) yaklaşık % 50 artmıştır (p<0,05).



**Şekil 4.16.** H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ön işleminde (% 1 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 1/10 katı/sıvı, 120°C dak) ön işlem zamanının ön işlem uygulanmış fındık kabuklarının kimyasal bileşimi üzerine etkisi

Sülfürik asit derişiminin (Şekil 4.17) özellikle hemiselüloz gideriminde etkili olduğı gözlenmiştir. Derişimin %0,5’den %1’e artırılması ile hemiselüloz giderimi %55,99’ dan %78,47’ye yükselmiştir. Derişimin artması lignin giderimini de pozitif yönde etkilemiştir.



Şekil 4.17. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ön işleminde (10 dak, 1/10 katı/sıvı, 120°C dak) asit derişiminin ön işlem uygulanmış fındık kabuklarının kimyasal bileşimi üzerine etkisi

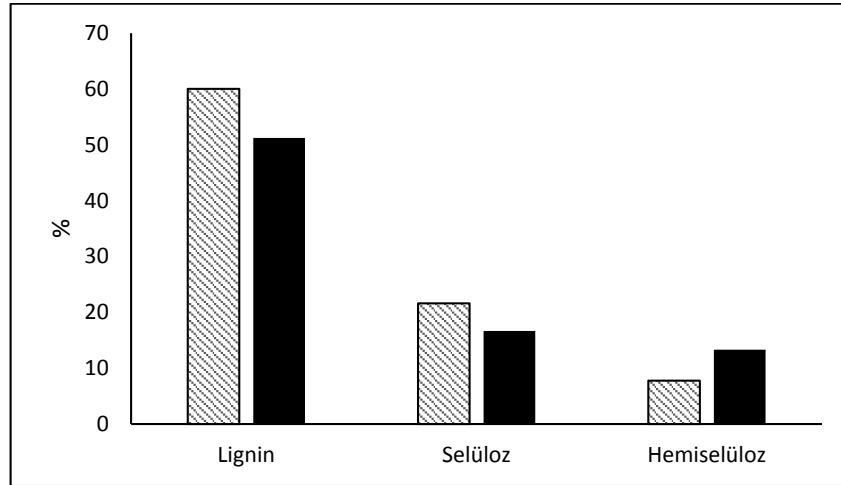
#### 4.4.3. Yüksek sıcaklıklarda sülfürik asit ile yapılan ön işlem prosesinde kütle denkligi

Yüksek sıcaklıkta fındık kabuğuna uygulanan sülfürik asit ön işleminin sonuçları ön işlem görmüş kabukların enzimatik hidrolizi sonucu maksimum glikoz verimi üzerinden değerlendirildiğinde, % 0,5 sülfürik asit çözeltisi ile 120 °C ve 1/10 katı/sıvı oranında 10 dak ön işlem koşullarının en uygun olduğu görülmüştür. Bu koşullarda fındık kabuklarına tekrar ön işlem uygulanmış ve katı bileşimi, ön işlem sıvısının bileşimi ve elde edilen şeker miktarları hesaplanmıştır. Bu değerler ön işlem prosesinde kütle ve enerji denkliklerinin kurulmasında kullanılmıştır.

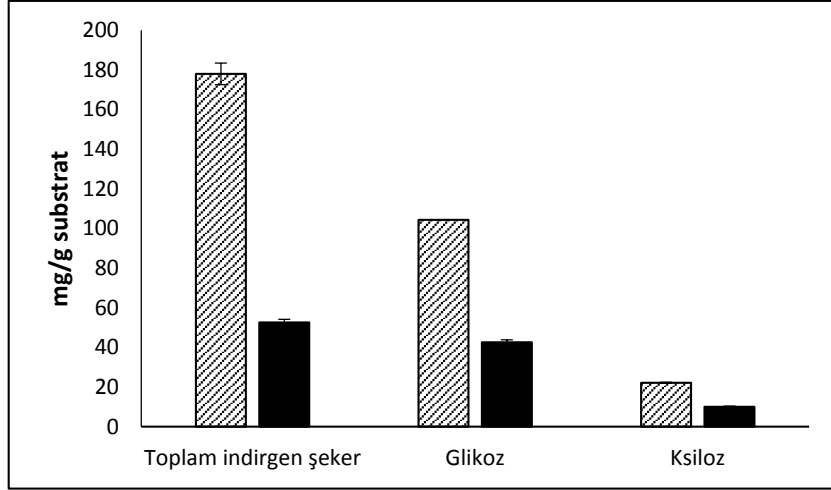
Elde edilen sonuçlara göre 120°C’de, 1/10 katı/sıvı oranında, 10 dak, %0,5 sülfürik asit ile ön işlem uygulanmış fındık kabuklarının kimyasal olarak yüksek oranda lignin içerdiği görülmektedir (%60). Selüloz içeriği %21,61 ve hemiselüloz içeriği ise %7,78’dir. Ön işlem sonrasında fındık kabuklarının içermiş olduğu

selüloz miktarı artarken, hemiselüloz içeriği azalmıştır. (Şekil 4.18). Ön işlem uygulanmış fındık kabuklarının enzimatik hidrolizi sonucunda ise ön işlem uygulanmış her bir gram katı fındık kabuğu başına yaklaşık olarak 180 mg toplam indirgen şeker, 100 mg ise glikoz elde edilmiştir. Hemiselüloz gideriminde etkili olan asit ön işlemi sonucunda elde edilen ksiloz miktarı ise yaklaşık 20 mg dir. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ön işlemi ile enzimatik hidroliz sonrsında elde edilen glikoz miktarı yaklaşık olarak 2,5 kat artmıştır (Şekil 4.19). Ön işlem sonrasında ön işlem sıvısının YBSK analizi sonucunda ksilozun miktarı 6,18 mg/ml olarak bulunmuştur. Ön işlem sonucunda elde edilen asetik asit miktarı da 2,22 mg/ml dir. Asit ön işlem sonucunda ayrıca; sellobiyoz, glikoz, süksinik asit, gliserol ve furfural da elde edilmiştir (Şekil 4.20).

120°C’de, 1/10 katı/sıvı oranında, 10 dak, %0,5 sülfürik asit ön işlemi prosesinin kütle denkliği Şekil 4.24’de gösterilmiştir. Bu proses sonucunda 100 g fındık kabuğundan 7,86 g glikoz, 1,67 g’da ksiloz elde edilmiştir. Aynı koşullarda (120°C’de, 1/10 katı/sıvı oranında, 10 dak, %0,5 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ) uygulanan sülfürik asit ön işlemi için kurulan enerji denkliği sonucunda ise elde edilen her bir gram glikoz başına 95,76 kJ enerji harcanmıştır (Şekil 4.21).



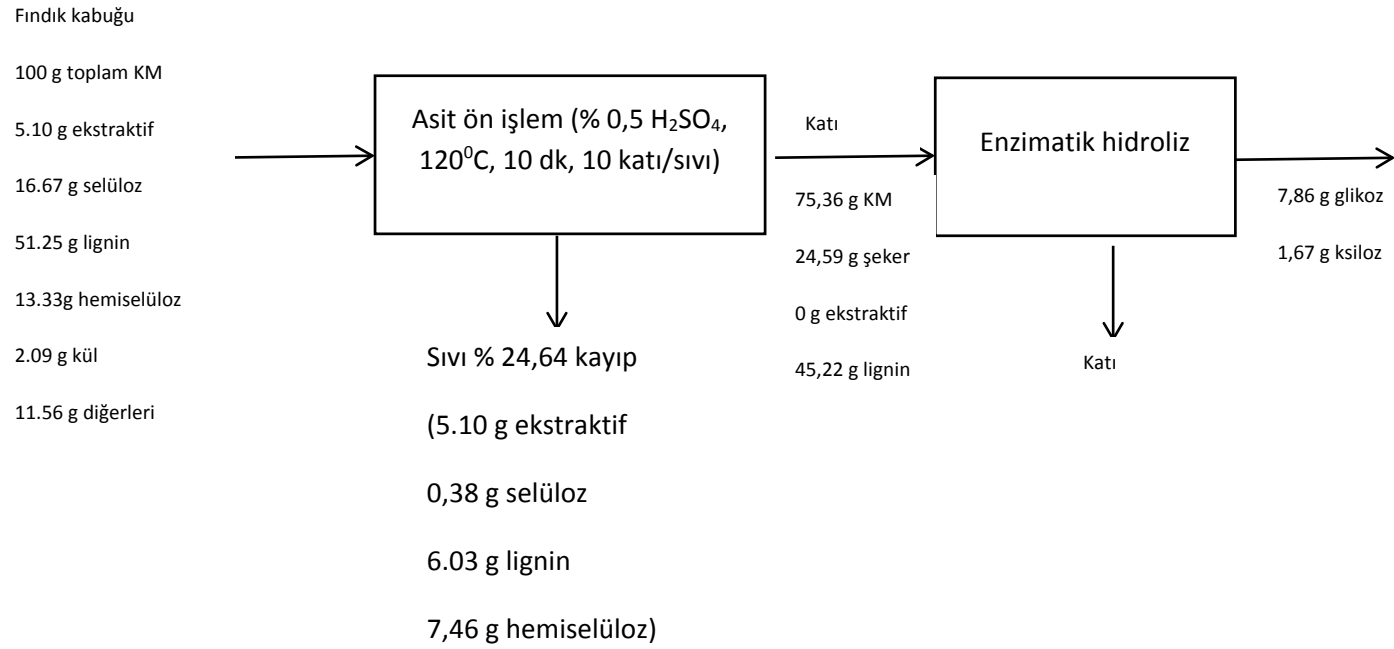
**Şekil 4.18.** 120°C’de, 1/10 katı/sıvı oranında 10 dak, %0,5 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ile ön işlem uygulanmış ve uygulanmamış fındık kabuklarının kimyasal kompozisyonu ( ▨ Ön işlem uygulanmamış fındık kabuğu, ■ Ham fındık kabuğu)



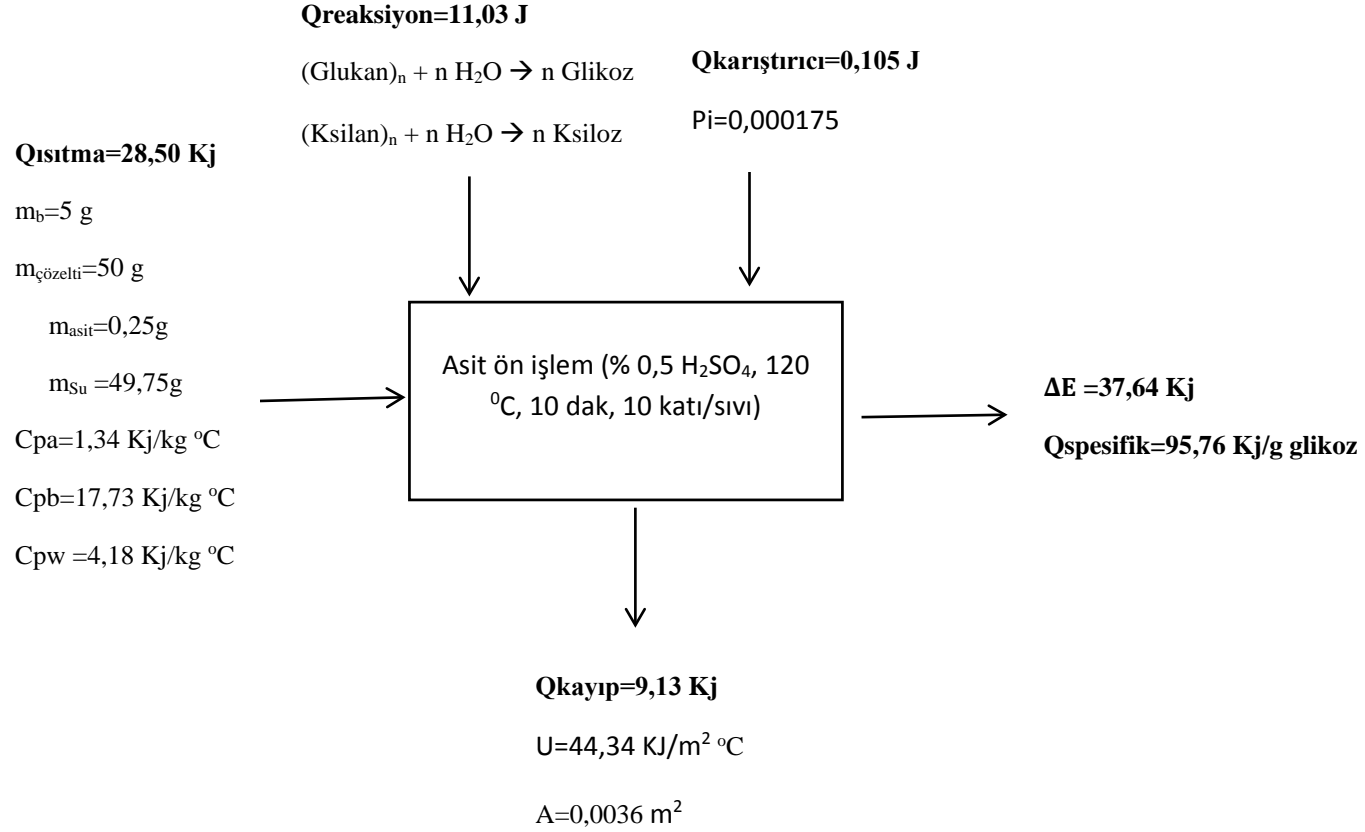
**Şekil 4.19.** 120<sup>0</sup>C’de, 1/10 katı/sıvı oranında 10 dakika, %0,5 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ile ön işlem uygulanmış ve ön işlem uygulanmamış fındık kabuklarının enzimatik hidrolizi sonucunda elde edilen şeker miktarları (▨ Ön işlem uygulanmış fındık kabuğu, ■ Ham fındık kabuğu)



**Şekil 4.20.** 120<sup>0</sup>C’de, 1/10 katı/sıvı oranında 10 dak, %0,5 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ön işlem sıvısında bulunan bazı bileşikler



**Şekil 4.21.** %0,5 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ile 120 °C'de 10 dak, 1/10 katı/sıvı oranında ön işlem uygulanmış findık kabuklarının enzimatik hidroliz sonrasındaki kütle denkliği



**Şekil 4.22.** %0,5 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ile 120 °C’de 10 dak, 1/10 katı/sıvı oranında ön işlem uygulanmış fındık kabuklarının enerji denkliği

## **4.5 Su Buharı ile Yapılan Ön İşlemlerin Fındık Kabuğunun Bileşimi ve Enzimatik Hidrolizi Üzerine Etkisi**

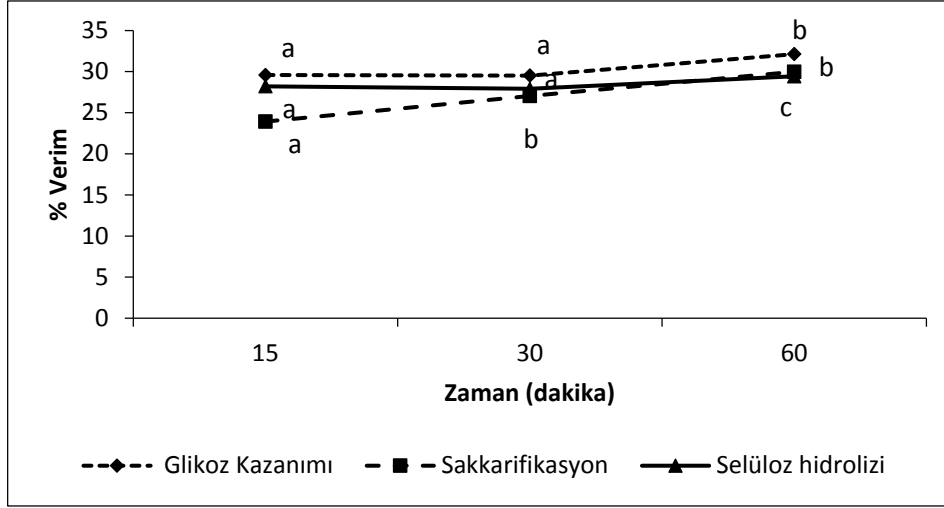
Yüksek sıcaklıkta su buharı asit özelliği göstererek biyokütlenin içermiş olduğu hemiselülozu giderir ve lignoselülozik sert yapının bozundurarak enzimatik hidroliz verimini arttırır. Kimyasal katalizör kullanılmadığı için bu yöntem daha temiz çevreci ve kolaydır. Bu bölümde sıcaklık (120, 150 ve 200<sup>0</sup>C), zaman (15, 30 ve 60 dak) ve katı/sıvı oranının (1/5, 1/10 ve 1/20) su buharı ön işlemlerinin, ön işlem görmüş hammaddenin enzimatik hidrolizi ve kimyasal bileşimi üzerine etkileri incelenmiştir.

### **4.5.1 Su buharı ile yapılan ön işlemlerin fındık kabuğunun enzimatik hidrolizi üzerine etkisi**

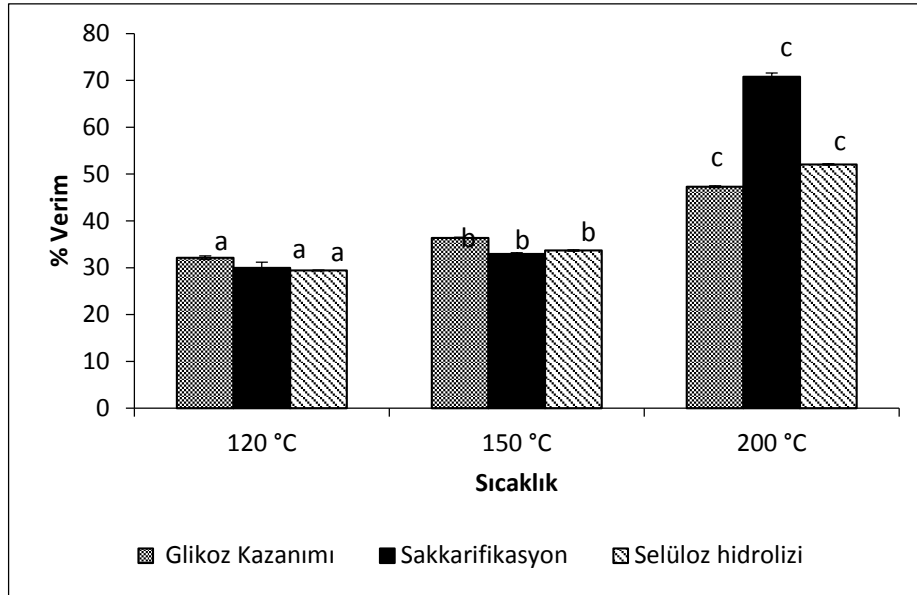
Su buharı ön işlemi sonucunda fındık kabuklarından elde edilen glikoz kazanımı (Şekil 4.23) miktarının ön işlem zamanının 15 dak' dan 30 dak'ya artırılması ile artmazken ( $p>0,05$ ) ön işlem zamanı 60 dak çıkarıldığında glikoz kazanımı %10 artmıştır ( $p<0,05$ ). Buna göre en yüksek glikoz kazanımı %32,12 ile 60 dakika sonunda elde edilmiştir. Bunun sebebi zamanın 60 dakikaya arttırılması ile hemiselüloz gideriminin artması ve buna bağlı olarak enzimin selüloza olan ulaşılabilirliğinin artmasıdır. Selüloz hidrolizi yüzdesinin zamanla artmış, sakkarifikasyon (%29,98 ) ve selüloz hidrolizi verimi (%29,43) 60 dakika sonunda en yüksek değere ulaşmıştır (Şekil 4.23).

Fındık kabuklarına uygulanan buhar ön işleminde glikoz kazanımı üzerine sıcaklığın etkili olduğu görülmüştür (Şekil 4.24) ( $p<0,05$ ). Sıcaklığın 120 <sup>0</sup>C'den 150<sup>0</sup>C'ye artırılması ile glikoz verimi. Sıcaklığın 200 <sup>0</sup>C'ye arttırılması ile glikoz kazanımı %36,37den %47,30'a yükselerek yaklaşık % 47 oranında artmıştır. Sıcaklığın 150<sup>0</sup>C'den 200<sup>0</sup>C' ye arttırılması ile sakkarifikasyon yüzdesi iki katına selüloz hidroliz yüzdesi ise 1,5 katına çıkmıştır (Şekil 4.24). Bunun sebebi sıcaklığın 200<sup>0</sup>C'ye yükseltilmesi ile hemiselüloz gideriminin %88'e yükselmesi ve enzimin biyokütle içerisindeki etkinliğinin artmasıdır.





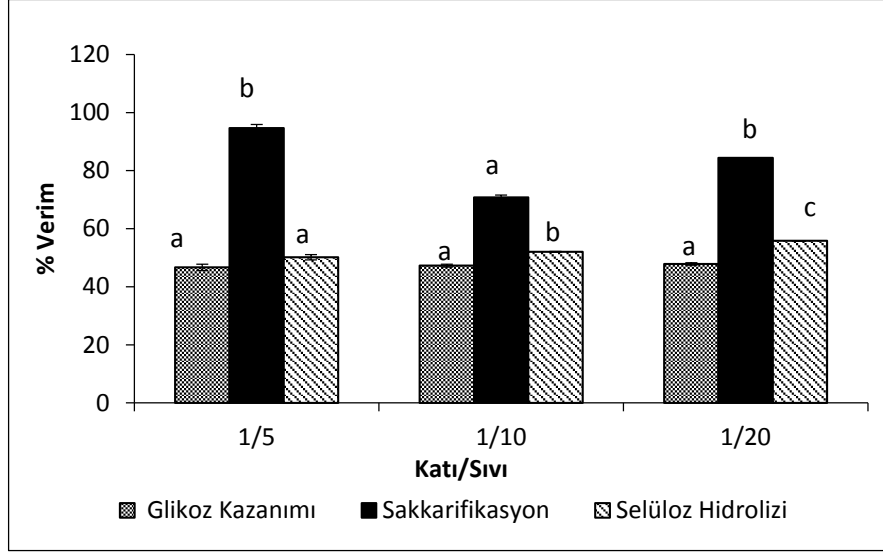
Şekil 4.23. Su buharı ön işlemi uygulanmış (120°C, 1/10 katı/sıvı) fındık kabuklarının enzimatik hidrolizi sonucunda elde edilen glikoz kazanımı, sakkarifikasyon ve selüloz hidroliz verimi üzerine zamanın etkisi



Şekil 4.24. Su buharı ön işlemi uygulanmış (60 dak, 1/10 katı/sıvı) fındık kabuklarının enzimatik hidrolizi sonucunda elde edilen glikoz kazanımı, sakkarifikasyon ve selüloz hidroliz verimi üzerine sıcaklığının etkisi

200°C sıcaklık ve 60 dakika boyunca uygulanan buhar ön işleminin fındık kabuklarından elde edilen glikoz kazanımı üzerine katı/sıvı oranının etkisi olmadığı görülmektedir (Şekil 4.25). Fındık kabuklarına uygulanan su buharı ön işleminde katı/sıvı oranının artırılması ile selüloz hidrolizinin arttığı gözlemlenmiştir

( $p < 0,05$ ). Katı/sıvı oranı 1/5 olduğunda ise sakkarifikasyon miktarında en yüksek değere (%94,67) ulaşıldığı görülmektedir (Şekil 4.25).



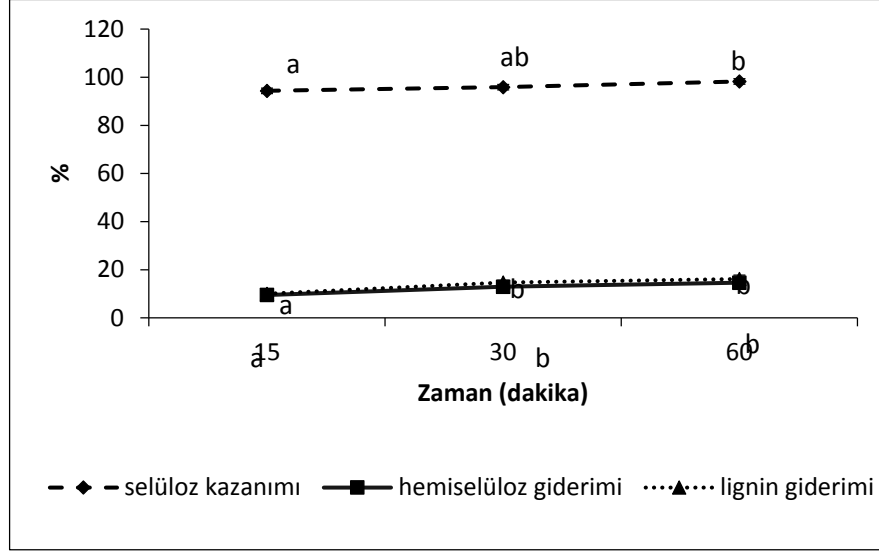
**Şekil 4.25.** Su buharı ön işleme uygulanmış (200°C, 60 dak) fındık kabuklarının enzimatik hidrolizi sonucunda elde edilen glikoz kazanımı, sakkarifikasyon ve selüloz hidroliz verimi üzerine katı/sıvı oranının etkisi

#### 4.5.2. Su buharı ile yapılan ön işlemlerin fındık kabuğunun kimyasal bileşimi üzerine etkisi

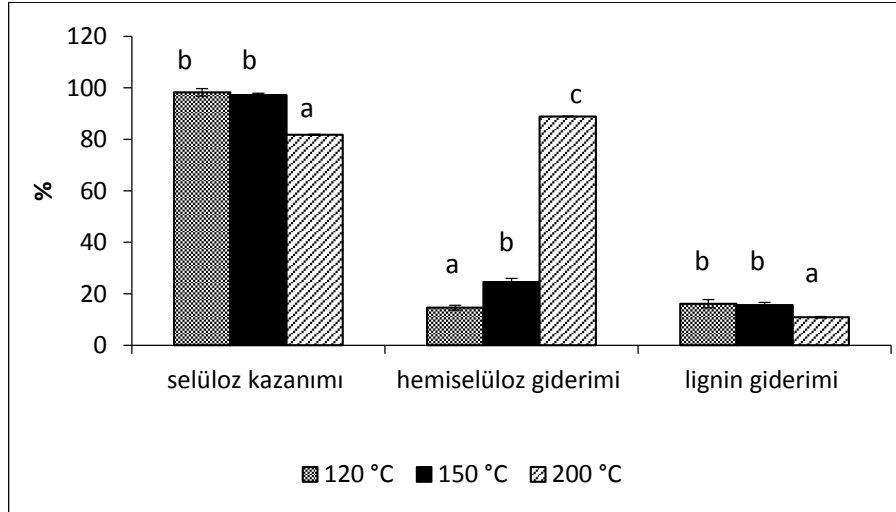
Su buharı ön işleminde zamanın selüloz kazanımı, hemiselüloz ve lignin giderimi üzerine etkisi pozitif yönde olmuştur (Şekil 4.26) 120°C ve 1/10 katı/sıvı oranında gerçekleştirilen su buharı ön işleminde lignin ve hemiselüloz giderim değerleri 60 dakika sonunda %16'dır. Fındık kabuklarına uygulanan buhar ön işlemlerinin selüloz kazanımı, hemiselüloz giderimi üzerine sıcaklığın oldukça etkili olduğu lignin giderimi üzerine ise etkisi olmadığı ( $p > 0,05$ ) görülmektedir (Şekil 4.27). Sıcaklığın 200°C'ye artırılması ile hemiselüloz giderimi %88'lere yükselmiştir. Bunun sebebi artan sıcaklıkla su buharının hemiselülozu çözme gücünün artmasıdır.

200°C ön işlem sıcaklığı ve 60 dakika boyunca uygulanman su buharı ön işleminin katı/sıvı oranının hemiselüloz giderimini değiştirmedığı, lignin

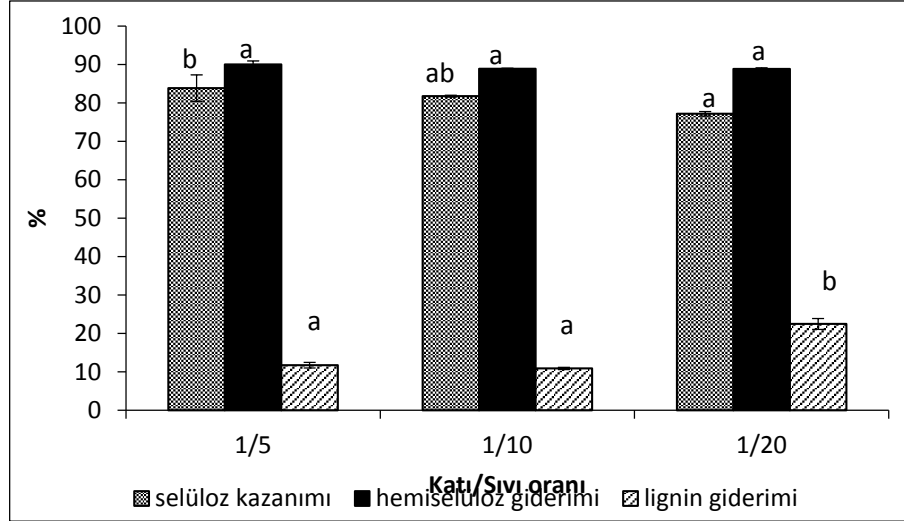
gideriminde ise düşük katı/sıvı oranının (1/20) daha etkin olduğu görülmektedir. Ancak bu oranda selüloz kazanımı azalmaktadır (Şekil 4.28).



Şekil 4.26. Su buharı ön işlemi uygulanmış (120°C, 1/10 katı/sıvı) fındık kabuklarının kimyasal bileşimi üzerine ön işlem zamanının etkisi



Şekil 4.27. Su buharı ön işlemi uygulanmış (60 dak, 1/10 katı/sıvı) fındık kabuklarının kimyasal bileşimi üzerine sıcaklık etkisi



**Şekil 4.28.** Su buharı ön işleme uygulanmış (200°C, 60 dak) fındık kabuklarının kimyasal bileşimi üzerine katı/sıvı oranının etkisi

#### 4.5.3. Su buharı ön işlem prosesinde kütle denklığı

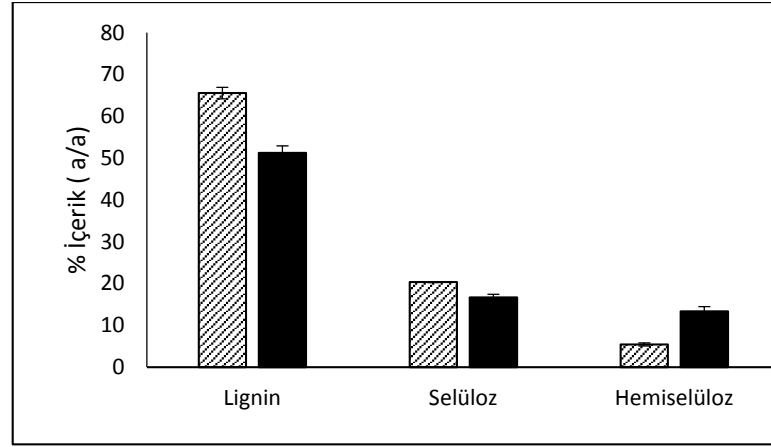
Fındık kabuklarının içermiş olduğu hemiselüloz miktarının azaltılması ve liginoselülozik yapının bozundurulmasının amaçlandığı su buharı ön işlemi sonunda çalışılan parametreler içinde 200°C, 1/5 katı/sıvı oranı ve 60 dak proses koşullarının maksimum glikoz veriminin elde edildiği koşullar olduğu görülmüştür.

Bu koşullarda fındık kabuklarına tekrar ön işlem uygulanmış ve katı bileşimi, ön işlem sıvısının bileşimi ve elde edilen şeker miktarları hesaplanmıştır. Bu değerler ön işlem prosesinde kütle ve enerji denkliklerinin kurulmasında kullanılmıştır.

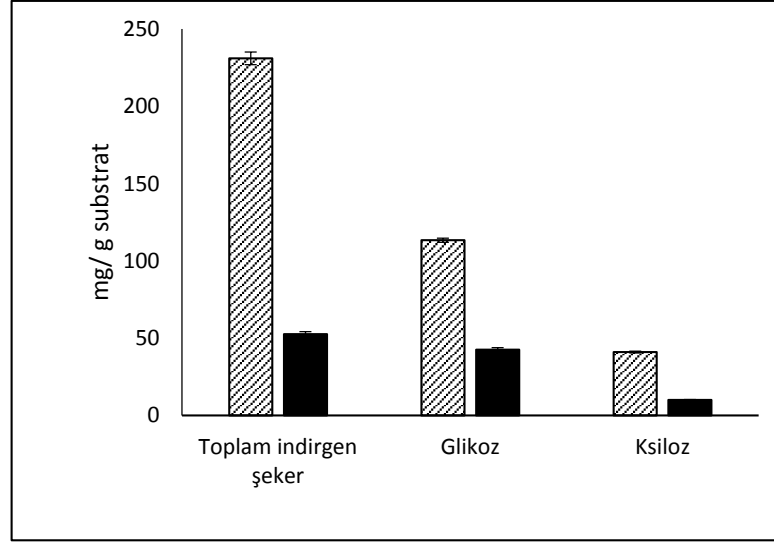
200°C’de, 1/5 katı/ sıvı oranında,60 dak buhar ön işlem uygulanmış fındık kabuklarının yüksek miktarda lignin içerdiği görülmektedir. Buhar ön işlemi sonucunda elde edilen fındık kabuklarının selüloz miktarı % 20 civarlarına yükselirken hemiselüloz içeriği ise yaklaşık %5,43’e düşürülmüştür (Şekil 4.29). Bu şartlarda enzimatik hidroliz sonrasında elde edilen toplam indirgen şeker miktarının her bir gram kuru ön işlem görmüş hammadde başına 230 mg olduğu bulunmuştur. Bu ön işlem sonucunda elde edilen glikoz miktarı 113,37 mg olup, ksiloz miktarı ise 40,99 mg’dır (Şekil 4.30). Su buharı ön işlemi sonucunda elde edilen ön işlem sıvısında ise asetik asit (4.72 mg/ml) ve furfural (2.58 mg/ml)

miktarının yüksek olduğu görülmüştür. Ayrıca ön işlem sıvısında sellobiyoz, glikoz, ksiloz, süksinik asit, gliserol ve hidroksi metil furfural'ın da olduğu görülmüştür (Şekil 4.31).

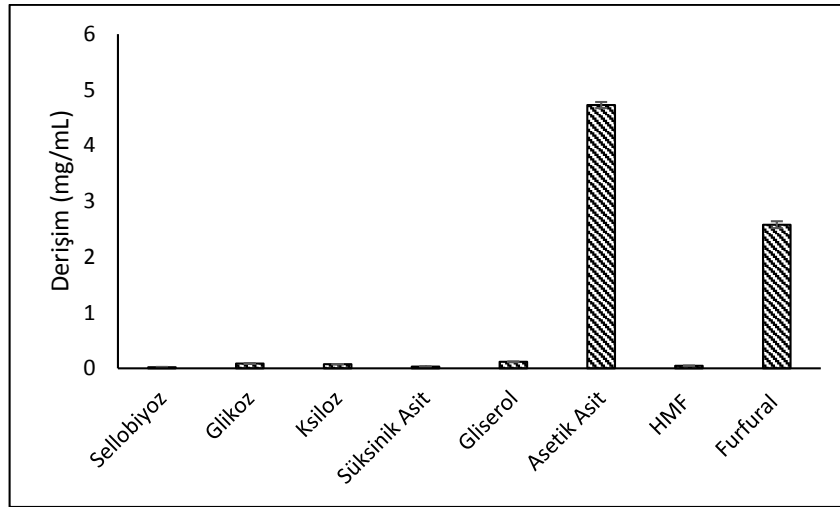
200°C'de, 1/5 katı/ sıvı oranında,60 dakika buharı ön işleme prosesinin kütle denklığı Şekil 4.32'de gösterilmiştir. Bu proses sonucunda 100 g fındık kabuğundan 7,79 g glikoz, 2,82 g da ksiloz elde edilmiştir. Aynı koşullarda (200°C'de, 1/5 katı/sıvı oranında, 60 dakika) uygulanan su buharı ön işlemi için kurulan enerji denklığı sonucunda ise elde edilen her bir gram glikoz başına 491,17 kJ enerji harcanmıştır (Şekil 4.33).



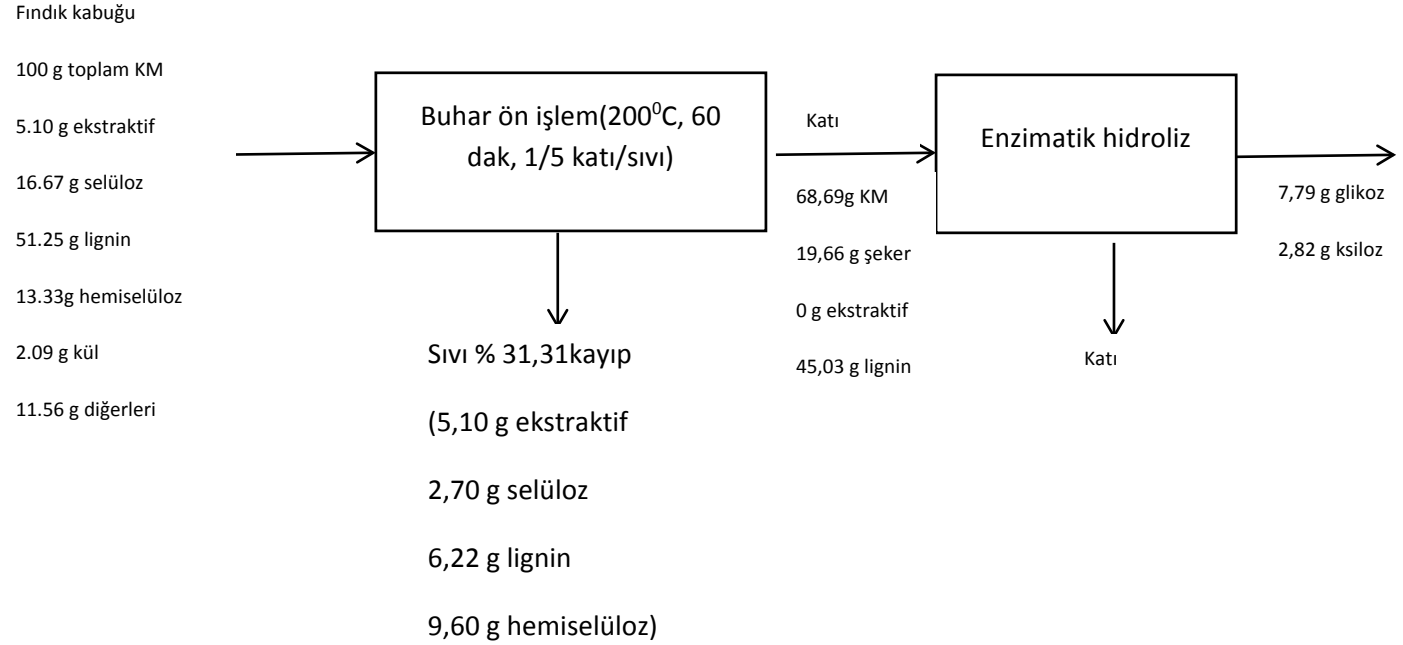
**Şekil 4.29.** 200°C, 1/5 katı/ sıvı, 60 dakika şartlarında su buharı ön işlemi uygulanmış fındık kabuklarının kimyasal bileşimi ( ▨ Ön işlem uygulanmış fındık kabuğu, ■ Ham fındık kabuğu)



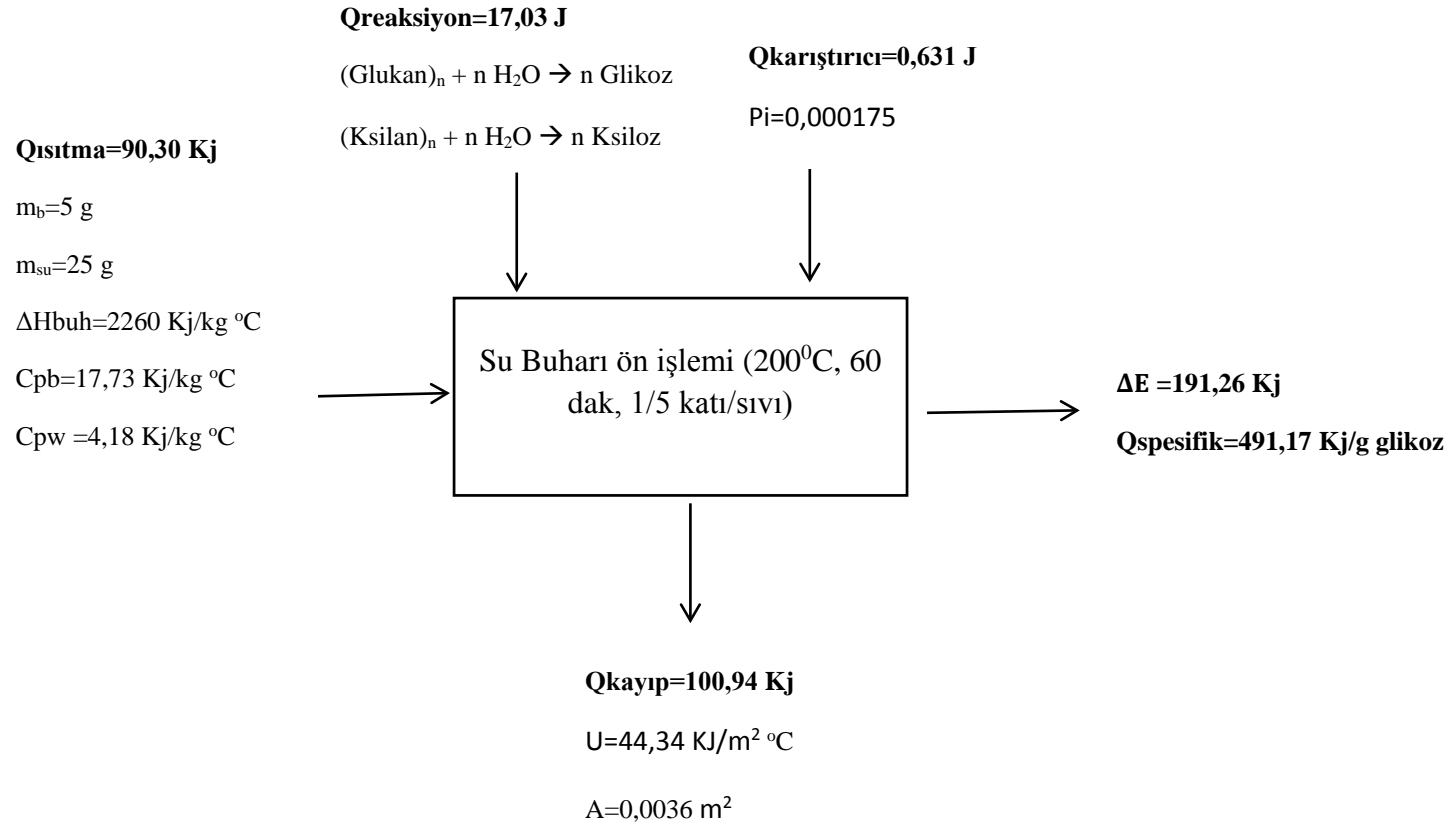
**Şekil 4.30.** 200°C, 1/5 katı/ sıvı, 60 dak şartlarında su buharı ön işlemi uygulanmış fındık kabuklarının enzimatik hidrolizi sonucunda elde edilen şeker miktarları ( ▨ Ön işlem uygulanmış fındık kabuğu, ■ Ham fındık kabuğu)



**Şekil 4.31.** 200°C, 1/5 katı/ sıvı, 60 dak şartlarında elde edilmiş su buharı ön işlem sıvısının kimyasal bileşimi



Şekil 4.32. 200°C, 1/5 katı/ sıvı, 60 dak şartlarında su buharı ön işlemi uygulanmış fındık kabuklarının enzimatik hidrolizi sonrasındaki kütle denklığı



**Şekil 4.33.** 200 °C, 1/5 katı/ sıvı, 60 dak şartlarında su buharı ön işlemi uygulanmış fındık kabuklarının enerji denkliği

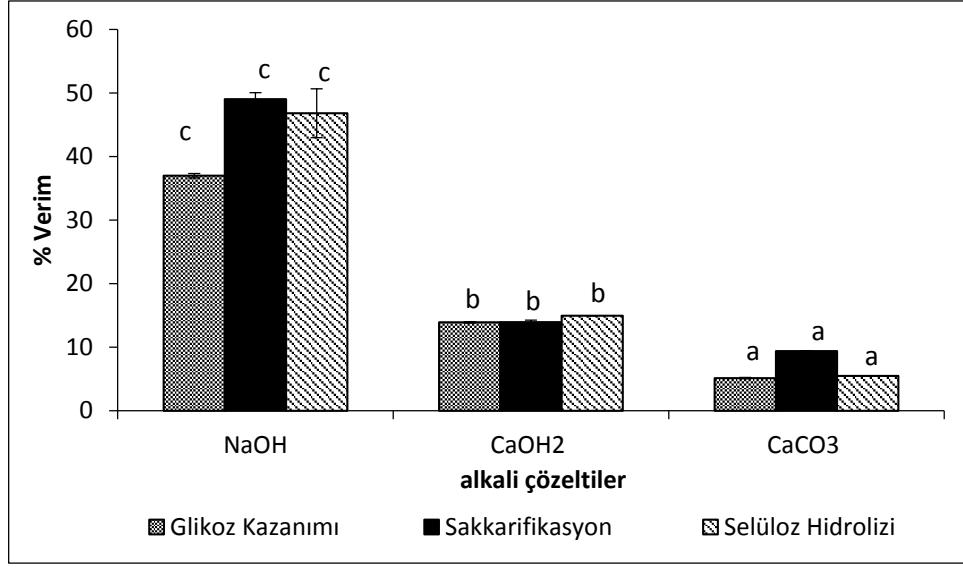


#### 4.6 Farklı Alkaliler ile Yapılan Ön İşlemlerin Fındık Kabuğunun Bileşimi ve Enzimatik Hidrolizi Üzerine Etkisi

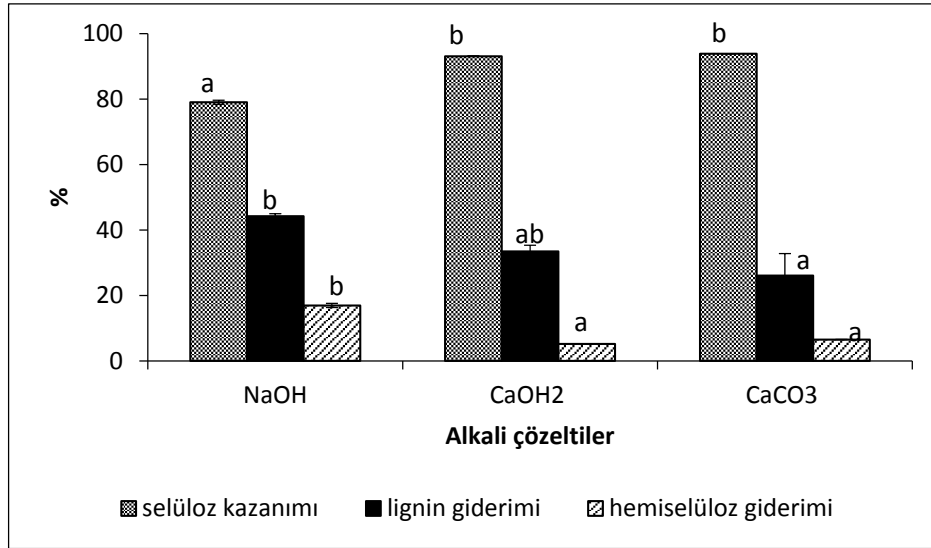
Lignin içeriği yüksek olan fındık kabuklarının lignin içeriğinin azaltılıp, selülozca zengin bir biyokütle elde edilmesi için alkali ön işlem uygulanması kaçınılmazdır. Alkali ön işlemde amaç sadece lignini azaltmak değil aynı zamanda biyokütlenin gözenekliliğinin artırılıp enzimatik hidroliz veriminin artırılmasıdır. Bu bölümde alkali çeşidinin ön işlem görmüş fındık kabuğunun enzimatik hidrolizi ve kimyasal bileşimi üzerindeki etkisi incelenmiştir. Bu amaçla hammaddeye %2,25 lik farklı alkaliler (NaOH, CaOH<sub>2</sub> ve CaCO<sub>3</sub>) ile 60<sup>0</sup>C'de, 1/10 katı/sıvı oranında, 30 dak ön işlem uygulanmıştır.

NaOH ile gerçekleştirilen ön işlemler sonucunda fındık kabuklarından elde edilen glikoz kazanımının, diğer alkaliler ile elde edilenlere oranla çok yüksek (yaklaşık 3 kat) olduğu görülmüştür (Şekil 4.34). NaOH, Ca(OH)<sub>2</sub> ve CaCO<sub>3</sub> ön işlemi sonucunda elde edilen glikoz verimleri sırasıyla %36,97, %13,91 ve %5,13 olarak bulunmuştur. Aynı etki sakkarifikasyon ve selüloz hidroliz verimi için de gözlenmiştir (Şekil 4.34). Buna göre kalsiyum hidroksit çözeltisi ile ön işlem sonucunda kalsiyum karbonat çözeltisine göre yaklaşık olarak % 60 daha fazla verim sağlanmıştır. NaOH çözeltisinden ise kalsiyum hidroksit çözeltisine göre % 20 daha fazla verim elde edilmiştir. NaOH ön işleminin diğer alkalilere göre selüloz kazanımının daha düşük olduğu görülmektedir (Şekil 4.35). Lignin gideriminin amaçlandığı alkali ön işleminde NaOH aynı koşullarda (60 °C sıcaklık, 1/10 katı/sıvı oranında, 30 dak) CaOH<sub>2</sub> ve CaCO<sub>3</sub>'e göre daha etkili olmuştur. NaOH ile %44,21 lignin giderimi sağlanırken CaOH<sub>2</sub> ile %33,46, CaCO<sub>3</sub> ile %26,07 lik lignin giderimi elde edilmiştir.

Sonuç olarak; çalışılan alkaliler içinde NaOH'in glikoz kazanımında en etkili alkali olduğu görülmüştür. Alkali çalışmalarına NaOH ile devam edilmiş düşük ve yüksek sıcaklık NaOH ön işlem parametrelerinin optimizasyonu gerçekleştirilmiştir.



**Şekil 4.34.** Alkali çeşidinin (%2,25, 60°C, 1/10 katı/sıvı, 30 dak) ön işlem uygulanmış fındık kabuklarının enzimatik hidrolizi sonucunda elde edilen glikoz kazanımı, sakkarifikasyon ve selüloz hidroliz verimi üzerine etkisi



**Şekil 4.35.** Alkali çeşidinin (%2,25, 60°C, 1/10 katı/sıvı, 30 dak) ön işlem uygulanmış fındık kabuklarının kimyasal bileşimi üzerine etkisi

#### **4.7 Düşük Sıcaklıklarda NaOH ile Yapılan Ön İşlemlerinin Fındık Kabuğunun Bileşimi ve Enzimatik Hidrolizi Üzerine Etkisi**

Bu bölümde, NaOH ile yapılan ön işlemlerde sıcaklık (30, 60 ve 90°C), zaman (30, 60, 120 dak), NaOH derişimi (%0,5, 2,25 ve 4,0, a/h) ve katı/sıvı (1/10, 1/20 ve 1/40) oranının fındık kabuğunun bileşimi ve enzimatik hidrolizi üzerine etkileri incelenmiştir.

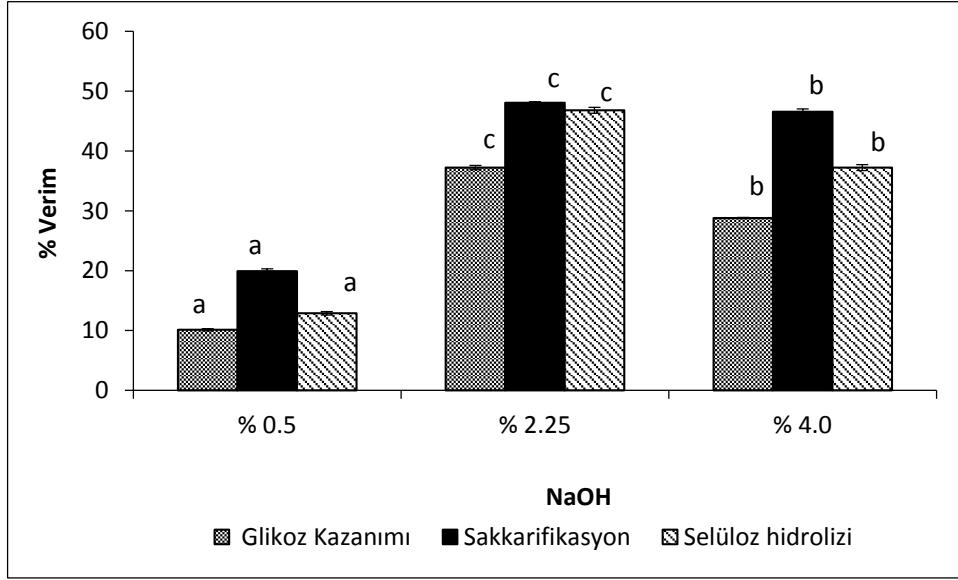
##### **4.7.1 Düşük sıcaklıklarda NaOH ile yapılan ön işlemlerinin fındık kabuğunun enzimatik hidrolizi üzerine etkisi**

Şekil 4.36'da 60 °C'de, 1/10 katı/sıvı oranında, 30 dak şartlarında yapılan ön işleminin glikoz kazanımı üzerine NaOH derişiminin etkisi verilmektedir. En yüksek glikoz kazanımına (%37,23) % 2,25 NaOH ile ulaşılmıştır. %0,5 NaOH ile elde edilen glikoz kazanımı ise sadece %10,12'dir. NaOH derişiminin %2,25 den %4 e arttırılması ile glikoz kazanımı %28,80 inmiştir (p<0,05), bunun sebebi ön işlem sırasında alkali derişiminin artması ile biyokütle gözenekliliğinde meydana gelen artış olabilir.

Sakkarifikasyon ve selüloz hidrolizi aynı koşullarda (60°C sıcaklık, 1/10 katı/sıvı oranında, 30 dak) NaOH derişiminin %0,5 den %2,25 e arttırılması ile sırasıyla 2,5 ve 4 kat artmıştır. Derişimin %4 e attırılması ile sakkarifikasyon ve selüloz hidroliz miktarı azalmıştır (Şekil 4.36).

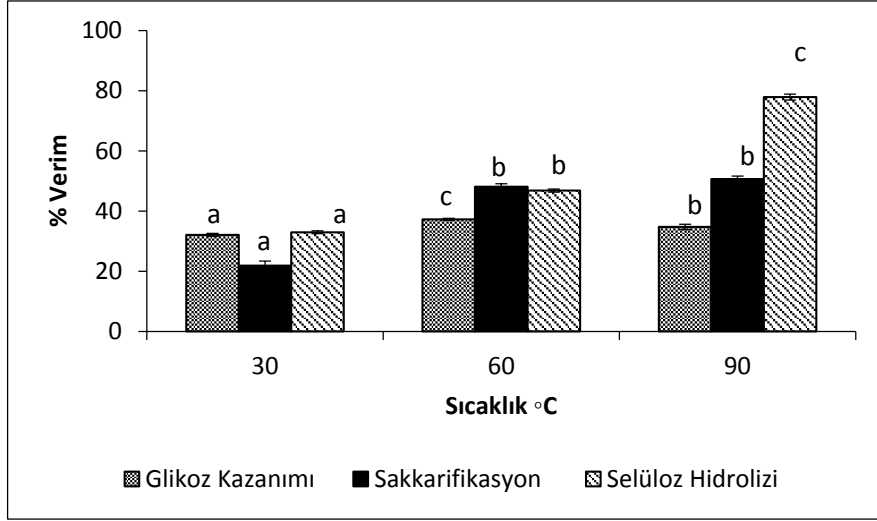
Şekil 4.37'de sıcaklığın %2,25 NaOH ile 1/10 katı/sıvı oranında, 30 dakikada ön işlemin glikoz kazanımı, sakkarifikasyon ve selüloz hidrolizi üzerine etkisi verilmektedir. Sıcaklığın 30 °C'den 60 °C ye arttırılması ile glikoz kazanımı %15 artmıştır (p<0,05). 60°C'de %37,23 ile en yüksek glikoz kazanımı değerine ulaşılmıştır (Şekil 4.43). Sıcaklığın 90°C'ye arttırılması ile glikoz kazanımı %8 oranında azalmıştır. Bunun sebebi sıcaklığın artması ile ön işlem sırasında selülozun glikoza dönüşmesi ve katı veriminin düşmesi şeklinde açıklanabilir. Sıcaklığın 30°C'den 60°C ye arttırılması ile selüloz hidrolizi ve sakkarifikasyon yüzdelерinde anlamlı (p<0,05) bir artış meydana gelmiştir. Sakkarifikasyon miktarı yaklaşık olarak 2,5 kat artarken, selüloz hidrolizi %50 oranında artmıştır (Şekil

4.37). Sıcaklığın 90°C'ye artırılması ile selüloz hidrolizi veriminde değişiklik olmazken ( $p>0,05$ ), toplam indirgen şekere bağlı sakkarifikasyon miktarında % 50 oranında bir artış meydana gelmektedir ( $p<0,05$ ).

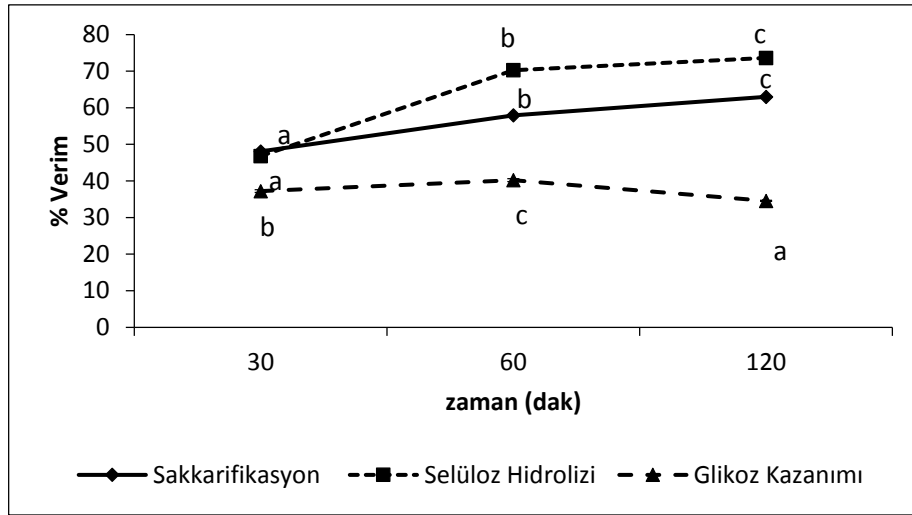


**Şekil 4.36.** NaOH derişiminin (60°C, 1/10, 30 dak) ön işlem uygulanmış fındık kabuklarının enzimatik hidrolizi sonucunda elde edilen glikoz kazanımı, sakkarifikasyon ve selüloz hidroliz verimi üzerine etkisi

%2,25 NaOH ile 1/10 katı/sıvı oranında, 60°C 'de ön işlem uygulanan fındık kabuklarının enzimatik hidrolizi sonucunda elde edilen glikoz kazanım yüzdesi 30 dakika sonunda % 37,23 iken 60 dakika sonunda % 40,22'ye yükselmiştir (Şekil 4.38). Ön işlem zamanının 60 dakikadan 120 dakikaya artması ile glikoz kazanımı tekrar düşmüştür (%34,56). Bunun sebebi ön işlem süresinde zamanın artması ile katı kazanımının düşmesi olarak açıklanabilir. Sakkarifikasyon yüzdeleri ise zamanla doğrusal artmaktadır (Şekil 4.38). Selüloz hidrolizi ise ön işlem süresinin 30 dakikadan 60 dakikaya yükseltilmesi ile verim %46,80'den %70,27'ye yükselmiştir ( $p<0,05$ ). Zamanının 120 dakikaya artırılması ile selüloz hidroliz veriminde %5 lik bir artış gözlenmiştir ( $p<0,05$ ). Sakkarifikasyon ve selüloz hidrolizinin zamanla artmasının sebebi, ön işlem süresiyle lignin çözünürlüğünün artmasına bağlı olarak enzimin selüloza ulaşılabilirliğinin artmasıdır.



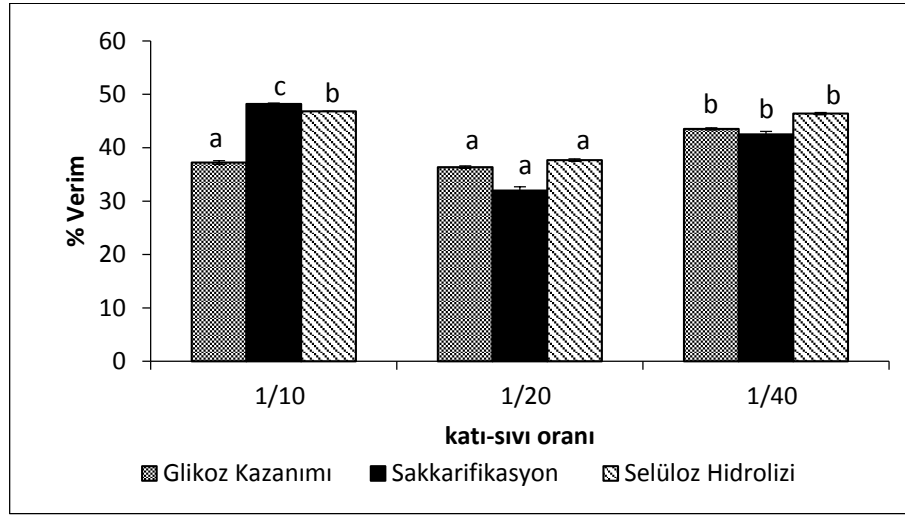
**Şekil 4.37.** NaOH ön işleminde sıcaklığın (%2,25 NaOH, 1/10, 30 dak) ön işlem uygulanmış fındık kabuklarının enzimatik hidrolizi sonucunda elde edilen glikoz kazanımı, sakkarifikasyon ve selüloz hidroliz verimi üzerine etkisi



**Şekil 4.38.** NaOH ön işleminde zamanının (%2,25 NaOH, 1/10, 60°C) ön işlem uygulanmış fındık kabuklarının enzimatik hidrolizi sonucunda elde edilen glikoz kazanımı, sakkarifikasyon ve selüloz hidroliz verimi üzerine etkisi

%2,25 NaOH ile 30 dakika, 60°C sıcaklıkta yapılan ön işleminde katı/sıvı oranının 1/10 dan 1/20'ye değişmesi glikoz kazanımına etkilememiştir ( $p>0,05$ ). Ancak katı/sıvı oranının 1/40'a düşmesi ile glikoz verimi %36,36'dan %43,53'e artmıştır (Şekil 4.39). Şekil 4.39'da katı/sıvı oranının 1/10 dan 1/20 ye değiştirilmesi ile sakkarifikasyon ve selüloz hidroliz miktarında bir şekilde azalma

meydana gelmesine rağmen 1/40 katı oranında yine 1/10 oranı verilerine ulaşılmıştır. Sakkarifikasyon ve Selüloz hidrolizi veriminin 1/10 katı/sıvı sırası %51,67 ve %46,80 olduğu gözlenmiştir (Şekil 4.39). Birim katı başına düşen çözelti miktarı arttıkça (katı/sıvı oranı düştükçe) kimyasal kompozisyonunda ve lignin gideriminde önemli bir değişiklik olmamasına rağmen enzimin biyokütle içerisindeki etkinliği artmaktadır.



**Şekil 4.39.** NaOH ön işleminde katı/sıvı oranının (%2,25 NaOH, 60 °C, 30 dak) ön işlem uygulanmış fındık kabuklarının enzimatik hidrolizi sonucunda elde edilen glikoz kazanımı, sakkarifikasyon ve selüloz hidroliz verimi üzerine etkisi

#### 4.7.2 Düşük sıcaklıklarda NaOH ile yapılan ön işlemlerin fındık kabuğunun kimyasal bileşimi üzerine etkisi

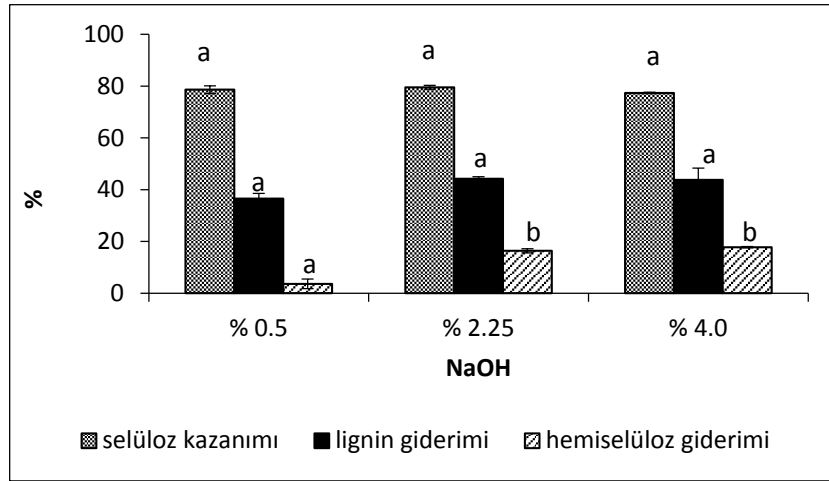
NaOH derişiminin (% a/h) lignin giderimi üzerine istatistiksel olarak anlamlı bir etkisinin olmadığı görülmüştür (Şekil 4.49). Aynı ön işlem koşullarında (60 °C, 1/10, 30 dak) NaOH derişimi selüloz kazanımına'da etki etmemiştir ( $p>0,05$ ). Sıcaklığın lignin giderimine ve buna bağlı olarak selüloz kazanımına etkisi açıkça görülmektedir (Şekil 4.40).

Sıcaklık ile çözünürlüğün arttığı bilinmektedir. Alkali ön işleminde sıcaklığın artması (%2,25 NaOH, 1/10, 30 dak) ile selüloz kazanımı lineer olarak azalırken lignin giderimi ise artmıştır ( $p<0,05$ ). 30 °C sıcaklıkta uygulanan ön işlem

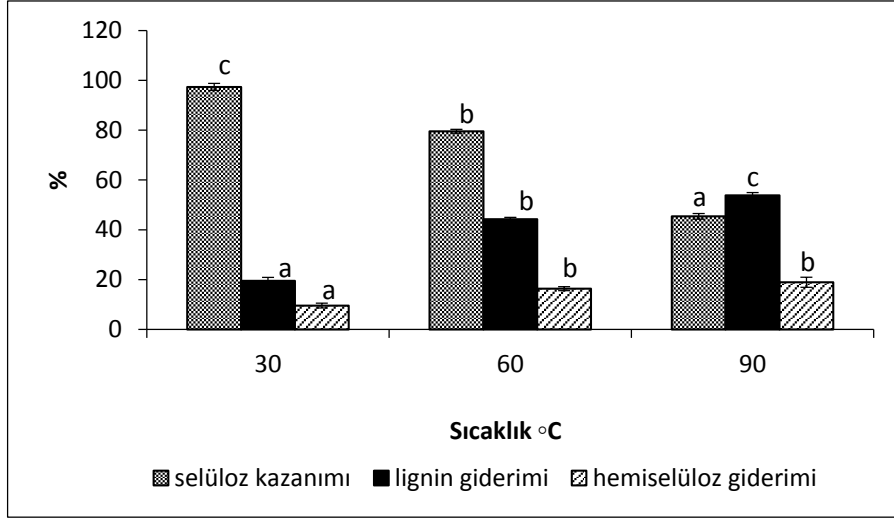
sonucunda selüloz kazanımı %97,35 iken sıcaklığın 60°C'ye artırılması ile selüloz geri kazanımı %79,54'e ve 90 °C'de ise %45,43'e düşmüştür. Lignin giderimi ise buna paralel olarak artmış ve 90 °C sıcaklıkta %53,84 olarak elde edilmiştir. Ön işlem zamanı ile selüloz kazanımının azaldığı gözlemlenmektedir (Şekil 4.41).

%2,25 NaOH, 1/10, 60 °C ön işlem koşullarında zamana bağlı olarak selüloz çözünürlüğünün arttığı (p<0,05)görülmektedir (Şekil 4.42). Lignin giderimi ise ön işlem süresinin 30 dak'dan 60 dakaya artırılması ile yaklaşık olarak %10 oranında artmış olup, 120 dak ise değişmemiştir (p<0,05).

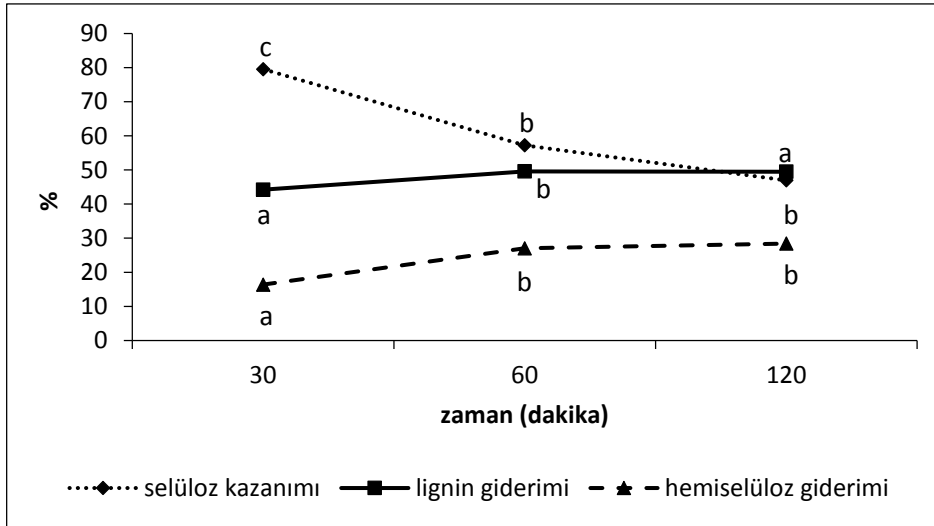
Katı/sıvı oranının (%2,25 NaOH, 30 dak, 60 °C) lignin giderimi üzerine anlamlı (p>0,05) bir etkisi olmadığı görülmektedir (Şekil 4.43). Ancak, selüloz kazanımı 1/20 katı/sıvı oranında en yüksek değere (%96,51) ulaşmıştır. Hemiselüloz giderimi ise birim katı başına çözelti miktarınının 10'dan 20'ye artması ile %100, 40'a artmasıyla da yaklaşık %150 artmıştır



**Şekil 4.40.** NaOH derişiminin (60°C, 1/10, 30 dak) ön işlem uygulanmış fındık kabuklarının kimyasal bileşimi üzerine etkisi

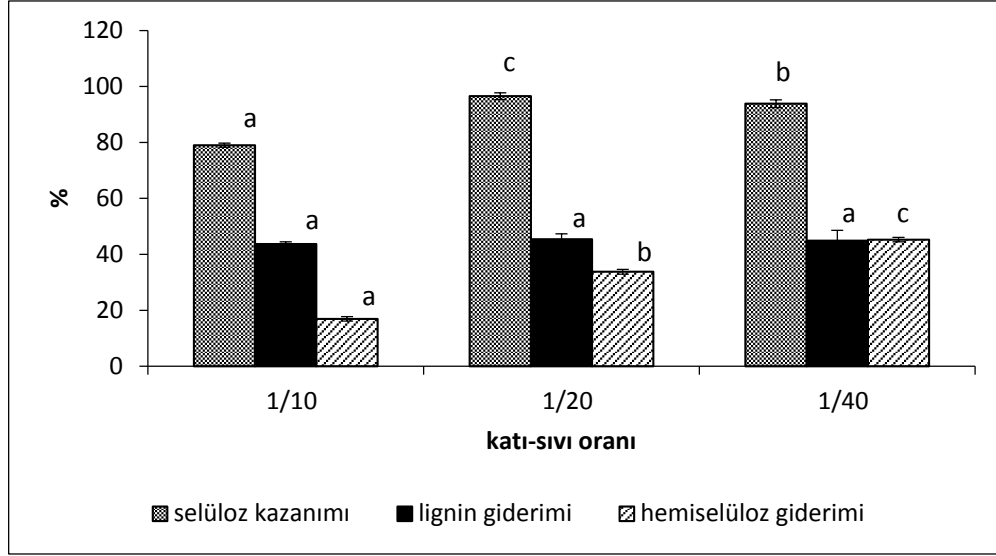


**Şekil 4.41.** NaOH ön işleminde (%2,25 NaOH, 1/10, 30 dak) sıcaklığın ön işlem uygulanmış fındık kabuklarının kimyasal bileşimi üzerine etkisi



**Şekil 4.42.** NaOH ön işleminde (%2,25 NaOH, 1/10, 60°C) zamanın ön işlem uygulanmış fındık kabuklarının kimyasal bileşimi üzerine etkisi





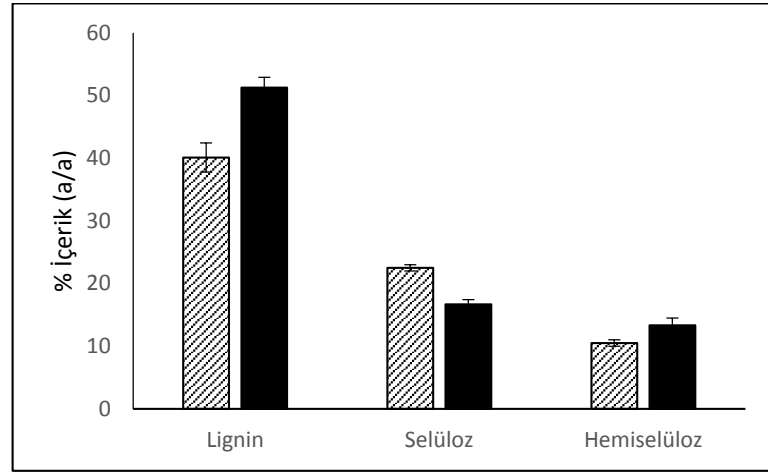
**Şekil 4.43** NaOH ön işleminde (%2,25 NaOH, 60 °C, 30 dak) katı/sıvı oranının ön işlem uygulanmış fındık kabuklarının kimyasal bileşimi üzerine etkisi

#### 4.7.3. Düşük sıcaklıklarda NaOH ile yapılan ön işlem prosesinde kütle denklığı

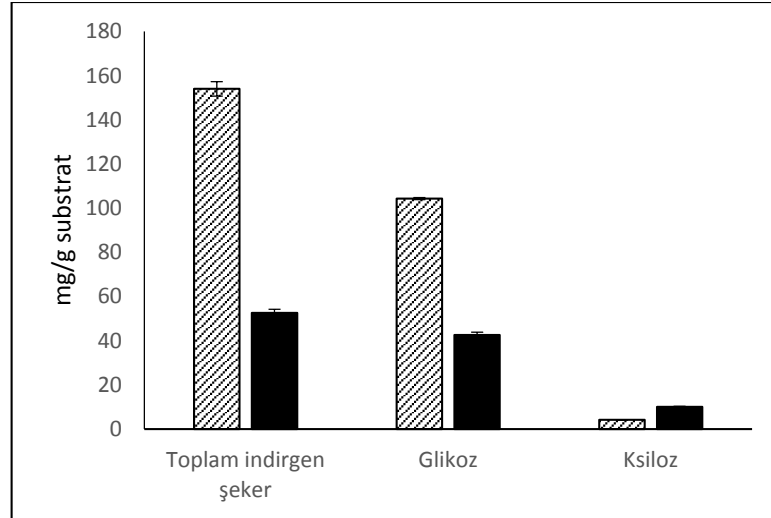
Lignin gideriminin gerçekleştirilip selülozca zengin bir ve enzimin selüloza kolayca ulaşabildiği gözenekli bir yapı elde etmek amacıyla uygulanan düşük sıcaklık NaOH ön işleminde 60°C, 1/40 katı/ sıvı, 30 dak ve %2,25 NaOH proses koşullarının maksimum glikoz veriminin elde edildiği koşullar olduğu görülmüştür. Bu koşullarda fındık kabuklarına tekrar ön işlem uygulanmış ve katı bileşimi, ön işlem sıvısının bileşimi ve elde edilen şeker miktarları hesaplanmıştır. Bu değerler ön işlem prosesinde kütle ve enerji denkliklerinin kurulmasında kullanılmıştır.

60°C, 1/40 katı/sıvı, 30 dak ve %2,25 NaOH ön işlem şartlarında fındık kabuklarının lignin içeriği %40'a hemiselüloz içeriği % 10,5'e azaltılırken, selüloz içeriği % 22,5'e arttırılmıştır (Şekil 4.44). Bu şartlarda ön işlem uygulanmış fındık kabuklarının enzimatik hidrolizi sonucunda her bir gram kuru ön işlem görmüş hammadde başına elde edilen toplam indirgen şeker miktarı 154,04 mg, glikoz miktarı 104,33 mg, ksiloz miktarı ise 4,18 mg'dır (Şekil 4.45). Ön işlem sıvılarında 5,48 mg/mL glikoz ve 1,22 mg/mL hidrosimetil furfural elde belirlenmiştir (Şekil 4.46).

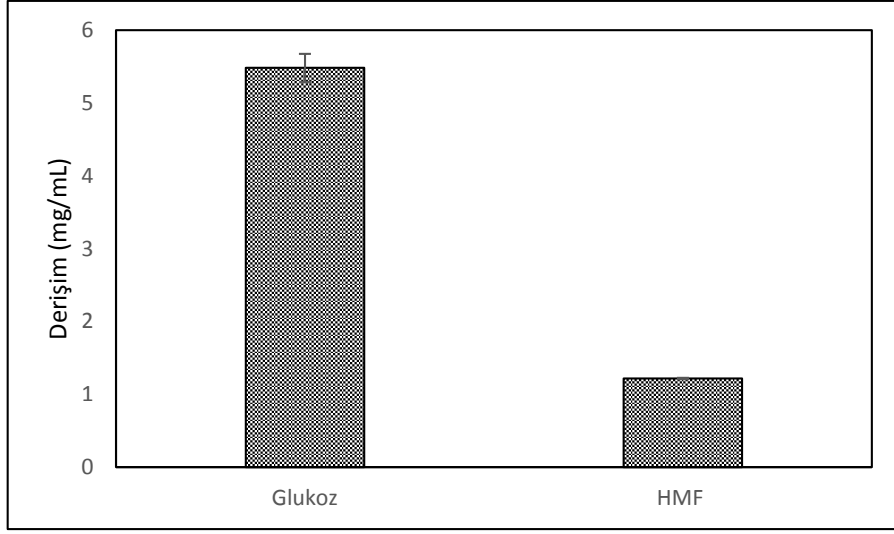
60°C, 1/40 katı/sıvı, 30 dak ve % 2,25 NaOH ön işlemlerinin prosedürü kütleye eşdeğer Şekil 4.47’de gösterilmiştir. Bu prosedür sonucunda 100 g fıncık kabuğundan 7,36 g glikoz, 0.29 g da ksiloz elde edilmiştir. Aynı koşullarda (60°C, 1/40 katı/sıvı, 30 dak ve %2,25 NaOH ) uygulanan su buharı ön işlemlerinin için kurulan enerji eşdeğeri sonucunda ise elde edilen her bir gram glikoz başına 133,38 kJ enerji harcanmıştır (şekil 4.48).



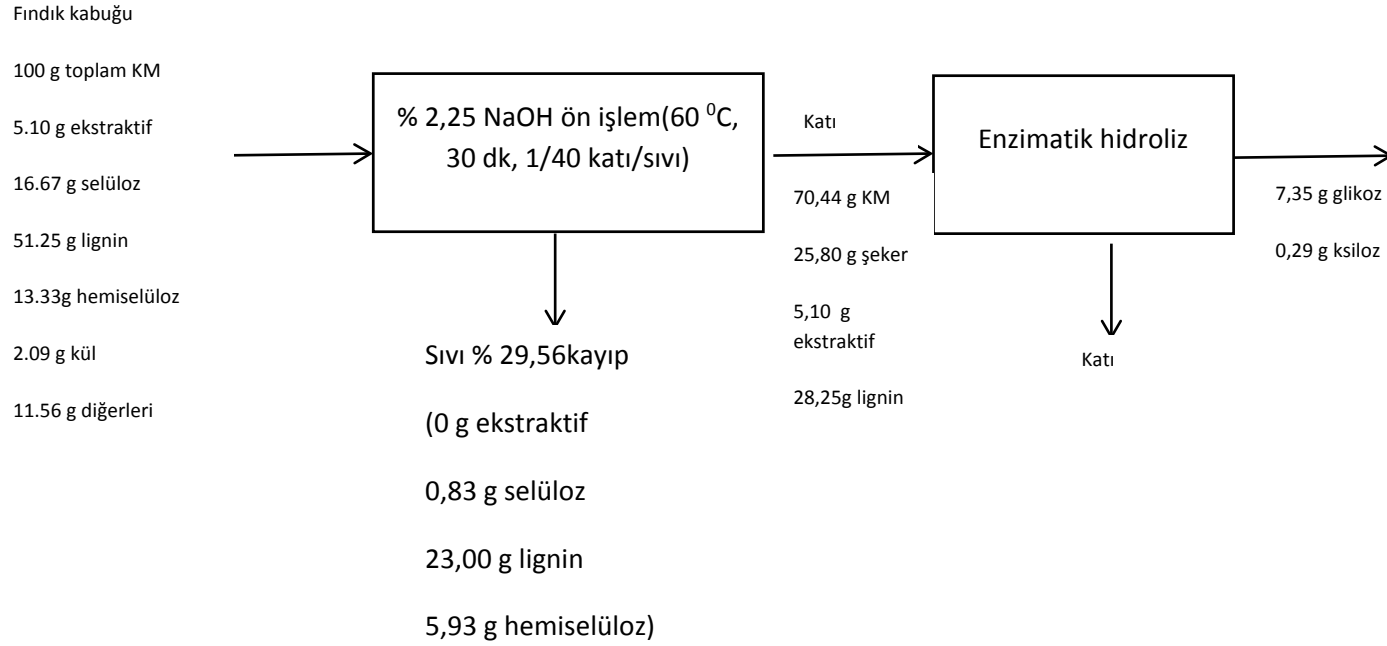
**Şekil 4.44** 60 °C, 1/40 katı/sıvı, 30 dak % 2,25 NaOH ön işlem uygulanmış fıncık kabuklarının kimyasal bileşimi ( ▨ ÖN işlem uygulanmış fıncık kabuğu, ■ Ham fıncık kabuğu)



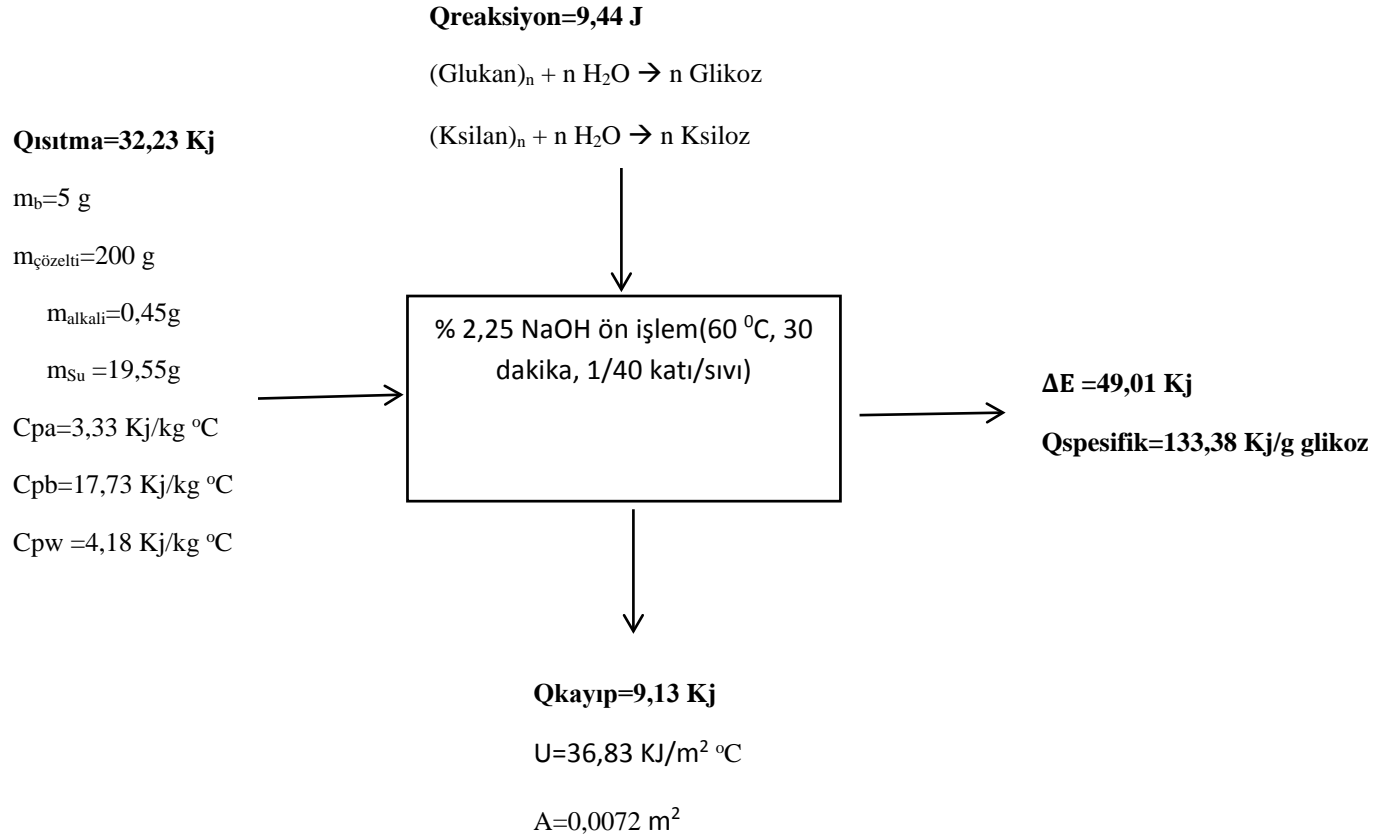
**Şekil 4.45.** 60°C, 1/40 katı/sıvı, 30 dak %2,25 NaOH ön işlem uygulanmış fıncık kabuklarının enzimatik hidrolizi sonucunda elde edilen şeker miktarları ( ▨ ÖN işlem uygulanmış fıncık kabuğu, ■ Ham fıncık kabuğu)



**Şekil 4.46.** 60°C, 1/40 katı/sıvı, 30 dak %2,25 NaOH ön işlem ön işlem sıvısının kimyasal bileşim



**Şekil 4.47.** 60°C, 1/40 katı/sıvı, 30 dak ve %2,25 NaOH şartlarında işlem uygulanmış fındık kabuklarının enzimatik hidroliz sonrasındaki kütle denklığı



**Şekil 4.48.** %2,25 NaOH ön işlem(60°C, 30 dak, 1/40 katı/sıvı) ön işlem uygulanmış fındık kabuklarının enerji denkliği

#### **4.8 Yüksek Sıcaklıklarda NaOH ile Yapılan Ön İşlemlerinin Fındık Kabuğunun Bileşimi ve Enzimatik Hidrolizi Üzerine Etkisi**

Düşük sıcaklıkta uygulanan NaOH ön işlemi ile etkin bir lignin giderimi ve glikoz kazanımı elde edilmediği için fındık kabuklarına yüksek sıcaklık NaOH ön işlemi uygulanmış ve ön işlemlerde sabit katı/sıvı (1/10) oranında sıcaklık (120-150- 180°C), zaman (30, 60, 120 dak), NaOH derişiminin (%0,5-2,25-4,0, a/h) fındık kabuğunun bileşimi ve enzimatik hidrolizi üzerine etkileri incelenmiştir.

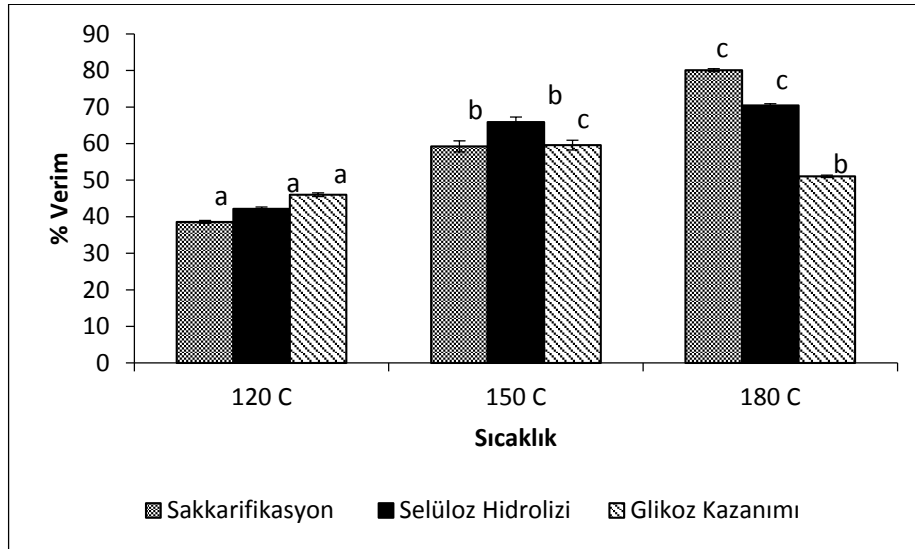
##### **4.8.1 Yüksek sıcaklıklarda NaOH ile yapılan ön işlemlerin enzimatik hidrolizi üzerine etkisi**

% 2,25 NaOH ile 1/10 katı/sıvı oranında 30 dak şartları sabit tutularak sıcaklığın glikoz kazanımı üzerine etkisinin incelendiği çalışma sonucunda, sıcaklığın 120 °C'den 150°C'ye arttırılması ile glikoz kazanımı %46,02'den %59,57'ye artırıldığında. Sıcaklığın 180 °C'ye arttırılması ile glikoz kazanımı %50,82 'ye düşmüştür, bunun sebebi sıcaklığın artması ile lignin gideriminin artmasına rağmen selüloz kazanımının düşmesidir (Şekil 4.49). Aynı şartlarda sakkarifikasyon ve selüloz hidrolizinin sıcaklık ile arttığı gözlemlenmektedir ( $p<0,05$ ). 180°C ön işlem sıcaklığında en yüksek sakkarifikasyon ve selüloz hidroliz verimi elde edilmiştir. Sırasıyla bu koşullarda elde edilen sakkarifikasyon ve selüloz hidroliz verimi %65,21 ve %70,12 dir (Şekil 4.49). selüloz hidroliz ve sakkarifikasyon ön işlem uygulanmış biyokütlenin özelliklerine bağlı olduğu için yüksek sıcaklıkta selülozca zengin, lignin oranı düşük biyokütle elde edilmesidir.

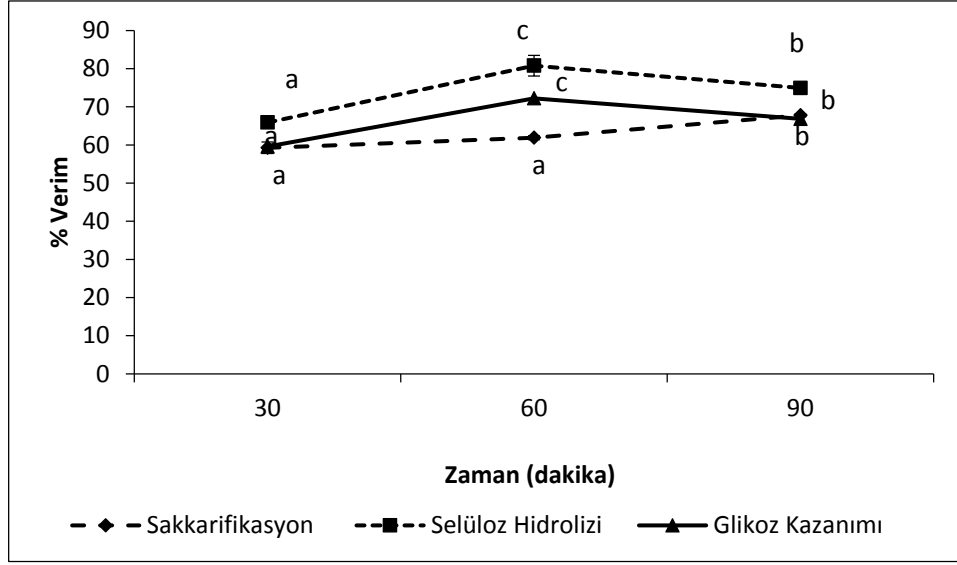
% 2,25 NaOH çözeltisi ile 150°C'de, 1/10 katı/sıvı oranında ön işlem uygulanmış fındık kabuklarının enzimatik hidrolizi sonucunda elde edilen glikoz kazanımı ön işlem zamanının 30 dakikadan 60 dakikaya arttırılması ile % 59,57 den %72,22'ye yükselmiştir (Şekil 4.50). Ön işlem süresinin 90 dakikaya artması ile selüloz ve katı madde çözünürlüğünde arttığı için glikoz kazanımı %66,84'e yükselmiştir. Bu şartlarda selüloz hidroliz verimi 60 dakika sonunda maksimum değere ulaşmıştır (%80,78). Sakkarifikasyon verimi ise ön işlem zamanı 30 dakikadan 60 dakikaya çıkarıldığında anlamlı ( $p>0,05$ ) bir artış göstermezken ön

işlem zamanı 90 dakika ya yükseltildiğinde artarak ( $p<0,05$ ) % 67,52 miktarına ulaşmıştır (Şekil 4.50).

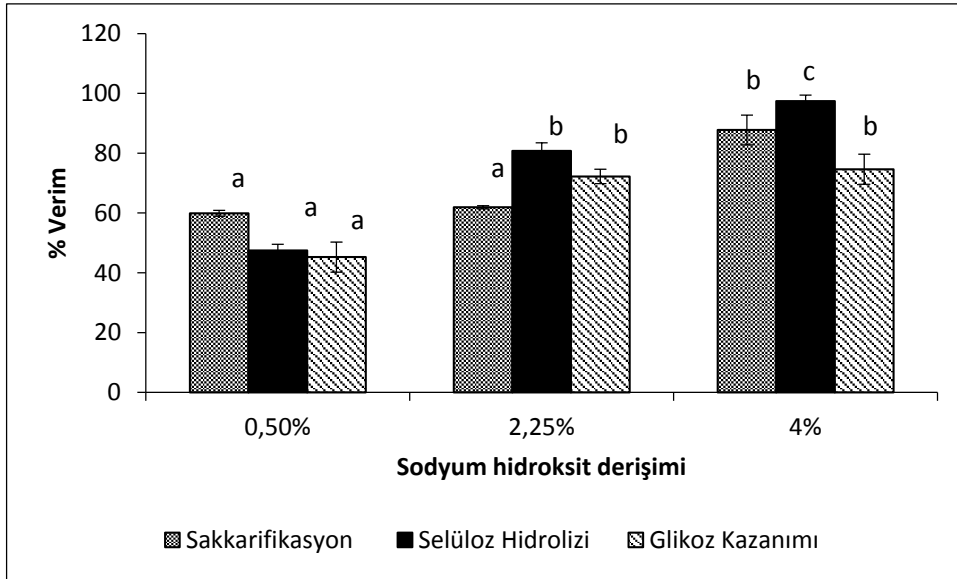
Ön işlem sırasında kullanılan NaOH derişimi aynı koşullarda (150 °C, 1/10 katı/sıvı, 60 dak) fındık kabuklarından enzimatik hidroliz sonucunda elde edilen glikoz verimi üzerinde etkili olmuştur (Şekil 4.51). NaOH derişiminin %0,5'den %2,25'e yükseltilmesi ile verim %45,26'dan %72,22 ye yükselmiştir. Derişim %4 olduğunda ise verim %74,62'ye yükselmiştir. Şekil 4.51'de selüloz hidrolizi NaOH derişimi ile doğrusal olarak olarak. Toplam şeker miktarına bağlı olan sakkarifikasyon ise alkali konsantrasyonunun %2,25'den %4'e artması ile yaklaşık olarak %40 oranda artmıştır. 150 °C'de, 1/10 katı/sıvı oranında, 60 dakika %4 NaOH çözeltisi ile en yüksek selüloz hidrolizi (%97,41) ve sakkarifikasyon (%87,75) verimlerine ulaşılmıştır. Alkali derişimin artması ile lignin giderimi artarken selüloz çözünürlüğünde artmaktadır. Bu yüzden glikoz kazanımında anlamlı bir artış meydana gelmezken, selülozca zengin bir katı elde edildiği için sakkarifikasyon değeri derişim ile artmaktadır.



**Şekil 4.49.** Yüksek sıcaklık NaOH ön işleminde (%2,25 NaOH, 1/10, 30 dak) sıcaklığın ön işlem uygulanmış fındık kabuklarının enzimatik hidrolizi sonucunda elde edilen glikoz kazanımı, sakkarifikasyon ve selüloz hidroliz verimi üzerine etkisi



**Şekil 4.50.** Yüksek sıcaklık NaOH ön işleminde (%2,25 NaOH, 1/10, 150°C) zamanın ön işlem uygulanmış fındık kabuklarının enzimatik hidrolizi sonucunda elde edilen glikoz kazanımı, sakkarifikasyon ve selüloz hidroliz verimi üzerine etkisi

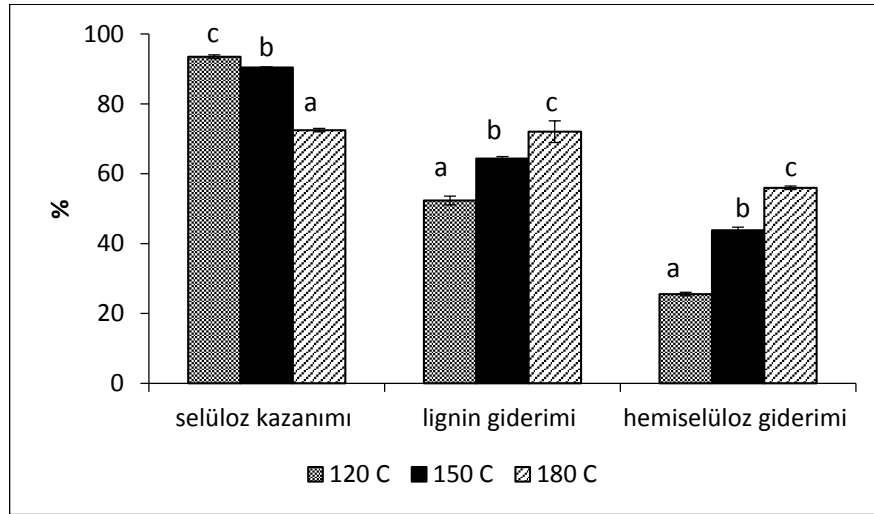


**Şekil 4.51.** Yüksek sıcaklık NaOH ön işleminde (150°C, 1/10, 60 dak) NaOH derişiminin ön işlem uygulanmış fındık kabuklarının enzimatik hidrolizi sonucunda elde edilen glikoz kazanımı, sakkarifikasyon ve selüloz hidroliz verimi üzerine etkisi

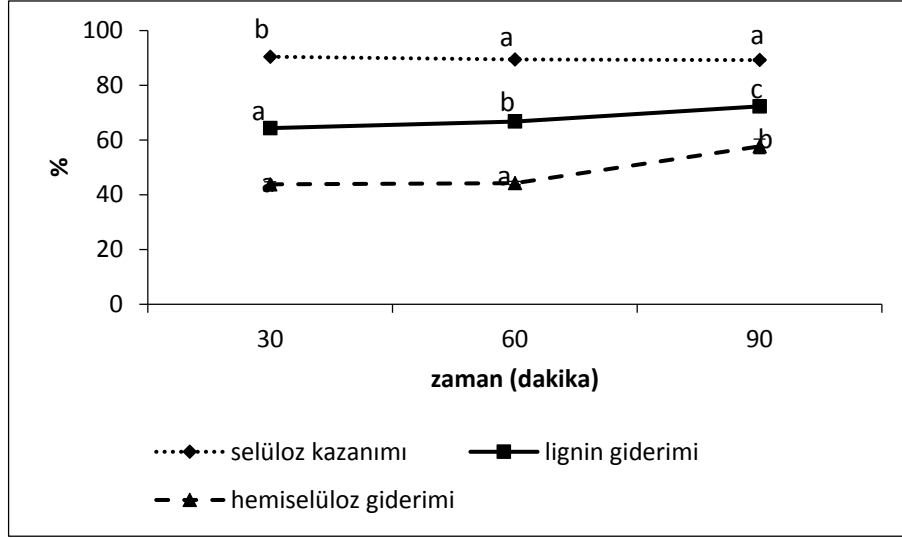


#### 4.8.2 Yüksek sıcaklıklarda NaOH ile yapılan ön işlemlerinin fındık kabuğunun kimyasal bileşimi üzerine etkisi

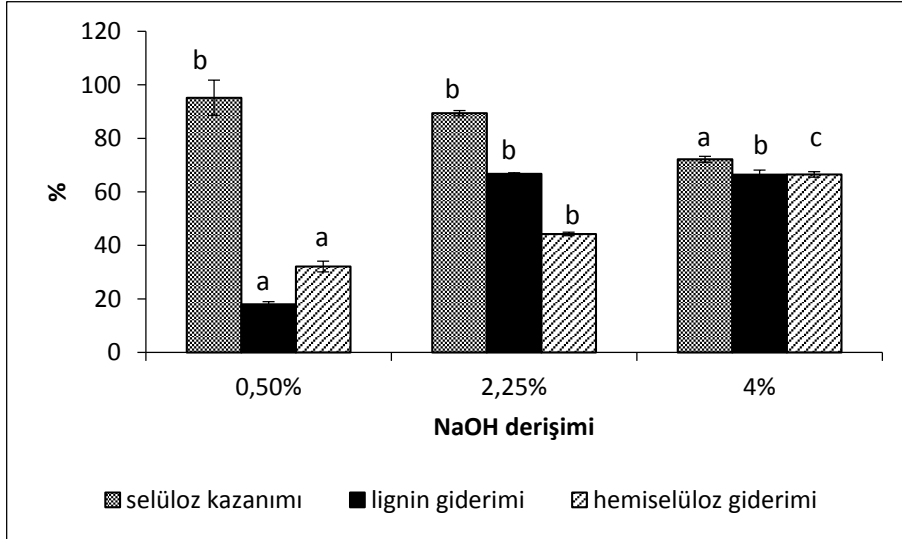
% 2,25 NaOH ile 30 dak, 1/10 katı/sıvı oranında ön işlem uygulanmış fındık kabuklarının içerdiği selüloz, lignin ve hemiselülozun çözünürlüğü sıcaklık ile arttığı görülmektedir. Lignin giderimi 180 °C'de %72,02 ile en yüksek değere ulaşmıştır (Şekil 4.52). Zaman çözünürlükte beklendiği gibi doğrusal bir etki meydana getirmiştir. % 2,25 NaOH ile 150 °C'de, 1/10 katı/sıvı ön işleminde selüloz, lignin ve hemiselüloz çözünürlüğü zamanla artmıştır (Şekil 4.53). Bu koşullarda en yüksek lignin giderimi %72,28 ile 90 dakika sonunda elde edilmiştir. 150 °C, 1/10 katı/sıvı oranında, 60 dak, % 0,5 NaOH ile ön işlem uygulanan fındık kabuklarının içerdiği lignin çözünürlüğü oldukça düşüktür (%17,99). NaOH derişimi %2,25'e artırıldığında ise lignin giderimi %67,02'ye yükselmiştir (Şekil 4.65). Ancak alkali konsantrasyonu daha artırarak (%4) uygulanan ön işlem ile lignin gideriminde anlamlı ( $p < 0,05$ ) bir değişiklik gözlemlenmemiştir (şekil 4.54).



Şekil 4.52. Yüksek sıcaklık NaOH ön işleminde (%2,25 NaOH, 1/10, 30 dak) sıcaklığın ön işlem uygulanmış fındık kabuklarının kimyasal bileşimleri üzerine etkisi



Şekil 4.53. Yüksek sıcaklık NaOH ön işleminde (%2,25 NaOH, 1/10, 150°C) zamanın ön işlem uygulanmış fındık kabuklarının kimyasal bileşimleri üzerine etkisi



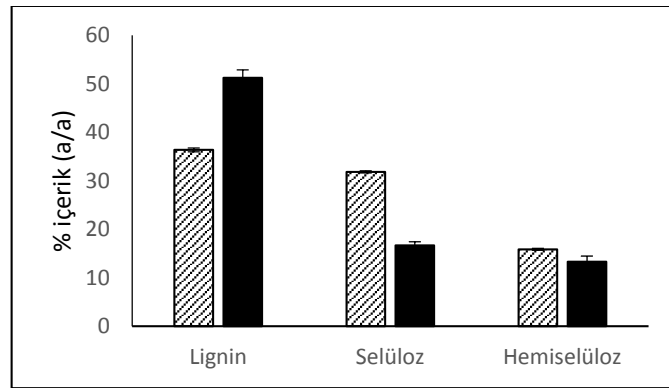
Şekil 4.54. Yüksek sıcaklık NaOH ön işleminde (150°C, 1/10, 30 dak) NaOH derişiminin ön işlem uygulanmış fındık kabuklarının kimyasal bileşimleri üzerine etkisi

#### 4.8.3. Yüksek sıcaklıklarda NaOH ile yapılan ön işlem prosesinde kütle denklığı

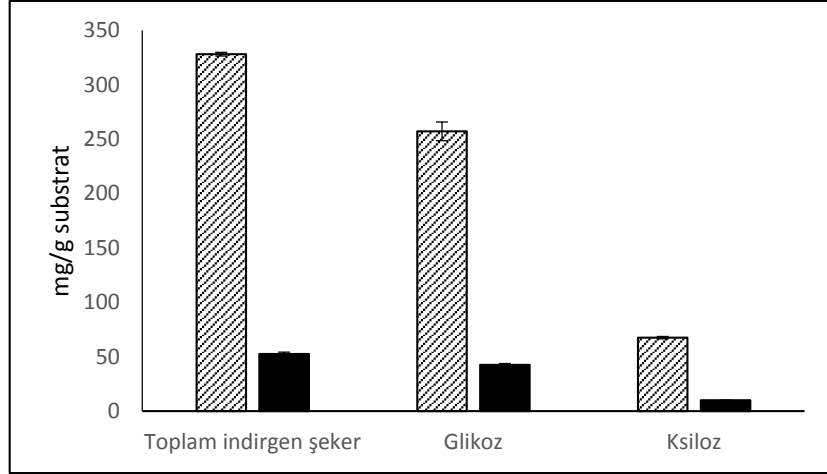
Fındık kabuğuna uygulanan yüksek sıcaklık NaOH ön işleminde, 150 °C, 1/10 katı/sıvı oranı, %2,25 NaOH ve 60 dakika proses koşullarının maksimum glikoz veriminin elde edildiği koşullar olduğu görülmüştür. Benzer koşullar farklı araştırmacılar tarafından da elde edilmiştir.

Bu koşullarda fındık kabuklarına tekrar ön işlem uygulanmış ve katı bileşimi, ön işlem sıvısının bileşimi ve elde edilen şeker miktarları hesaplanmıştır. Bu değerler ön işlem prosesinde kütle ve enerji denkliklerinin kurulmasında kullanılmıştır. Bu şartlarda lignin iğeriği, selüloz yüzdesi %31,83'e yükselirken, hemiselüloz ve lignin iğeriği ise sırasıyla %15,87 ve %36'ya düşürölmüştür. (şekil 4.55). şekil 56'da ise fındık kabuklarının enzimatik hidrolizi sonucunda elde edilen şeker miktarları verilmiştir. Toplam indirgen şeker miktarının her bir gram kuru ön işlem görmüş hammadde başına 328,84 mg, glikoz miktarı 257,13 mg, ksiloz miktarı ise 67,59 mg'dır. Bu proseste elde edilen ön işlem sıvılarında 3,90 mg/mL asetik asit ve 1,23 mg/mL derişiminde gliserol olduğu görölmüştür. Ayrıca bu ön işlem sonucunda sellobiyoz, glikoz, ksiloz, Hidroksi metil furfural (HMF) ve furfural da elde edilmiştir (şekil 4.57).

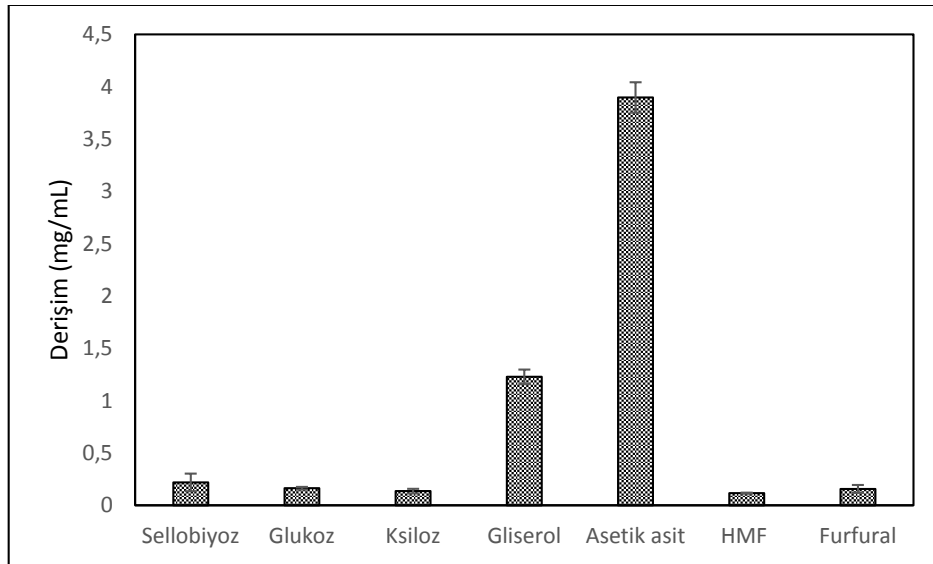
150 °C, 1/10 katı/sıvı oranı, % 2,25 NaOH ve 60 dakika proses koşullarında kurulan kütle denkliği şekill 4.58'de gösterilmiştir. Bu proses sonucunda 100 g fındık kabuğundan 12,04 g glikoz, 3,17 g da ksiloz elde edilmiştir. Aynı koşullarda (150°C, 1/10 katı/sıvı oranı, %2,25 NaOH ve 60 dakika) uygulanan sodyum hidroksit ön işlemi için kurulan enerji denkliği sonucunda ise elde edilen her bir gram glikoz başına 181,37 kJ enerji harcanmıştır (şekil 4.59).



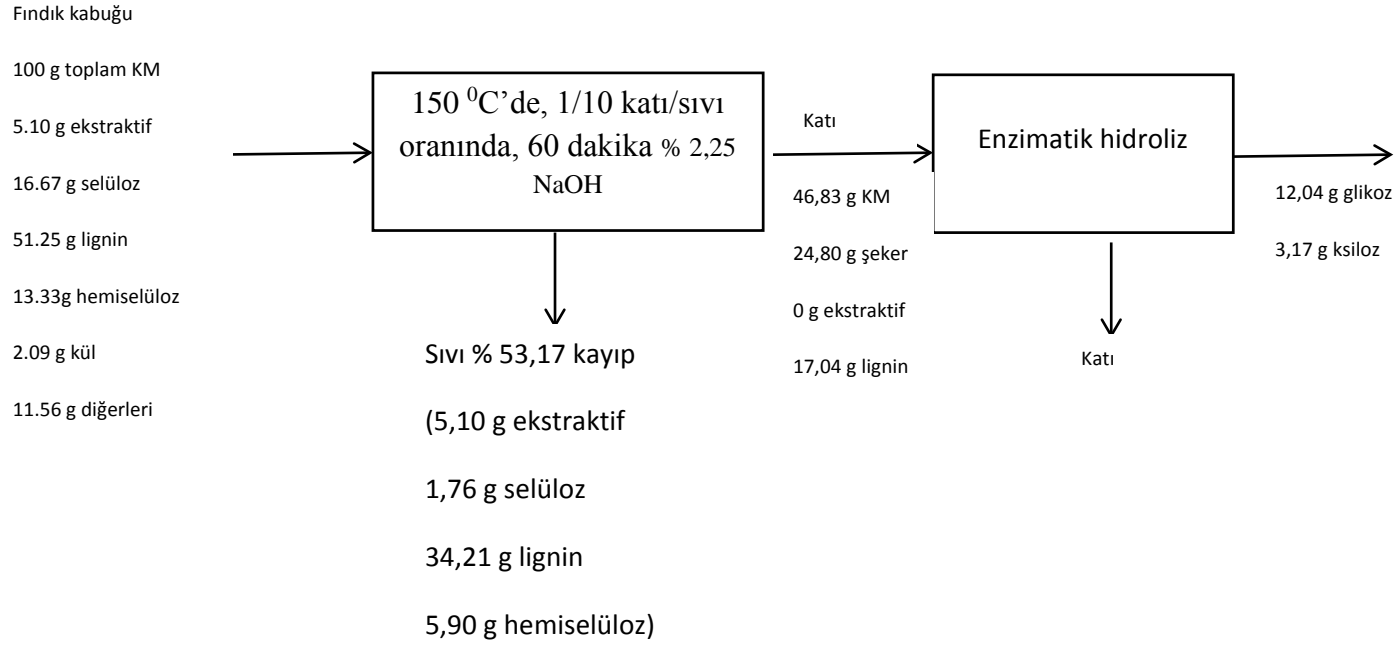
**şekil 4.55.** 150°C, 1/10 katı/sıvı, 60 dak ve %2,25 NaOH ön işlem uygulanmış fındık kabuklarının kimyasal bileşimi ( ▨ Ön işlem uygulanmış fındık kabuğu, ■ Ham fındık kabuğu)



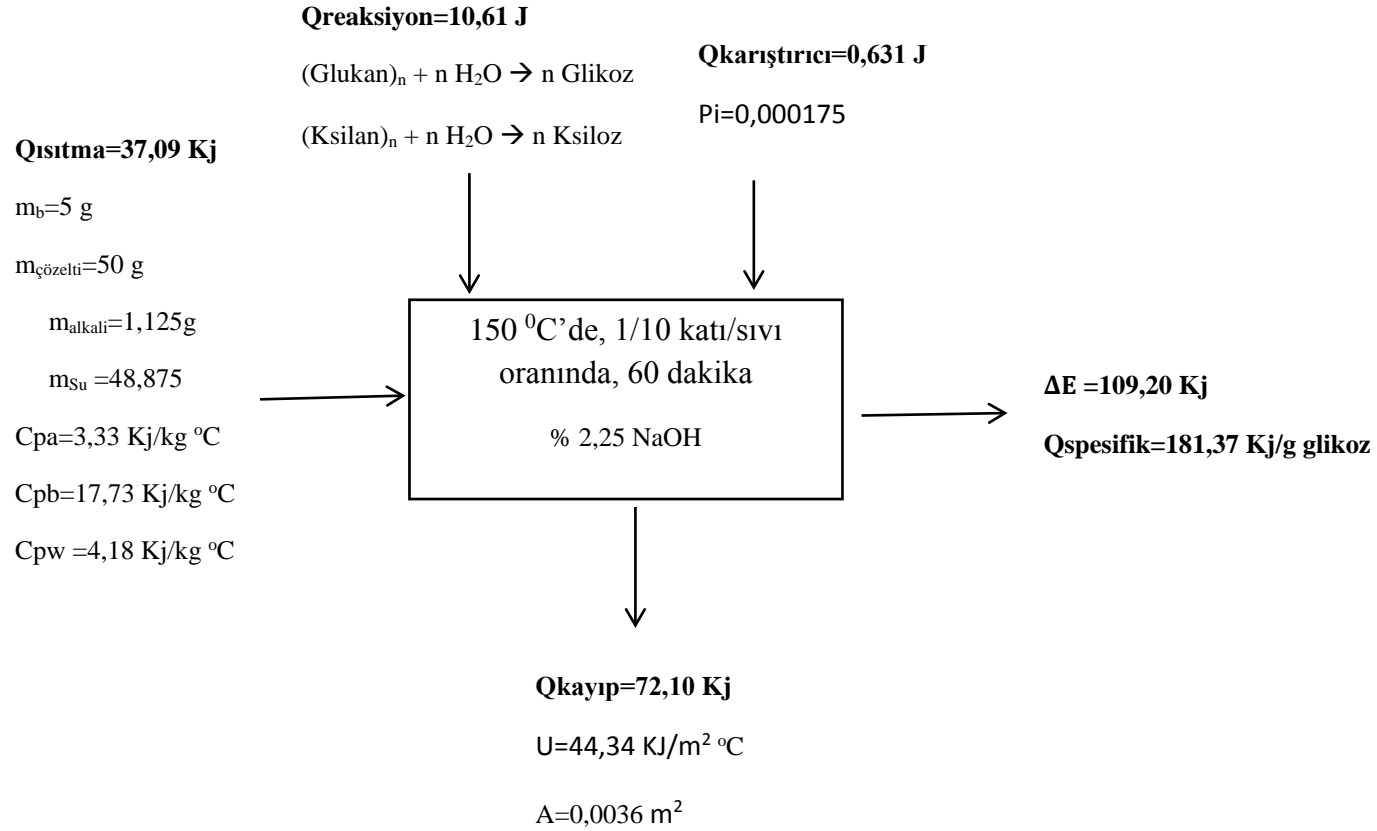
**Şekil 4.56.** 150<sup>0</sup>C, 1/10 katı/sıvı, 60 dak ve %2,25 NaOH ön işlem uygulanmış fındık kabuklarının enzimatik hidrolizi sonucunda elde edilen şeker miktarları (▨ Ön işlem uygulanmış fındık kabuğu, ■ Ham fındık kabuğu)



**Şekil 4.57.** 150<sup>0</sup>C, 1/10 katı/sıvı, 60 dak ve %2,25 NaOH ön işlemi sonunda elde edilen ön işlem sıvısının kimyasal bileşimi



Şekil 4.58. 150°C, 1/10 katı/sıvı, 60 dak ve % 2,25 NaOH şartlarında ön işlem uygulanmış fındık kabuklarının enzimatik hidroliz sonrasındaki kütle denklığı



**Şekil 4.59** 150°C' de, 1/10 katı/sıvı oranında, 60 dakika % 2,25 NaOH ile ön işlem uygulanmış fındık kabuklarının enerji denkliği

## 4.9 Düşük Sıcaklık Uzun Zaman NaOH Ön İşlemlerinin Fındık Kabuğunun Bileşimi ve Enzimatik Hidrolizi Üzerine Etkisi

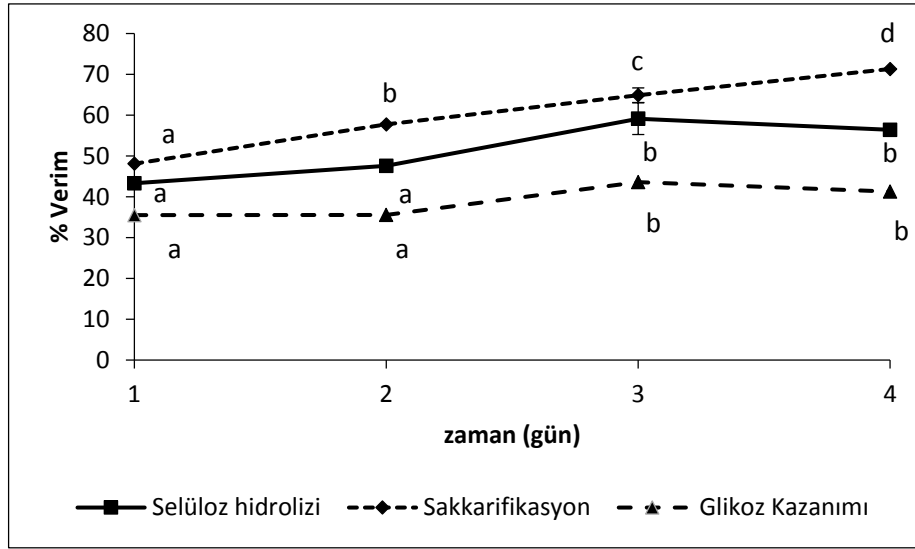
Yüksek sıcaklıkta etkin bir lignin giderimi ve enzimatik hidroliz verimi elde edildikten sonra enerji maliyetlerini düşürebilmek için düşük sıcaklıkta uzun zaman alkali ön işlemin etkinliği araştırılmıştır. Bu bölümde, 30 °C sıcaklıkta NaOH ile yapılan ön işlemlerde, zamanın (1,2,3,4 gün), NaOH derişiminin (%2, %4, %6, %8 ve %10, a/h) ve katı/sıvı oranının (1/5, 1/10, 1/20 ve 1/40) ön işlem görmüş fındık kabuğunun bileşimi ve enzimatik hidrolizi üzerine etkileri incelenmiştir.

### 4.9.1 Düşük sıcaklık uzun zaman NaOH ön işlemlerinin enzimatik hidrolizi üzerine etkisi

%2 NaOH ile 1/10 katı/sıvı oranında, 30°C de ön işlem zamanının ön işlem uygulanmış fındık kabuklarının enzimatik hidrolizi sonucunda elde edilen glikoz kazanımı sonucunda, 3. gün sonunda maksimum glikoz geri kazanımı elde edilmiş (%43,58) 4. gün sonunda ise selüloz çözünürlüğünün artması sebebi ile elde edilen glikoz kazanımı %41,28'e düşmüştür (Şekil 4.60). %2 NaOH ile 1/10 katı/sıvı oranında, 30°C de sakkarifikasyon verimi zamanla lineer olarak artmış ve 4. gün %68,66'ya ulaşmıştır. Aynı koşullarda elde edilen selüloz hidrolizi ise 3. gün sonunda en yüksek değere (% 59,13) ulaşmıştır (Şekil 4.60).

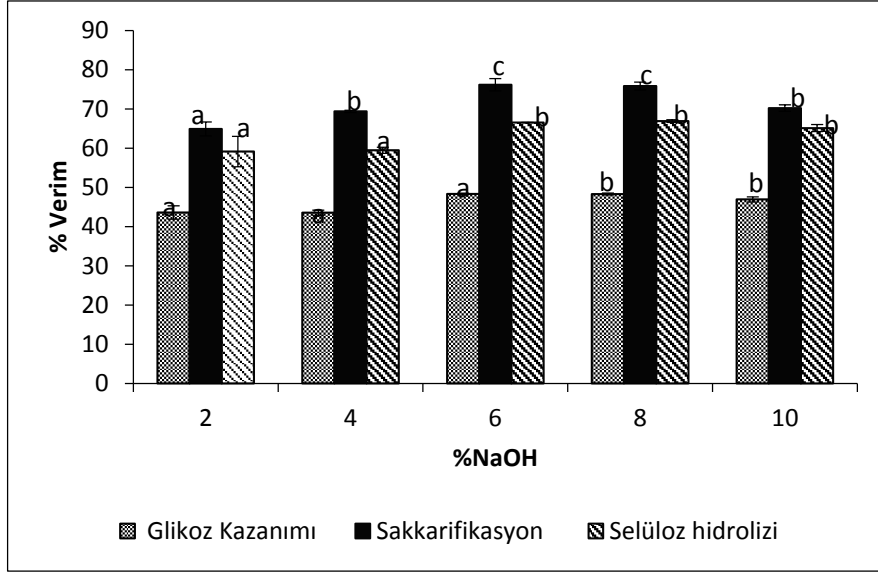
30°C'de, 1/10 katı/sıvı oranında, 3 gün yapılan ön işlemlerde NaOH derişiminin %2 den %6 ya artması ile glikoz kazanımı %43,58 den %48,32'ye yükselmiştir. Alkali konsantrasyonunun daha da arttırılması ile (%8 ve 10) elde edilen glikoz kazanımı anlamlı ( $p>0,05$ ) bir şekilde değişmemiştir (Şekil 4.61) Bu şartlarda elde edilen selüloz hidroliz yüzdesi glikoz kazanımına benzer olarak NaOH derişiminin %6 olduğu koşulda %66,54 olarak en yüksek değere ulaşmıştır. Sakkarifikasyon ise NaOH derişiminin %2'den %4'e arttırılması ile %64,89'dan %76,08'e yükselmiştir. Ancak alkali derişimini daha da arttırılması ile sakkarifikasyon miktarında anlamlı ( $p>0,05$ ) artış meydana gelmemiştir (Şekil 4.61). Bunun sebebi %6'dan daha fazla alkali derişimi kullanıldığında lignin çözünürlüğüne fazla etki etmemesidir. Ancak %6 NaOH ile 30 °C de 3 gün

uygulanan ön işlem şartlarında ise katı sıvı oranının 1/10 (0,1 g/ml)'dan 1/5 (0,2 g/ml)'e artırılması ile enzimatik hidrolizi sonucunda elde edilen glikoz kazanımı değişmemiştir. Fakat daha düşük katı/sıvı (1/20; 0.05 g/ml ve 1/40-0,025) oranlarında glikoz kazanımı azalmıştır (Şekil 4.62). Maksimum sakkarifikasyon (%76,17 ) ve selüloz hidroliz (%66,55) verimlerine 1/10 katı/sıvı oranında ulaşılmıştır (Şekil 4.62).

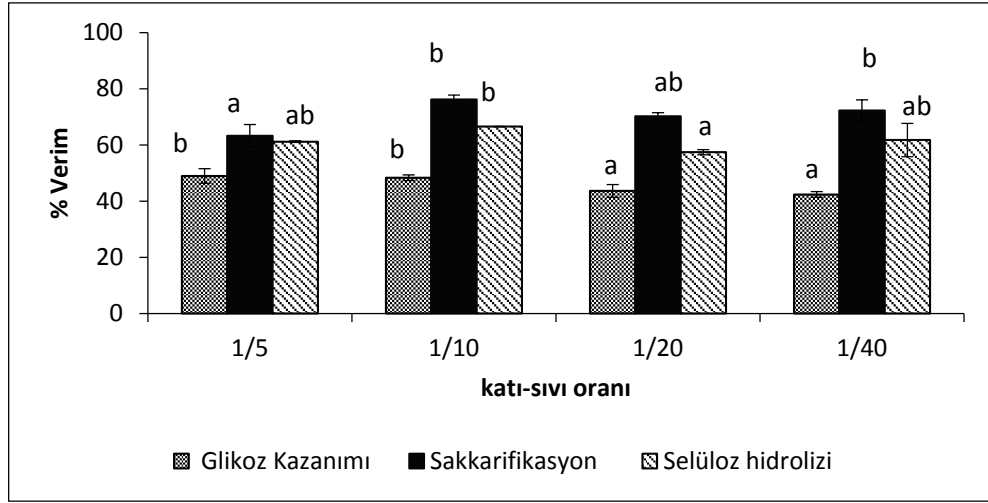


**Şekil 4.60.** Düşük sıcaklık uzun zaman NaOH (30°C, 1/10 katı/sıvı, ve %2 NaOH) ön işleminde zamanın ön işlem uygulanmış fındık kabuklarının enzimatik hidrolizi sonucunda elde edilen glikoz kazanımı, sakkarifikasyon ve selüloz hidroliz verimi üzerine etkisi





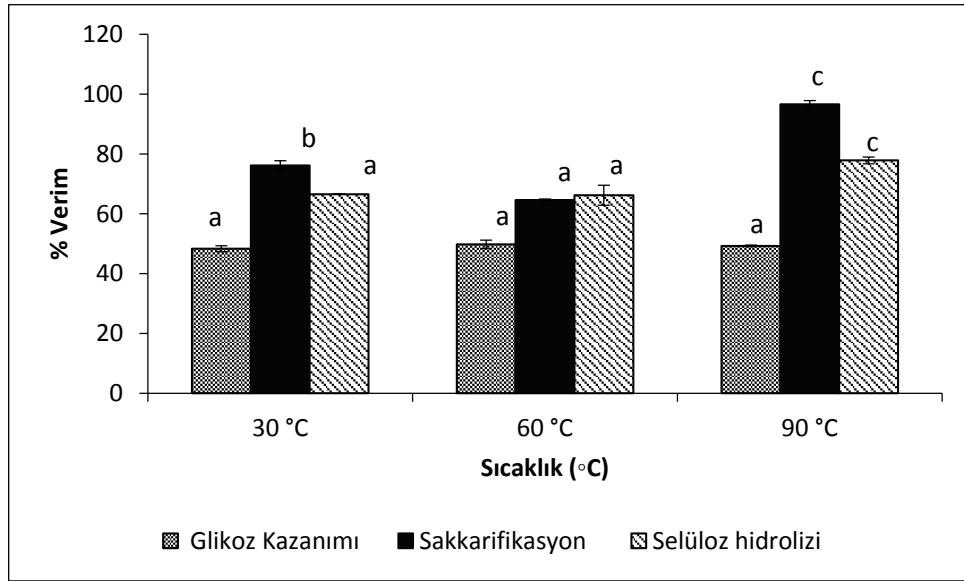
**Şekil 4.61.** Düşük sıcaklık uzun zammı NaOH (30°C, 1/10 katı/sıvı, 3 gün) ön işeminde NaOH derişiminin ön işlem uygulanmış fındık kabuklarının enzimatik hidrolizi sonucunda elde edilen glikoz kazanımı, sakkarifikasyon ve selüloz hidroliz verimi üzerine etkisi



**Şekil 4.62.** Düşük sıcaklık uzun zammı NaOH (30 °C, 1/10 katı/sıvı, ve % 6 NaOH, 3 gün) ön işeminde katı/sıvı oranının ön işlem uygulanmış fındık kabuklarının enzimatik hidrolizi sonucunda elde edilen glikoz kazanımı, sakkarifikasyon ve selüloz hidroliz verimi üzerine etkisi

Yapılan çalışmalar sonunda 30°C de maksimum enzimatik hidroliz verimi koşulları 1/10 katı/sıvı oranı, 3 gün ve, % 6 NaOH olarak belirlenmiştir. Bu koşullarda sıcaklığın enzimatik hidroliz üzerine etkisi incelendiğinde, glikoz

kazanımı sıcaklık ile değişmediği ( $p < 0,05$ ) görülmüştür (Şekil 4.63). 30°C de elde edilen glikoz kazanımı %48,32 dir. Sıcaklığın 60°C'ye yükseltilmesi ile bu oran sadece %1,5'luk bir artışla %49,79'a yükselmiştir. Sıcaklığın uzun ön işlem süresinde artmasıyla lignin giderimi artmasına rağmen selüloz çözünürlüğünde artmıştır. Bu yüzden uzun zaman yüksek sıcaklıkta elde edilen glikoz kazanımı düşük sıcaklıkla neredeyse olarak bulunmuştur. Ancak sıcaklık sakkarifikasyon ve selüloz hidrolizi verimini pozitif yönde etkilemiştir ( $p < 0,05$ ). Sıcaklığın 60°C'den 90°C'ye yükseltilmesi ile sakkarifikasyon ve selüloz hidrolizi verimini sırasıyla %25 ve %20 oranında artmıştır (Şekil 4.63). Sıcaklığın artması ile selüloz içeriği daha zengin ve lignin miktarı daha fazla giderilmiş bir hammadde elde edildiği için ve yüksek sıcaklıkta hammaddenin gözenekliliği arttığı için selüloz hidroliz ve sakkarifikasyon verimi artmıştır.

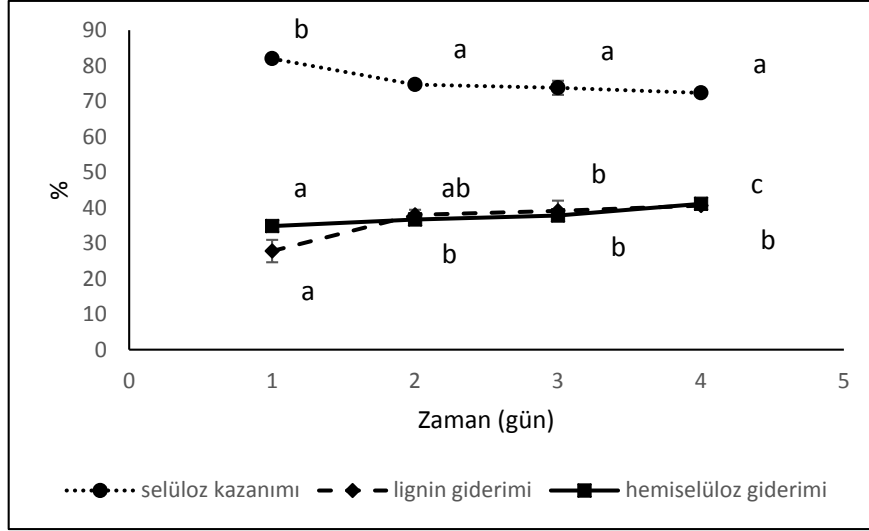


**Şekil 4.63.** Düşük sıcaklık uzun zaman NaOH (1/10, 3 gün, %6 NaOH) ön işleminde sıcaklığın ön işlem uygulanmış fındık kabuklarının enzimatik hidrolizi sonucunda elde edilen glikoz kazanımı, sakkarifikasyon ve selüloz hidroliz verimi üzerine etkisi

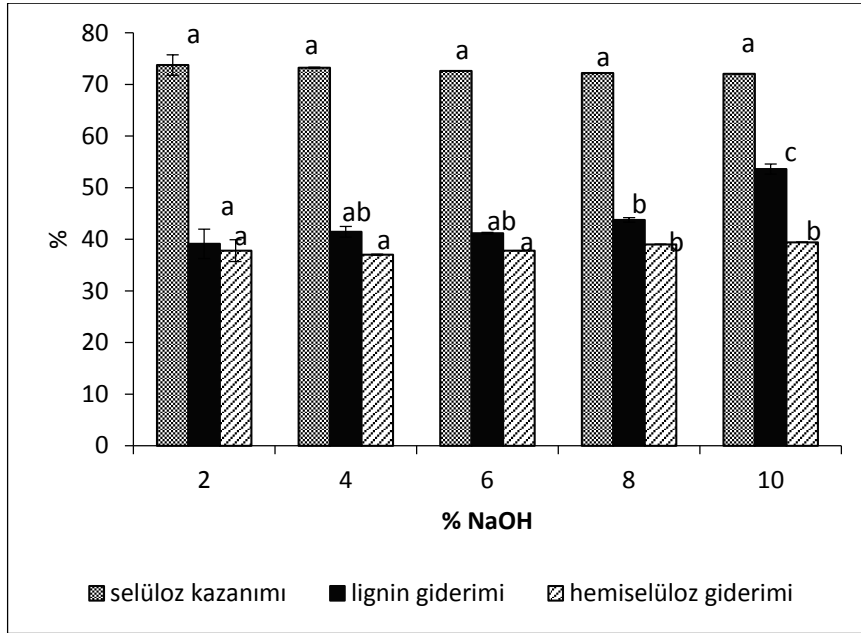
#### 4.9.2 Düşük sıcaklık ve uzun zamanlarda NaOH ile yapılan ön işlemlerinin fındık kabuğunun kimyasal bileşimi üzerine etkisi

%2 NaOH ile 1/10 katı/sıvı oranında, 30<sup>0</sup>C defındık kabuklarına uygulanan ön işlem sonucunda zamanla lignin giderimi artmış ve. 4. gün sonunda maksimuma ulaşmıştır (%40,83). Bu şartlarda, selüloz çözünürlüğü ise zamanla az da olsa artmıştır ve 4. gün sonunda %72,57 selüloz kazanımı elde edilmiştir (Şekil 4.64). %2 NaOH, 1/10 katı/sıvı ve 30<sup>0</sup>C sıcaklıkta NaOH derişiminin %2'den %6'ya artırılması ile lignin gideriminde herhangi bir değişiklik meydana gelmemiştir (p>0,05). Derişiminin %8'e artırılması ile lignin giderimi %41,18'den %43,75'e, %10'a arttırılması ile de en yüksek değer olan %53,60'a yükselmiştir (Şekil 4.65). Buna bağlı olarak katı kazanımın ve selüloz kazanımı alkali derişimine bağlı olarak azalmıştır. 30 <sup>0</sup>C, 3 gün, %6 NaOH şartlarında ise birim katı miktarı başına kullanılan çözücü miktarının artması ile lignin gideriminin arttığı ve katı ve selüloz kazanımının düştüğü görülmektedir (Şekil 4.66). En yüksek lignin giderimi 30<sup>0</sup>C ön işlem sıcaklığında, 3 gün boyunca, %6 NaOH çözeltisi ile 1/40 katı/sıvı oranında %43,73 olarak elde edilmiştir.

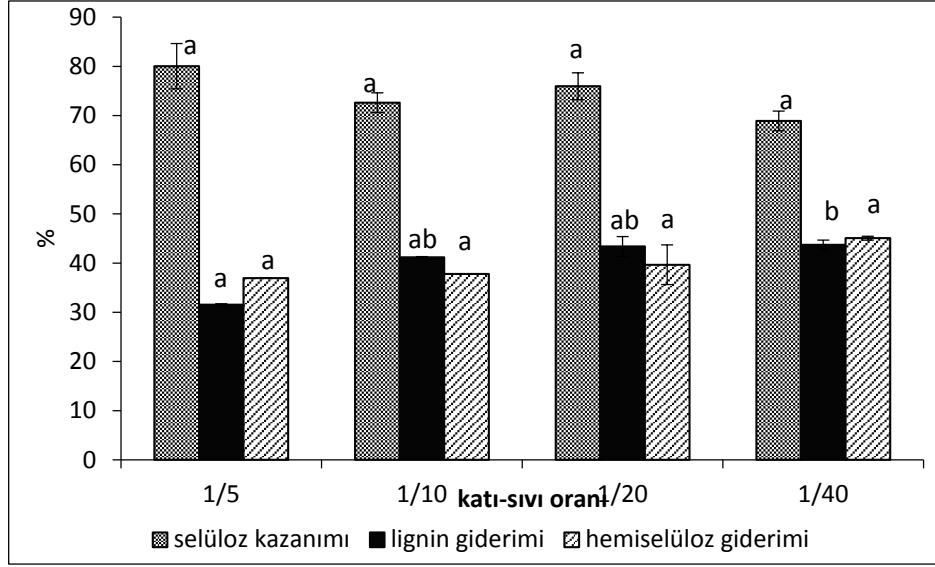
%6 NaOH, 1/10 katı/sıvı ve 3 gün ön işlem şartlarında katı çözünürlüğü üzerinde sıcaklığın oldukça etkisi olduğu görülmektedir. Sıcaklığın 30<sup>0</sup>C'den 60<sup>0</sup>C'ye arttırılması ile lignin giderimi yaklaşık olarak %40 oranında artmıştır. Sıcaklığın 90<sup>0</sup>C'ye attırılması ile bu değerdeki artış yaklaşık olarak %10 dur (Şekil 4.67). 90<sup>0</sup>C sıcaklıkta %63,28 selüloz kazanımı ile %49,48 lik katı kazanımı elde edilmiştir.



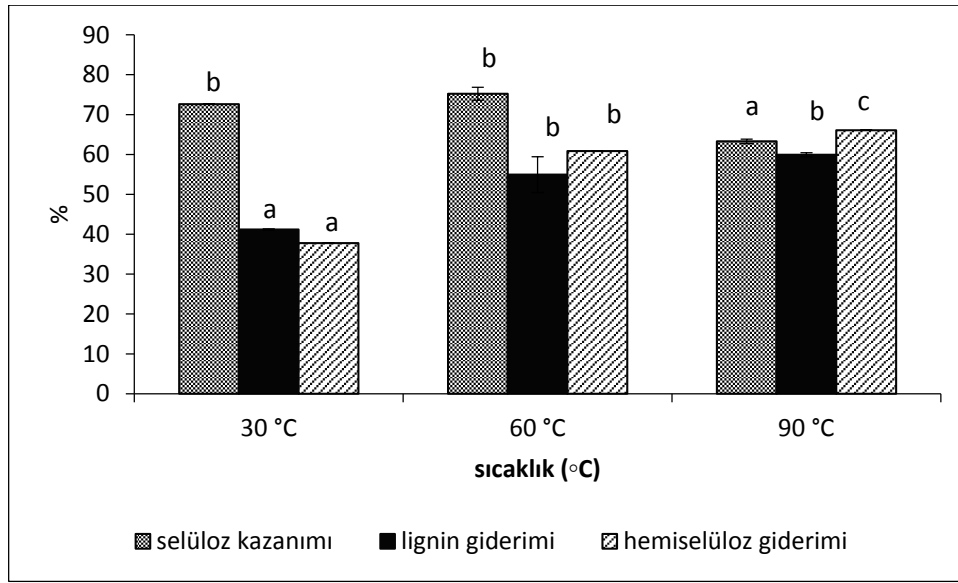
**Şekil 4.64.** Düşük sıcaklık uzun zaman NaOH (1/10, 30°C, %2 NaOH) ön işleminde zamanın ön işlem uygulanmış fındık kabuklarının kimyasal bileşimi üzerine etkisi



**Şekil 4.65.** Düşük sıcaklık uzun zaman NaOH (1/10, 30°C, 3gün) ön işleminde NaOH derişiminin ön işlem uygulanmış fındık kabuklarının kimyasal bileşimi üzerine etkisi



**Şekil 4.66.** Düşük sıcaklık uzun zaman NaOH (3 gün, 30°C, % 6 NaOH) ön işleminde katı/sıvı oranının ön işlem uygulanmış fındık kabuklarının kimyasal bileşimi üzerine etkisi

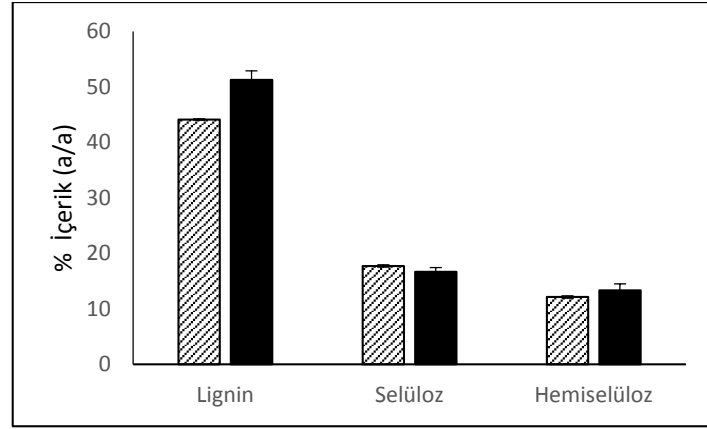


**Şekil 4.67.** Düşük sıcaklık uzun zaman NaOH (1/10, 3 gün, %2 NaOH) ön işleminde sıcaklığın ön işlem uygulanmış fındık kabuklarının kimyasal bileşimi üzerine etkisi

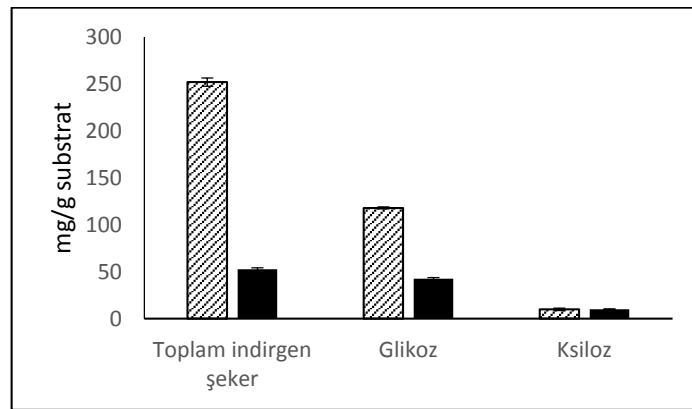
#### 4.9.3. Düşük sıcaklık uzun zaman NaOH ön işlem prosesinde kütle denkliği

Fındık kabuğuna uygulanan düşük sıcaklık uzun zaman NaOH ön işleminde, 30°C, 1/10 katı/sıvı oranı, %6 NaOH ve 3 gün proses koşullarının maksimum glikoz veriminin elde edildiği koşullar olarak belirlenmiştir.

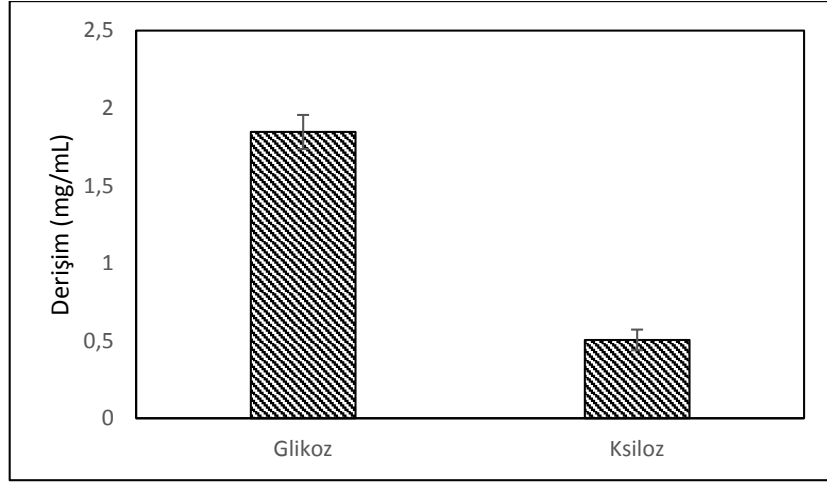
Bu koşullarda fındık kabuklarına tekrar ön işlem uygulanmış ve katı bileşimi, ön işlem sıvısının bileşimi ve elde edilen şeker miktarları hesaplanmıştır. Bu değerler ön işlem prosesinde kütle ve enerji denkliklerinin kurulmasında kullanılmıştır. Belirlenen şartlarda ön işlem uygulanmış fındık kabuklarının lignin içeriğinin %44'e, hemiselüloz içeriğinin ise %12,14'e düşürülmüştür. Selüloz yüzdesinin ise %17,72'ye artırıldığı görülmüştür (Şekil 4.68). Bu proses koşullarında her bir gram kuru ön işlem görmüş hammadde başına toplam indirgen şeker miktarı 252,33 mg, glikoz miktarı 117,91 mg ve ksiloz miktarı ise 9,91 mg olarak hesaplanmıştır (Şekil 4.69). Ön işlem sıvısında ise 1,85 mg/mL glikoz ve 0,51 mg/mL ksiloz elde olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.70).



**Şekil 4.68.** 30°C, 1/10 katı/sıvı oranı, %6 NaOH ve 3 gün ön işlem şartlarında ön işlem uygulanmış fındık kabuğunun kimyasal bileşimi ( ▨ Ön işlem uygulanmış fındık kabuğu, ■ Ham fındık kabuğu)



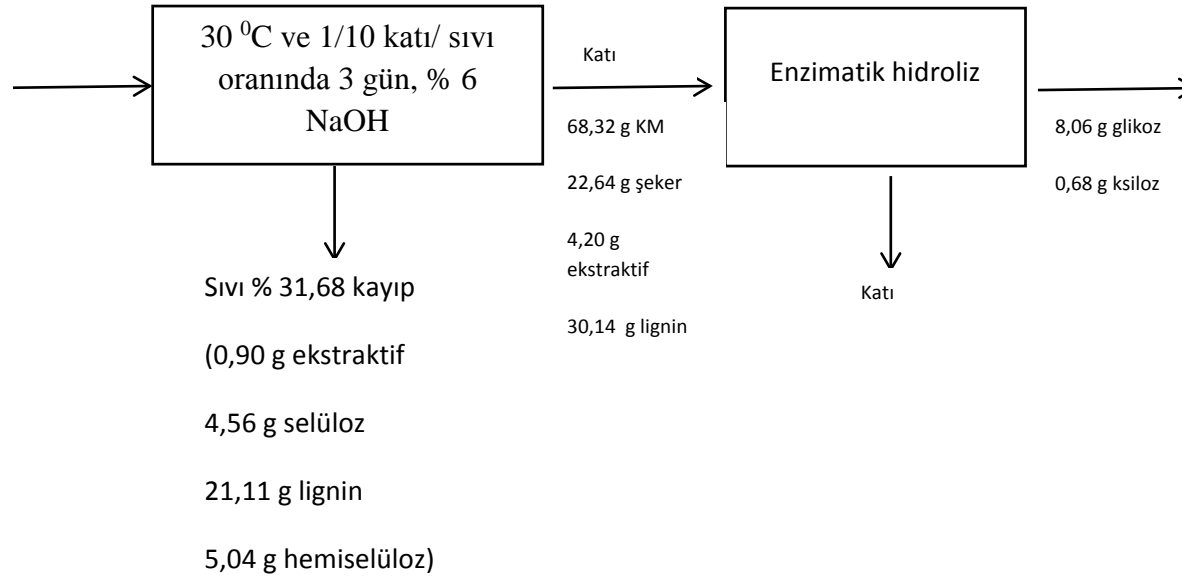
**Şekil 4.69.** 30°C, 1/10 katı/sıvı oranı, %6 NaOH ve 3 gün ön işlem şartlarında ön işlem uygulanmış fındık kabuklarının enzimatik hidroliz sonucunda elde edilen şeker miktarları ( ▨ Ön işlem uygulanmış fındık kabuğu, ■ Ham fındık kabuğu)



**Şekil 4.70.** 30°C, 1/10 katı/sıvı oranı, %6 NaOH ve 3 gün ön işlem şartlarında elde edilen ön işlem sıvılarının kimyasal içeriği

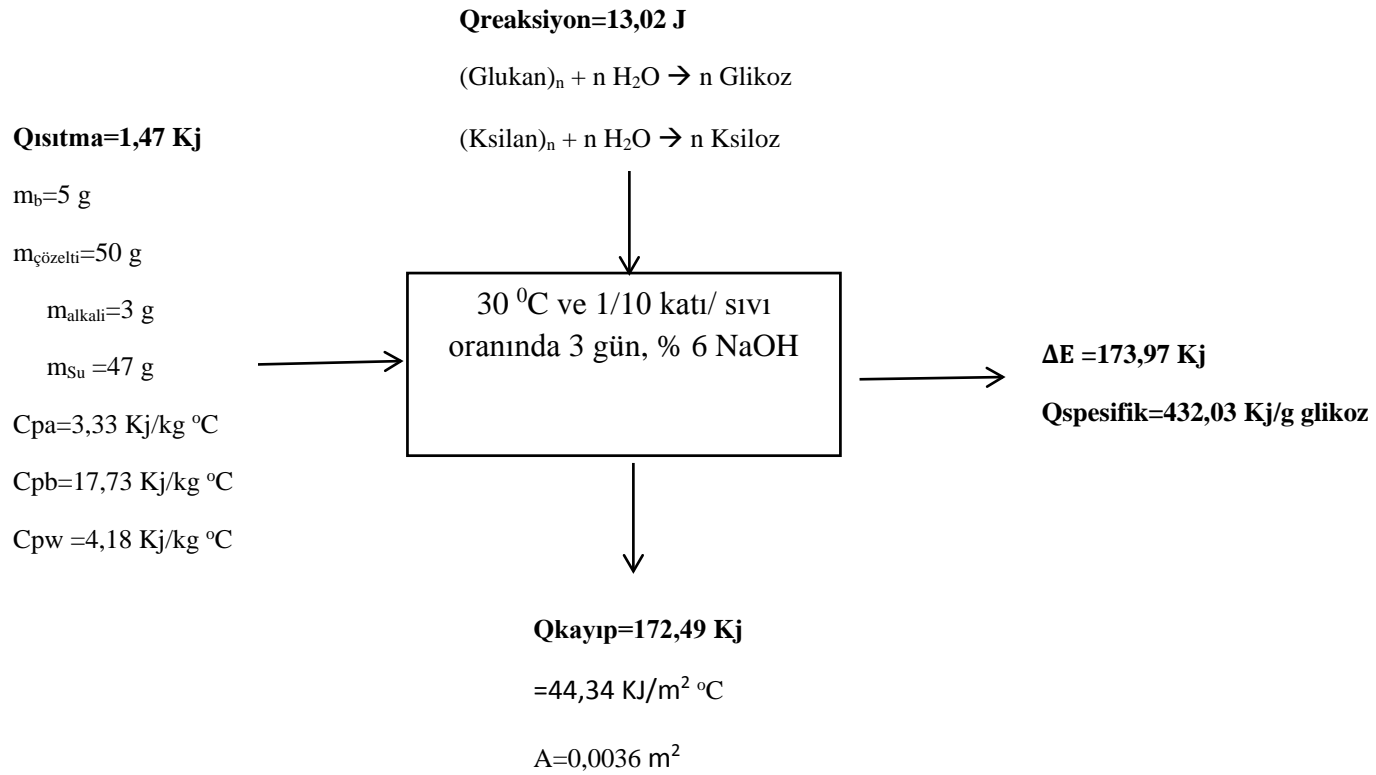
30°C, 1/10 katı/sıvı oranı, %6 NaOH ve 3 gün proses koşullarında kurulan kütle denklığı Şekil 4.71’de gösterilmiştir. Bu proses sonucunda 100 g fındık kabuğundan 8,06 g glikoz, 0,68 g da ksiloz elde edilmiştir. Aynı koşullarda (30 °C, 1/10 katı/sıvı oranı, % 6 NaOH ve 3 gün) uygulanan sodyum hidroksit ön işlemleri için kurulan enerji denklığı sonucunda ise elde edilen her bir gram glikoz başına 432,03 kJ enerji harcanmıştır (Şekil 4.72).

Fındık kabuğu  
100 g toplam KM  
5.10 g ekstraktif  
16.67 g selüloz  
51.25 g lignin  
13.33g hemiselüloz  
2.09 g kül  
11.56 g diğerleri



Şekil 4.71. 30 °C, 1/10 katı/sıvı oranı, 3 gün ve % 6 NaOH ön işlem uygulanmış fındık kabuklarının enzimatik hidroliz sonrasındaki kütle dengliği





**Şekil 4.72.** 30 °C ve 1/10 katı/ sıvı oranında 3 gün, % 6 NaOH ön işlem uygulanmış fındık kabuklarının enerji denkliği

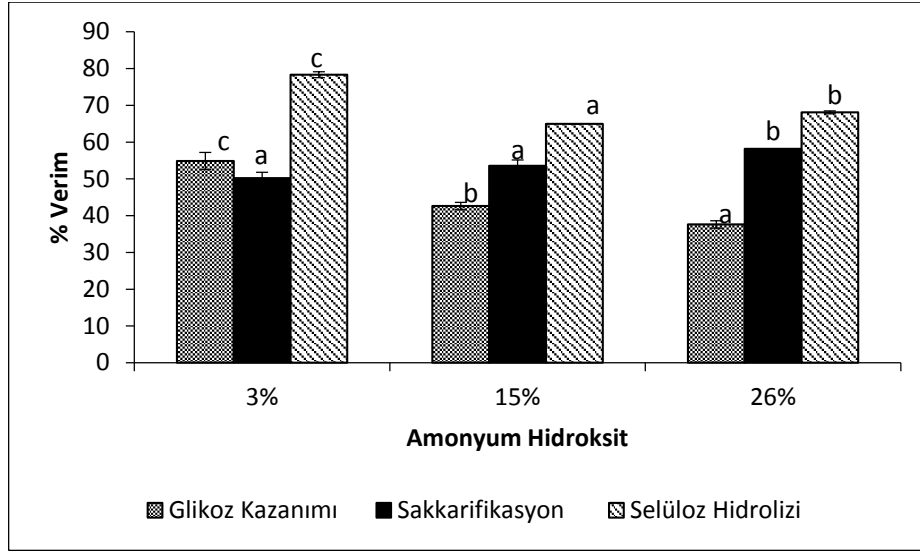
#### **4.10 Düşük Sıcaklık Uzun Zaman NH<sub>4</sub>OH Ön İşleminin Fındık Kabuğunun Bileşimi ve Enzimatik Hidrolizi Üzerine Etkisi**

Yüksek lignin içeriğine sahip fındık kabuklarından lignini giderilmesi ve enzimatik hidroliz veriminin lignoselülozik yapının bozundurulması ile artırılması için alkali ön işlemler uygulanması gerekmektedir. NaOH'e alternatif olabilecek ve etkin bir şekilde lignin çözebilme kapasitesine sahip NH<sub>4</sub>OH ile fındık kabuklarına ön işlem uygulanmıştır. Uygulanan ön işlemlerde 1/10 katı/sıvı oranında NH<sub>4</sub>OH derişiminin (%3-15-26 (h/h)), sıcaklığın (30-60-90°C), zaman (1, 2, 3, 4 gün), fındık kabuğunun bileşimi ve enzimatik hidrolizi üzerine etkileri incelenmiştir.

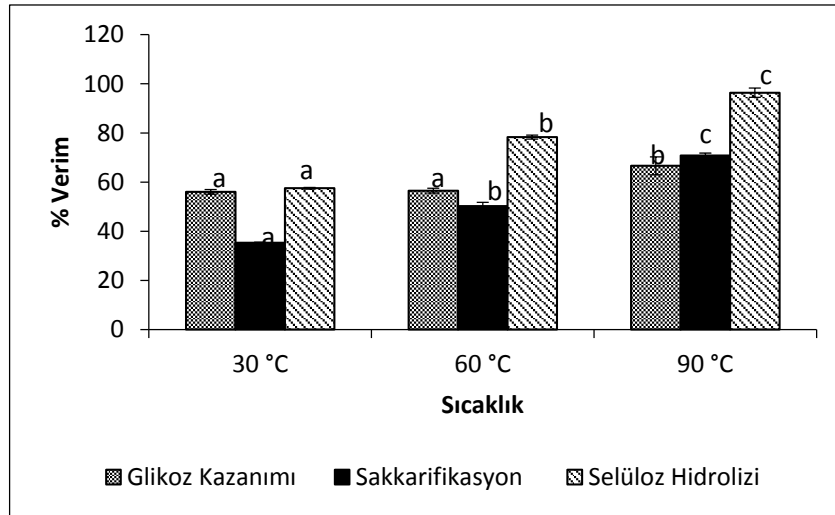
##### **4.10.1 Düşük sıcaklık uzun zaman NH<sub>4</sub>OH ön işleminin ön işlem görmüş fındık kabuğunun enzimatik hidrolizi üzerine etkisi**

1/10 katı/sıvı, 60 °C ve 1 gün ön işlem şartlarında uygulanan ön işlem sonucunda elde edilen glikoz kazanımı amonyum hidroksit derişiminin artması ile anlamlı (p<0,05) bir şekilde azalmıştır (Şekil 4.73). En yüksek glikoz kazanımı %3 NH<sub>4</sub>OH çözeltisi ile elde edilmiştir (%54,87). Bunun sebebi amonyum hidroksit derişiminin lignin giderimi üzerinde etkisi olamazken selüloz kazanımı derişimle azalmıştır. Aynı koşullarda NH<sub>4</sub>OH derişiminin %3 den % 15'e arttırılması ile sakkarifikasyon yüzdesi değişmez iken (p<0,05) (Şekil 4.73), derişimin %26 ya arttırılması ile sakkarifikasyon verimi %8,5 artarak %58,90'a yükselmiştir. En yüksek selüloz hidrolizi verimine ise %3 lük NH<sub>4</sub>OH ile ulaşılmıştır (% 78,32). Ön işlem sıcaklığının 30°C 'den 60°C'ye arttırılması ile glikoz kazanımında değişmemiş, sıcaklığın 90°C'ye arttırılması ile glikoz kazanımı yaklaşık%17 lik bir artış ile %66,6'ya yükselmiştir (Şekil 4.74). Sıcaklığın artması ile lignin gideriminde bir artış meydana gelmemesine rağmen sıcaklık ile ön işlem uygulanmış biyokütlenin gözenekliliği ve enzimin selüloza olan ulaşılabilirliği artmıştır. Sıcaklıkla sakkarifikasyon ve selüloz hidrolizi verimi artmış ve 90°C'de maksimuma ulaşmıştır (sırasıyla %70,85 ve %96,38) (Şekil 4.74). Bunun sebebi sıcaklığın artması ile biyokütlenin yapısının değişmesi ve gözenekliliğinin artmasıdır. Ön işlem zamanının glikoz kazanımı üzerine zamanın etkisi

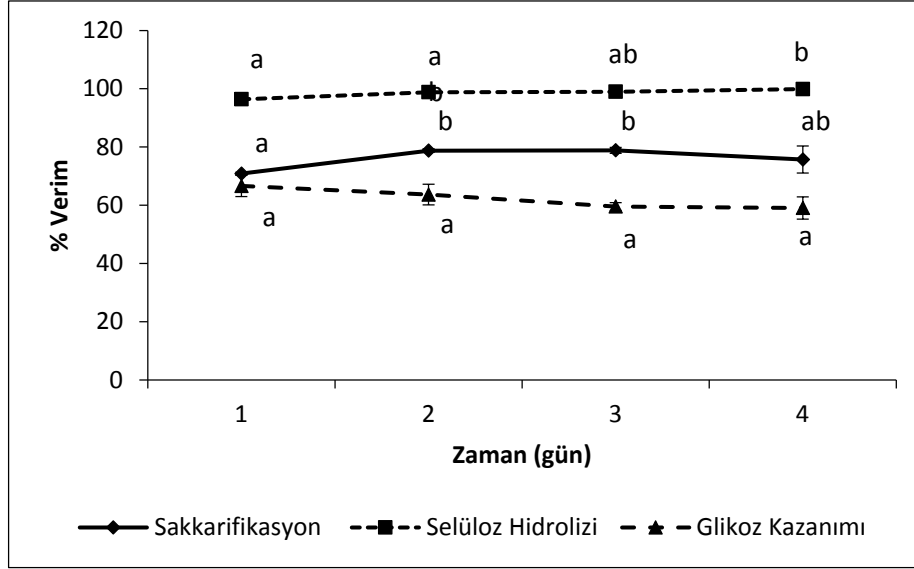
gözlenmemiştir ( $p>0,05$ ) (Şekil 4.75). Selüloz hidrolizi verimi ön işlem zamanının 1. gün sonunda %96,38 iken 4. gün sonunda sadece %99,89 a yükselmiştir. Sakkarifikasyon ise 1. gün sonunda %70,85 iken 2. gün %78,4 e yükselmiştir. 3. ve 4. günde meydana gelen artışlar anlamlı ( $p<0,05$ ) değildir (Şekil 4.76). Selüloz hidroliz verimi nerdeyse %100 e yükselerek bu sıcaklıkta ön işlem süresinin arttırılmasına ihtiyaç olmadığı gözlemlenmiştir.



**Şekil 4.73.** Düşük sıcaklık uzun zaman  $\text{NH}_4\text{OH}$  (1/10,  $60^\circ\text{C}$ , 1 gün) ön işeminde  $\text{NH}_4\text{OH}$  derişiminin ön işlem uygulanmış fındık kabuklarının enzimatik hidrolizi sonucunda elde edilen glikoz kazanımı, sakkarifikasyon ve selüloz hidroliz verimi üzerine etkisi



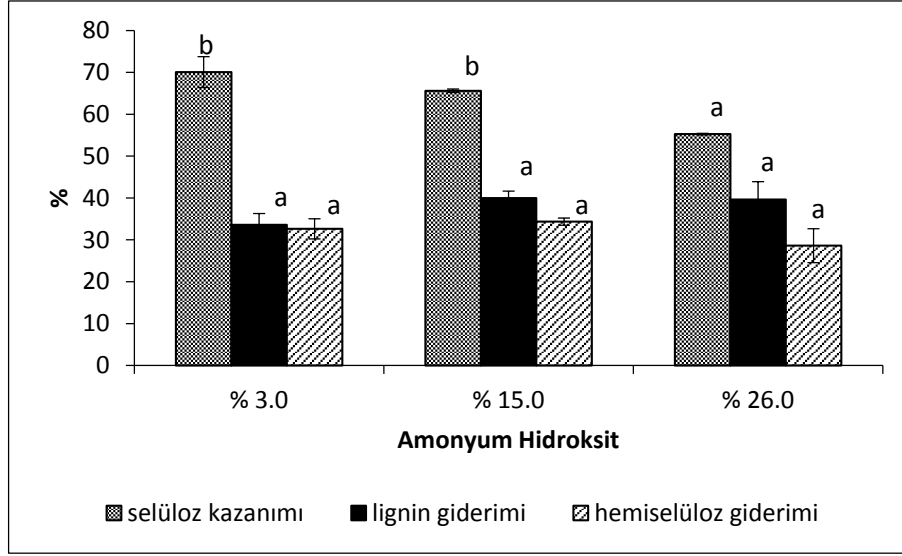
**Şekil 4.74.** Düşük sıcaklık uzun zaman  $\text{NH}_4\text{OH}$  (1/10, %3  $\text{NH}_4\text{OH}$ , 1 gün) ön işeminde sıcaklığın ön işlem uygulanmış fındık kabuklarının enzimatik hidrolizi sonucunda elde edilen glikoz kazanımı, sakkarifikasyon ve selüloz hidroliz verimi üzerine etkisi



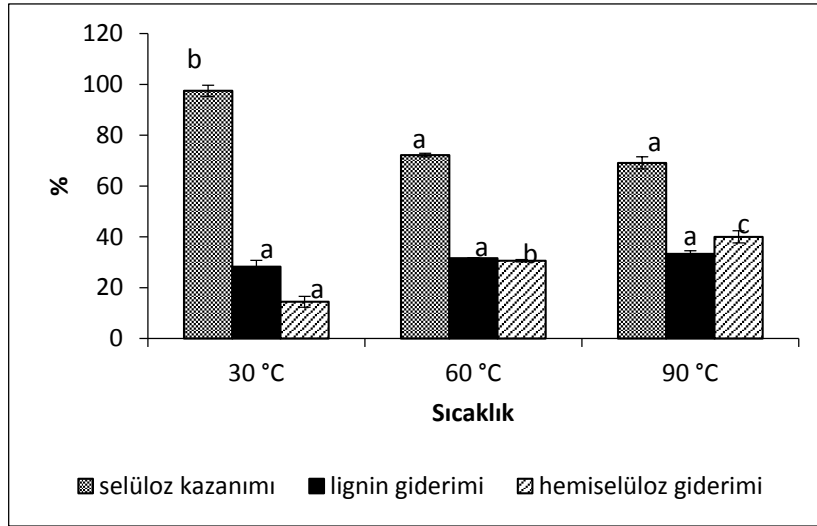
Şekil 4.75. Düşük sıcaklık uzun zaman  $\text{NH}_4\text{OH}$  (1/10, %3  $\text{NH}_4\text{OH}$ ,  $90^\circ\text{C}$ ) ön işleminde zamanın ön işlem uygulanmış fındık kabuklarının enzimatik hidrolizi sonucunda elde edilen glikoz kazanımı, sakkarifikasyon ve selüloz hidroliz verimi üzerine etkisi

#### 4.10.2 Düşük sıcaklıklarda ve uzun zamanlarda $\text{NH}_4\text{OH}$ ile yapılan ön işlemlerinin fındık kabuğunun kimyasal bileşimi üzerine etkisi

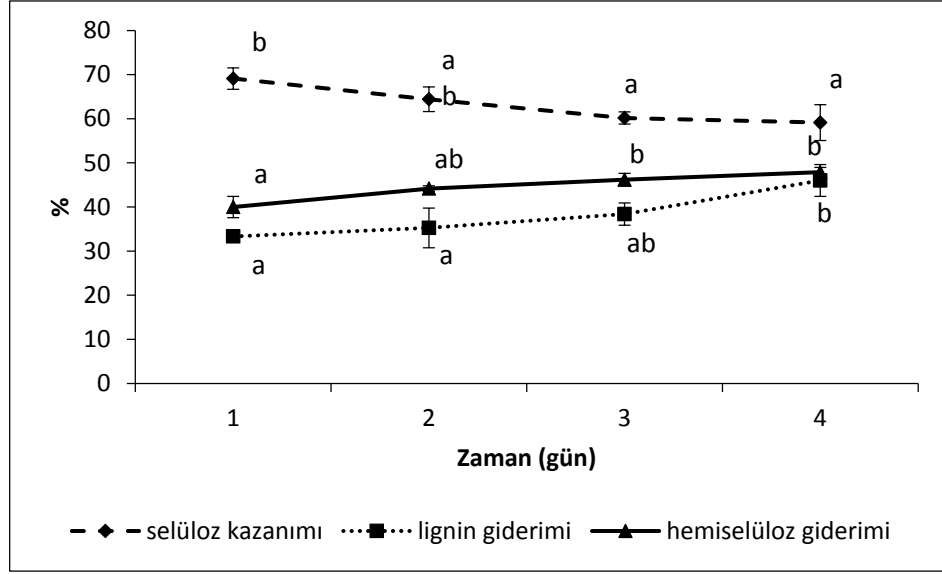
Şekil 4.76’da 1/10 katı/sıvı oranında,  $60^\circ\text{C}$ ’de 1 gün boyunca  $\text{NH}_4\text{OH}$  ön işleminde,  $\text{NH}_4\text{OH}$  derişiminin fındık kabuğunun kimyasal bileşimi etkisi görülmektedir. Selüloz kazanımı  $\text{NH}_4\text{OH}$  derişimi %15’den %26’ya arttığında anlamlı azalmıştır ( $p<0,05$ ). Lignin ve hemiselüloz giderimi ise  $\text{NH}_4\text{OH}$  derişiminden etkilenmemiştir. Sıcaklığın artması selüloz kazanımını azaltmış, hemiselüloz giderimi ise az da olsa artmıştır. Lignin giderimi sıcaklıktan etkilenmemiştir (Şekil 4.77). Zamanla selüloz kazanımı azalırken ( $p<0,05$ ) lignin ve hemiselüloz giderim miktarları ise artmıştır (Şekil 4.78).



**Şekil 4.76.** Düşük sıcaklık uzun zaman  $\text{NH}_4\text{OH}$  (1/10, 1 gün, 60 °C) ön işleminde  $\text{NH}_4\text{OH}$  derişiminin ön işlem uygulanmış fındık kabuklarının kimyasal bileşimine etkisi



**Şekil 4.77.** Düşük sıcaklık uzun zaman  $\text{NH}_4\text{OH}$  (1/10, %3  $\text{NH}_4\text{OH}$ , 1 gün) ön işleminde sıcaklığın ön işlem uygulanmış fındık kabuklarının kimyasal bileşimine etkisi

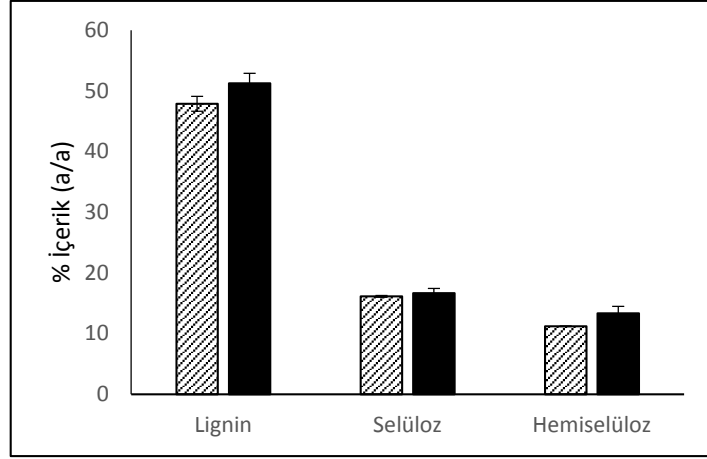


Şekil 4.78. Düşük sıcaklık uzun zaman  $\text{NH}_4\text{OH}$  (1/10, %3  $\text{NH}_4\text{OH}$ , 60 °C) ön zamanın ön işlem uygulanmış fındık kabuklarının kimyasal bileşimine etkisi

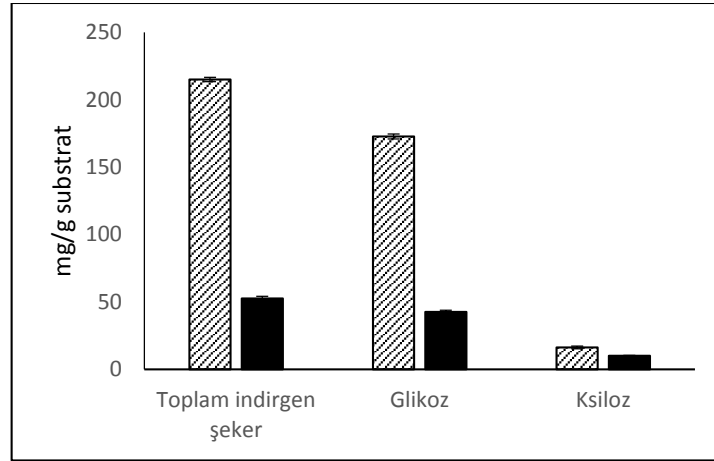
#### 4.10.3. Düşük sıcaklık uzun zaman $\text{NH}_4\text{OH}$ ön işlem prosesinde kütle denklığı

Fındık kabuğuna uygulanan düşük sıcaklık uzun zaman  $\text{NH}_4\text{OH}$  ön işleminde, 90°C, 1/10 katı/sıvı oranı, %3  $\text{NH}_4\text{OH}$  ve 1 gün proses koşullarının maksimum glikoz veriminin elde edildiği koşullar olarak belirlenmiştir.

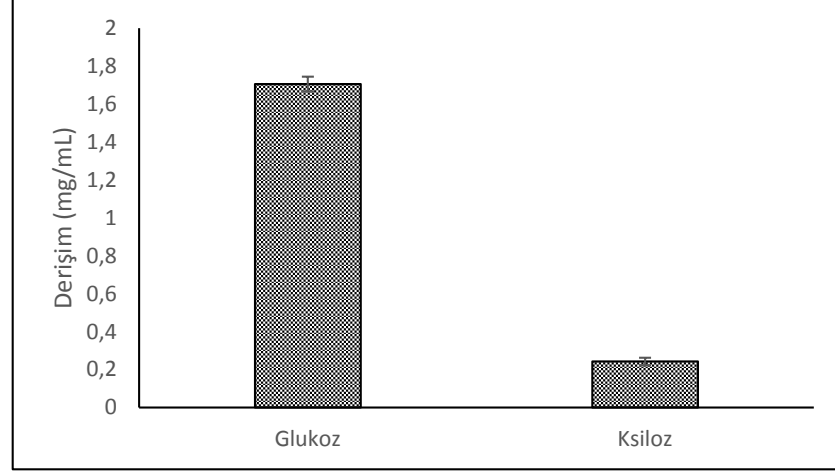
Bu koşullarda fındık kabuklarına tekrar ön işlem uygulanmış ve katı bileşimi, ön işlem sıvısının bileşimi ve elde edilen şeker miktarları hesaplanmıştır. Bu değerler ön işlem prosesinde kütle ve enerji denkliklerinin kurulmasında kullanılmıştır. Belirlenen şartlarda ön işlem uygulanmış fındık kabuklarının lignin içeriğinin %48'e hemiselüloz içeriğinin ise %11,20'ye azaltıldığı görülmüştür. Amonyum hidroksit çözeltisi ile uygulanan ön işlem sonrasında selüloz yüzdesi % 16,13'e arttırılmıştır (Şekil 4.79). Bu proses koşullarında her bir gram kuru ön işlem görmüş hammadde başına toplam indirgen şeker miktarı 215.76 mg, glikoz miktarı 172,72 mg ve ksiloz miktarı ise 16,18 mg olarak hesaplanmıştır (Şekil 4.80). Ön işlem sıvısında ise 1,71 mg/mL glikoz ve 0,24 mg/mL ksiloz elde olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.81).



**Şekil 4.79.** 90°C, 1/10 katı/sıvı oranı, %3 NH<sub>4</sub>OH ve 1 gün ön işlem uygulanmış fındık kabuklarının kimyasal bileşimi ( ▨ Ön işlem uygulanmış fındık kabuğu, ■ Ham fındık kabuğu)



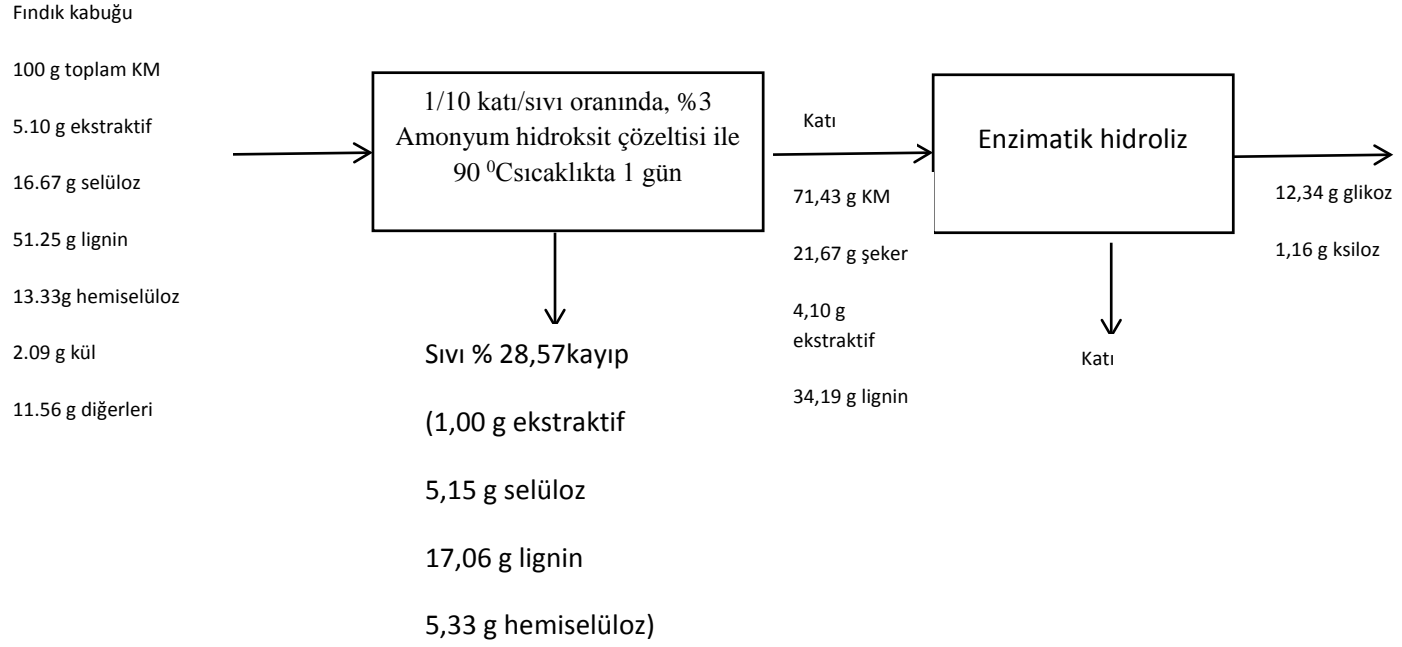
**Şekil 4.80.** 90°C, 1/10 katı/sıvı oranı, %3 NH<sub>4</sub>OH ve 1 gün ön işlem uygulanmış fındık kabuklarının enzimatik hidrolizi sonucunda elde edilen şeker miktarları ( ▨ Ön işlem uygulanmış fındık kabuğu, ■ Ham fındık kabuğu)



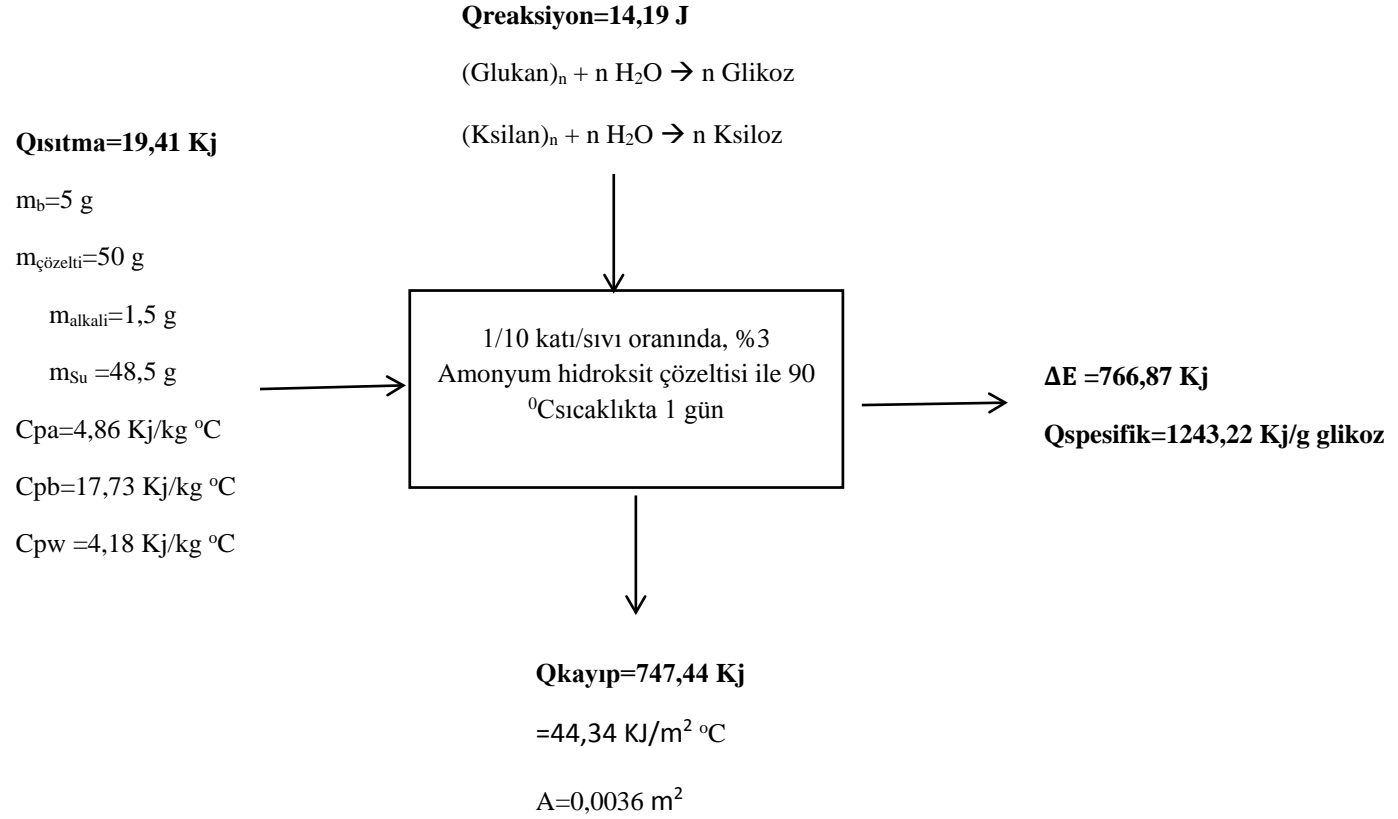
**Şekil 4.81.** 90°C, 1/10 katı/sıvı oranı, %3 NH<sub>4</sub>OH ve 1 gün ön işlem şartlarında elde edilen ön işlem sıvılarının kimyasal içeriği

90 °C, 1/10 katı/sıvı oranı, % 3 NH<sub>4</sub>OH ve 1 gün proses koşullarında kurulan kütle denkliği Şekil 4.82’de gösterilmiştir. Bu proses sonucunda 100 g fındık kabuğundan 12,34 g glikoz ve 1,6 g da ksiloz elde edilmiştir. Aynı koşullarda (90 °C, 1/10 katı/sıvı oranı, % 3 NH<sub>4</sub>OH ve 1 gün) uygulanan amonyum hidroksit ön işlemini için kurulan enerji denkliği sonucunda ise elde edilen her bir gram glikoz başına 1243,22 kJ enerji harcanmıştır (Şekil 4.83).





**Şekil 4.82.** 90°C, 1/10 katı/sıvı oranı, %3 NH<sub>4</sub>OH ve 1 gün ön işlem şartlarında ön işlem uygulanmış fındık kabuklarının enzimatik hidroliz sonrasındaki kütle denklığı



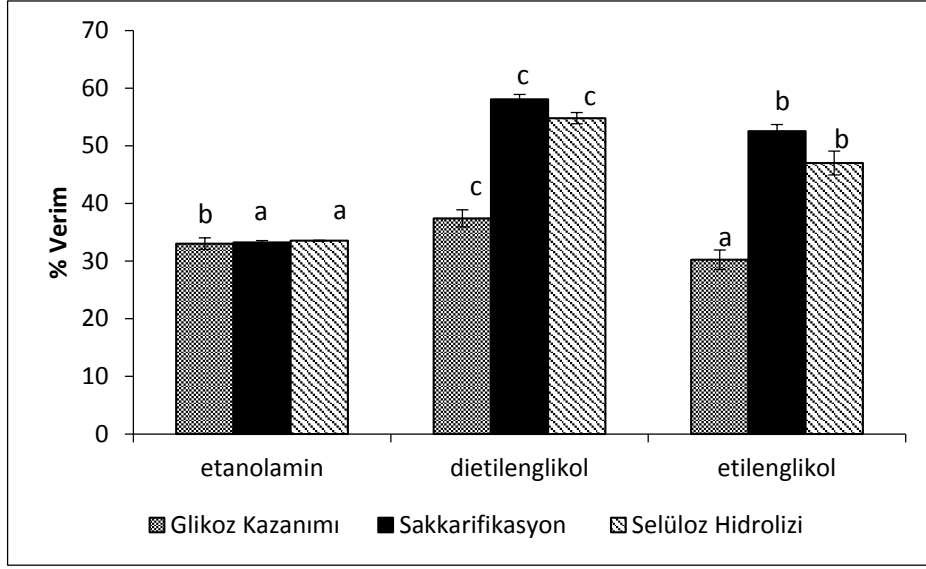
**Şekil 4.83.** 90°C, 1/10 katı/sıvı oranı, %3 NH<sub>4</sub>OH ve 1 gün ön işlem uygulanmış fındık kabuklarının enerji denkliği

#### **4.11. Organosolv ön işlemlerinin fındık kabuğunun kimyasal bileşimi ve enzimatik hidrolizine etkisi**

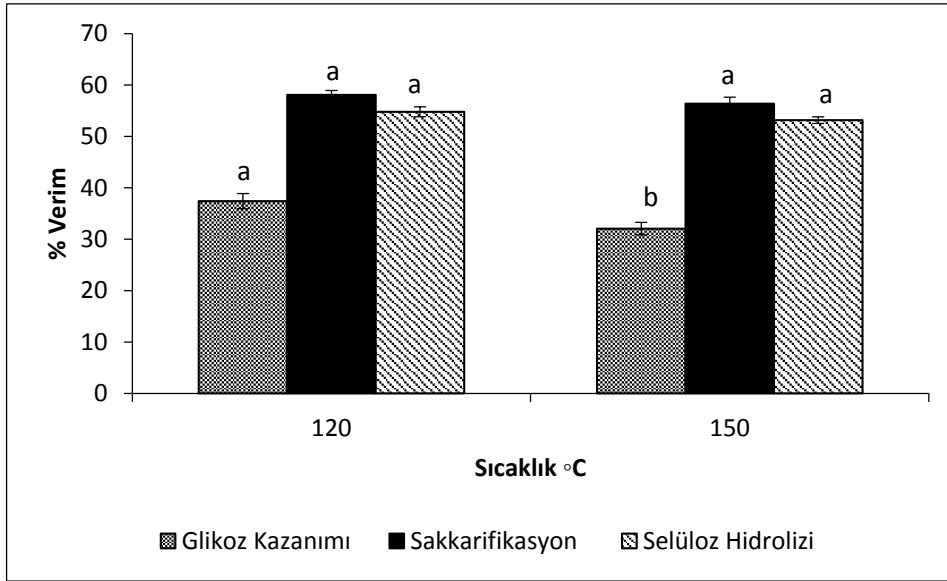
Bu bölümde yüksek lignin içeriğine sahip fındık kabuklarından ligninin giderilmesi ve enzimatik hidroliz veriminin lignoselülozik yapının bozundurulması ile artırılması amacıyla yüksek kaynama noktalı organik çözücüler (etanolamin (Kaynama Noktası: 170°C), dietilen glikol (Kaynama Noktası: 245°C), etilen glikol (Kaynama Noktası: 197,3°C)) ile, asidik ve bazik %50 EtOH'ün farklı sıcaklıklarda (120 ve 150°C), 1/10 katı/sıvı oranında ve 60 dak ön işlem zamanında fındık kabuğunun kimyasal bileşimi ve enzimatik hidrolizi üzerine etkileri incelenmiştir.

##### **4.11.1 Organosolv ön işlemlerinin fındık kabuğunun enzimatik hidrolizine etkisi**

Farklı çözücülerle (etanolamin, dietilen glikol, etilen glikol) 120°C de uygulanan ön işlemlerin sonucunda fındık kabuklarından elde edilen glikoz kazanımı %30,25 ile %37,41 arasında değişmektedir (Şekil 4.84). En yüksek glikoz kazanımı dietilen glikol ile elde edilirken, dietilen glikolü sırasıyla etanol amin ve etilen glikol takip etmektedir. Dietilen glikol ön işlemi sonucunda elde edilen sakkarifikasyon ve selüloz hidroliz sonuçları etilen glikol ve etanol amin çözeltileri ile elde edilenden göre sırasıyla yaklaşık olarak %75 ve %10 daha fazladır (Şekil 4.84). Bu çözücü ile yapılan ön işlem sonucunda %58,07 sakkarifikasyon, %54,79 selüloz hidroliz verimi elde edilmiştir. Bunun sebebi dietilen glikolün diğer çözücülere oranla daha yüksek kaynama noktasına sahip olması olabilir. Sıcaklık etkisi dietilen glikol ön işleminde incelenmiş ve sıcaklığın 120°C'den 150°C'ye çıkması ile de glikoz kazanımının ve buna bağlı olarak da sakkarifikasyon ve hidroliz verimlerinin azaldığı görülmüştür (Şekil 4.85). Sıcaklığın artması ile selüloz çözünürlüğünde artmış ve glikoz kazanımı azalmıştır.



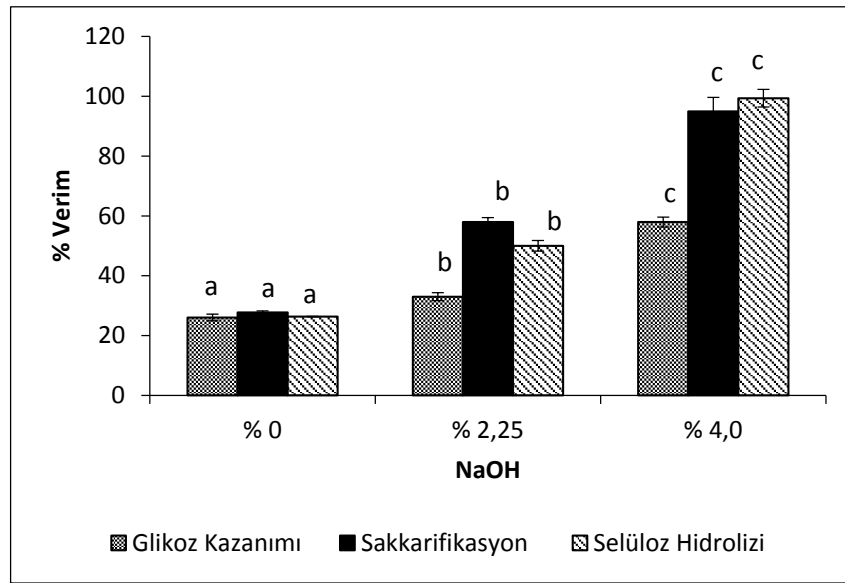
**Şekil 4.84.** Etanolamin, dietilen glikol, etilen glikol (1/10 katı/sıvı, 120°C, 60 dak)'ün ön işlem uygulanmış fındık kabuklarının enzimatik hidrolizi sonucunda elde edilen glikoz kazanımı, sakkarifikasyon ve selüloz hidroliz verimi üzerine etkisi



**Şekil 4.85.** 120 ve 150°C'de (1/10, 60 dakika) dietilen glikol'ün, ön işlem uygulanmış fındık kabuklarının enzimatik hidrolizi sonucunda elde edilen glikoz kazanımı, sakkarifikasyon ve selüloz hidroliz verimi üzerine etkisi

%50 etil alkol ile hazırlanan farklı derişimlerdeki (%0-2,25-4) NaOH çözeltileri ile ön işlem (1/10 katı/sıvı, 120°C, 30 dakika) uygulanmış fındık kabuklarında enzimatik hidroliz sonucunda elde edilen glikoz kazanımı üzerine

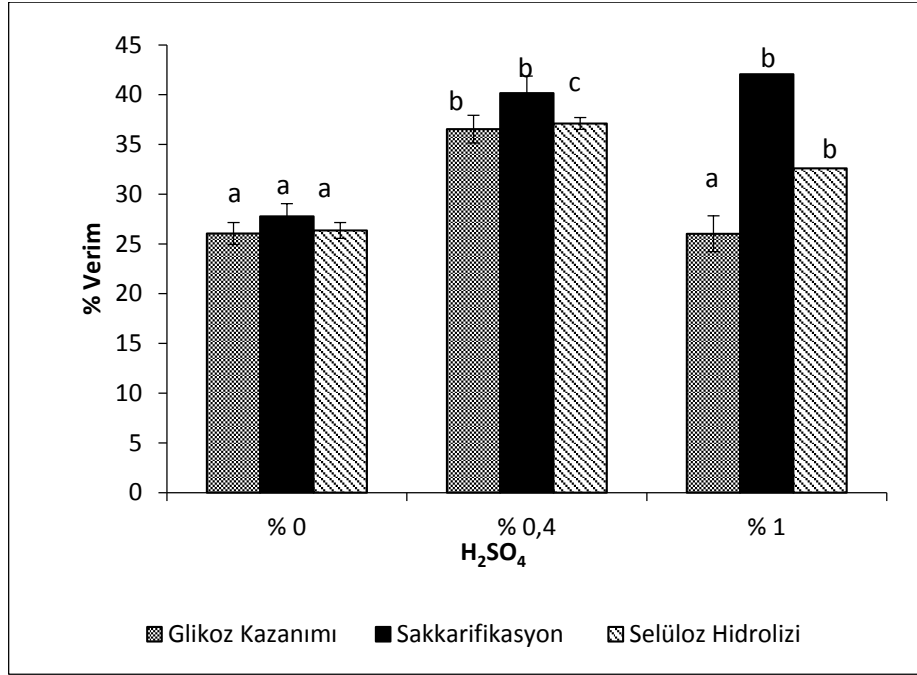
NaOH derişiminin pozitif ( $p<0,05$ ) etkisi olduğu gör÷lmektedir (Şekil 4.86). NaOH derişiminin %2,25'den %4'e artırılması ile glikoz kazanımı %33,00 den %54,95'e yükselmiştir. Bunun sebebi etanol çözeltisi ile etkin birlikte NaOH derişiminin lignin giderimi üzerinde etkili olmasıdır. Sakkarifikasyon ve selüloz hidroliz verimleri etanol çözeltisine NaOH (%2,25) ilave edilmesi ile sırasıyla %27,76'dan %57,99'a, %26,35'den %50,00'ye yükselmiştir. NaOH derişimi %4'e yükseltildiğinde ise sakkarifikasyon %97,20'ye selüloz hidrolizi ise % 99,36'ya yükselmiştir (Şekil 4.86).



**Şekil 4.86.** %50 EtOH ile hazırlanan NaOH ön işleminde (1/10, 120 °C, 30 dakika) NaOH derişiminin ön işlem uygulanmış fındık kabuklarının enzimatik hidrolizi sonucunda elde edilen glikoz kazanımı, sakkarifikasyon ve selüloz hidroliz verimi üzerine etkisi

% 50 EtOH çözeltisi içerisinde farklı derişimlerde (%0-0,4-1) sülfürik asit ilavesi ile uygulanan ön işlemlerin (1/10, 120°C, 30dak) enzimatik hidroliz sonucunda elde edilen glikoz kazanımı üzerine etkisi Şekil 4.87'de gör÷lmektedir. Ön işlem sırasında etil alkol çözeltisi içerisinde %0,4 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ilave edilmesi ile elde edilen glikoz kazanımı %26,05'den %36,54'e yükselmiştir. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> derişimi %1'e artırılması ile %26,02'ye düşmüştür. Bunun sebebi sülfürik asit derişiminin artması ile selüloz çözünürlüğünün artmasıdır. % 50 EtOH çözeltisi içerisinde %0,4 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ilavesi ile uygulanan ön işlem sonucunda sakkarifikasyon ve selüloz hidroliz verimleri sırasıyla %45 ve %41 oranında artmıştır (Şekil 4.87). H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> derişiminin

artması ile sakkarifikasyon verimi değişmezken ( $p>0,05$ ), selüloz hidroliz verimi %37,11 den %32,60'a düşmüştür ( $p<0,05$ ). Glikoz kazanımının maksimize edilmesinin amaçlandığı bu çalışmada %4 NaOH içeren %50 EtOH çözücüsü ile uygulanan organosolv ön işleme sonucunda en yüksek glikoz kazanımı elde edilmiştir.



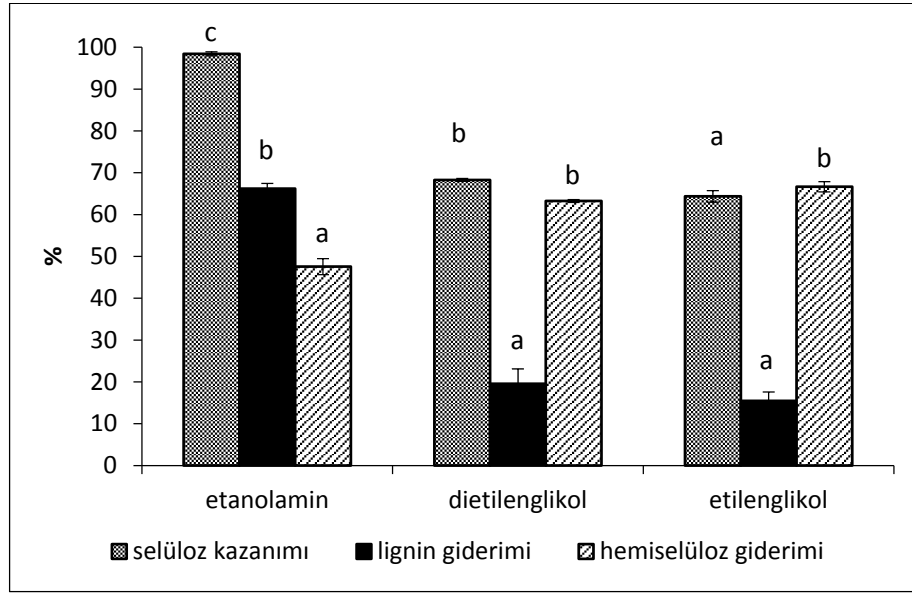
**Şekil 4.87.** %50 EtOH ile hazırlanan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ön işleminde (1/10, 120 °C, 30 dakika) H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> derişiminin ön işlem uygulanmış fındık kabuklarının enzimatik hidrolizi sonucunda elde edilen glikoz kazanımı, sakkarifikasyon ve selüloz hidroliz verimi üzerine etkisi

#### 4.11.2 Organosolv ön işlemlerinin fındık kabuğunun kimyasal bileşimine etkisi

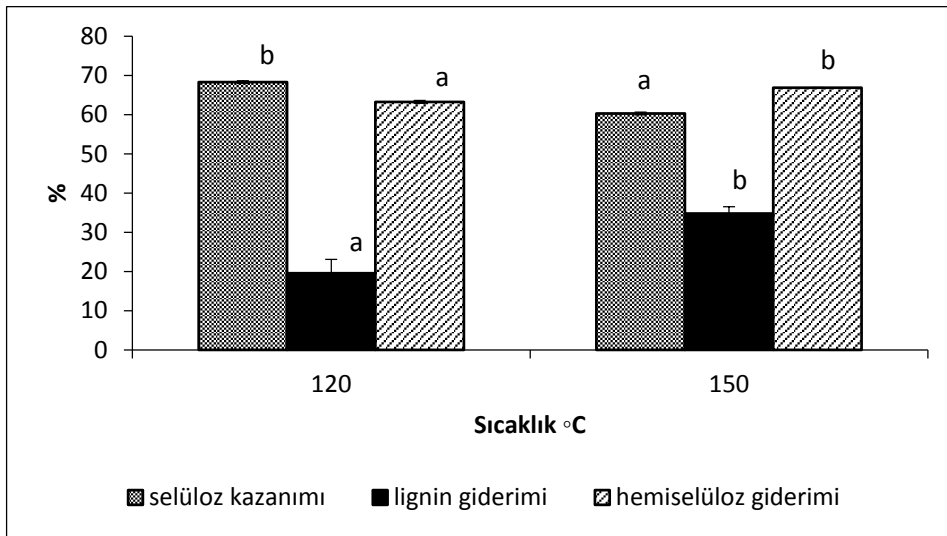
Lignin giderimi ve selüloz kazanımı üzerine en etkili organosolvün etanolamin olduğu görüşmüştür (Şekil 4.88). Lignin giderimde etanolamin çözücüsünü ile %66,19 değerine ulaşılırken bu oran dietilen glikol ile %19,57 dir. Hemiselüloz gideriminde ise etilenglikol ve dietilen glikolün etanolamine göre daha etkili olduğu görülmektedir. Etilenglikol ve dietilenglikol ile fındık kabuklarına uygulanan ön işlemler (1/10, 120°C, 60 dak) sonucunda sırasıyla %66,67 ve %63,25 hemiselüloz giderimi elde edilmiştir. etanol amin çözücüsünün selüloz çözme

kapasitesinin düşük olmasının sebebi diğer çözücülere göre daha düşük kaynama noktasına sahip olması olabilir.

Glikoz kazanımının yüksek olduğu dietilenglikol ön işleminde sıcaklığın fındık kabuğunu kimyasal bileşimine etkisinde ise, ön işlemin sıcaklığının artması ile selüloz kazanım %68,28 den %60,30 a düştüğü, lignin ve hemiselüloz giderim miktarları sırasıyla %19,57 den %34,76 ya, %63,25 den %66,87 ye arttığı görülmüştür (Şekil 4.89).



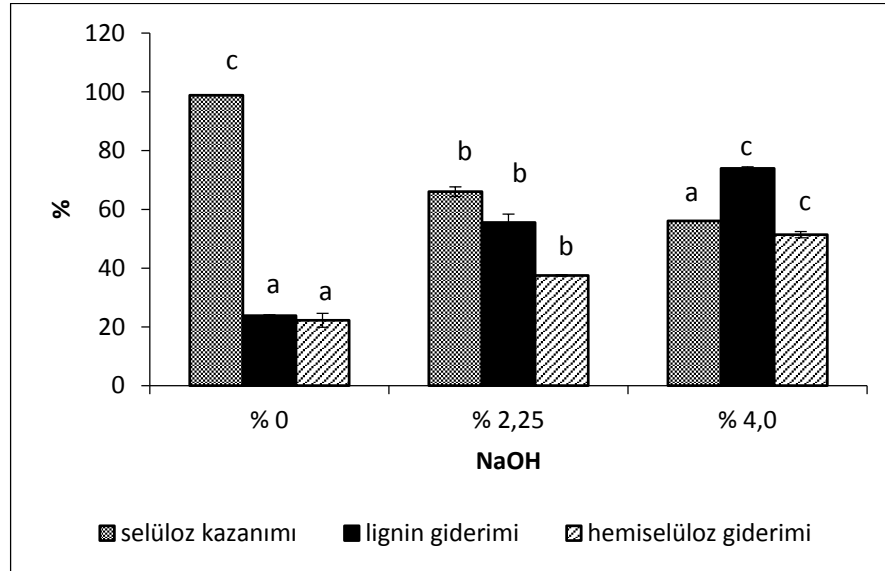
Şekil 4.88. Etanolamin, dietilen glikol, etilen glikol (1/10 katı/sıvı, 120°C, 60 dak)'ün ön işlem uygulanmış fındık kabuklarının kimyasal bileşimine etkisi



Şekil 4.89. 120 ve 150°C sıcaklıklarda (1/10katı sıvı, 60 dakika) dietilen glikol'ün, ön işlem uygulanmış fındık kabuklarının kimyasal bileşimine etkisi

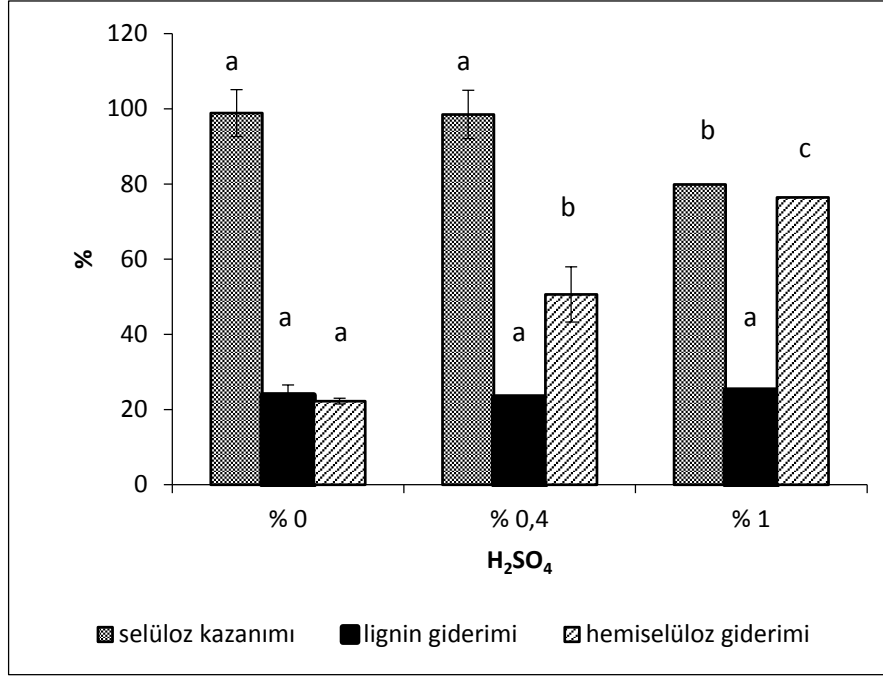
% 50 lik etilalkol çözeltisi içerisinde NaOH ilave edilmesi ile ön işlem görmüş hammaddede selüloz miktarı azalırken, lignin ve hemiselüloz giderimleri artmıştır ( $p<0,05$ ). %4 NaOH ile hazırlanan etilalkol çözeltisi ile %73,94 lignin giderimi elde edilmiştir. Bu koşullarda (1/10, 120°C, 60 dak) elde edilen selüloz kazanımı ise %56,06 dır (Şekil 4.90).

Şekil 4.91'e göre H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> derişiminin %0,4'den %1 e yükselmesi ile selüloz kazanımı %98'den %79,90'a düşmüştür. Selüloz kazanımındaki bu düşüş glikoz kazanımında azaltmıştır. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> derişimi lignin giderimini değiştirmemiştir ( $p>0,05$ ). Hemiselüloz giderimi ise derişime bağlı olarak artmıştır. %1 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ile hazırlanan çözelti ile uygulanan ön işlem sonucunda %76,41 hemiselüloz giderimi elde edilmiştir.



**Şekil 4.90.** %50 EtOH ile hazırlanan NaOH ön işleminde (1/10 katı/, 120°C, 30 dak) NaOH derişiminin ön işlem uygulanmış fındık kimyasal bileşimine etkisi

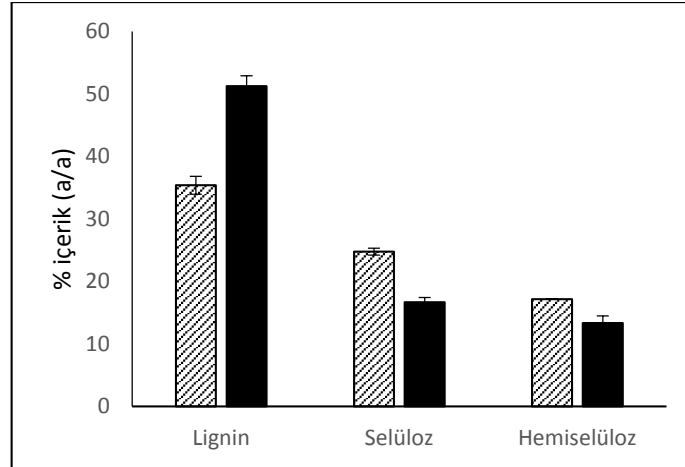




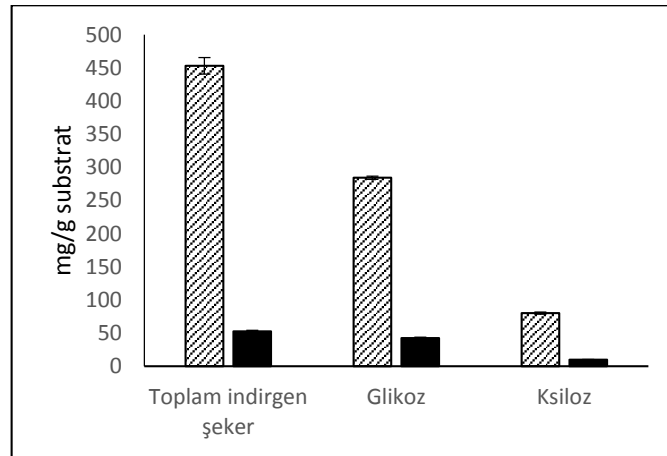
**Şekil 4.91.** %50 EtOH ile hazırlanan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ön işleminde (1/10 katı/, 120°C, 30 dak) H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> derişiminin ön işlem uygulanmış fındık kabuklarının kimyasal bileşimine etkisi

#### 4.11.3. %4 NaOH içeren % 50'lik EtOH organosolv ön işlem prosesinde kütle denkliği

Fındık kabuğuna uygulanan organosolv ön işleminde, çalışılan çözücüler ve parametreler içinde, 120°C, 1/10 katı/sıvı oranı, %4 NaOH içeren %50 EtOH (h/h) ve 30 dak proses koşulları maksimum glikoz veriminin elde edildiği koşullar olarak belirlenmiştir. Bu koşullarda fındık kabuklarına tekrar ön işlem uygulanmış ve katı bileşimi, ön işlem sıvısının bileşimi ve elde edilen şeker miktarları hesaplanmıştır. Bu değerler ön işlem prosesinde kütle ve enerji denkliklerinin kurulmasında kullanılmıştır. Belirlenen şartlarda ön işlem uygulanmış fındık kabuklarının lignin içeriğinin %35,38'e düşürülürken, selüloz yüzdesinin 25,26'ya arttığı görülmüştür. Hemiselüloz içeriğinin ise %17,17 olarak belirlenmiştir (Şekil 4.92). Bu proses koşullarında her bir gram kuru ön işlem görmüş hammadde başına toplam indirgen şeker miktarı 453,73 mg, glikoz miktarı 284,29 mg ve ksiloz miktarı ise 80,18 mg olarak hesaplanmıştır (Şekil 4.93). Ön işlem sıvısında ise asetik asit (2,73g/mL), glikoz (0,38 mg/mL) ve gliserol (0,30 mg/ml) ve ksiloz (0,12 mg/ml) belirlenmiştir (Şekil 4.94).



**Şekil 4.92.** 120°C, 1/10 katı/sıvı oranı, %4 NaOH içeren %50 EtOH ve 30 dak proses koşullarında ön işlem uygulanmış fındık kabuklarının kimyasal bileşimi ( ▨ Ön işlem uygulanmış fındık kabuğu, ■ Ham fındık kabuğu)

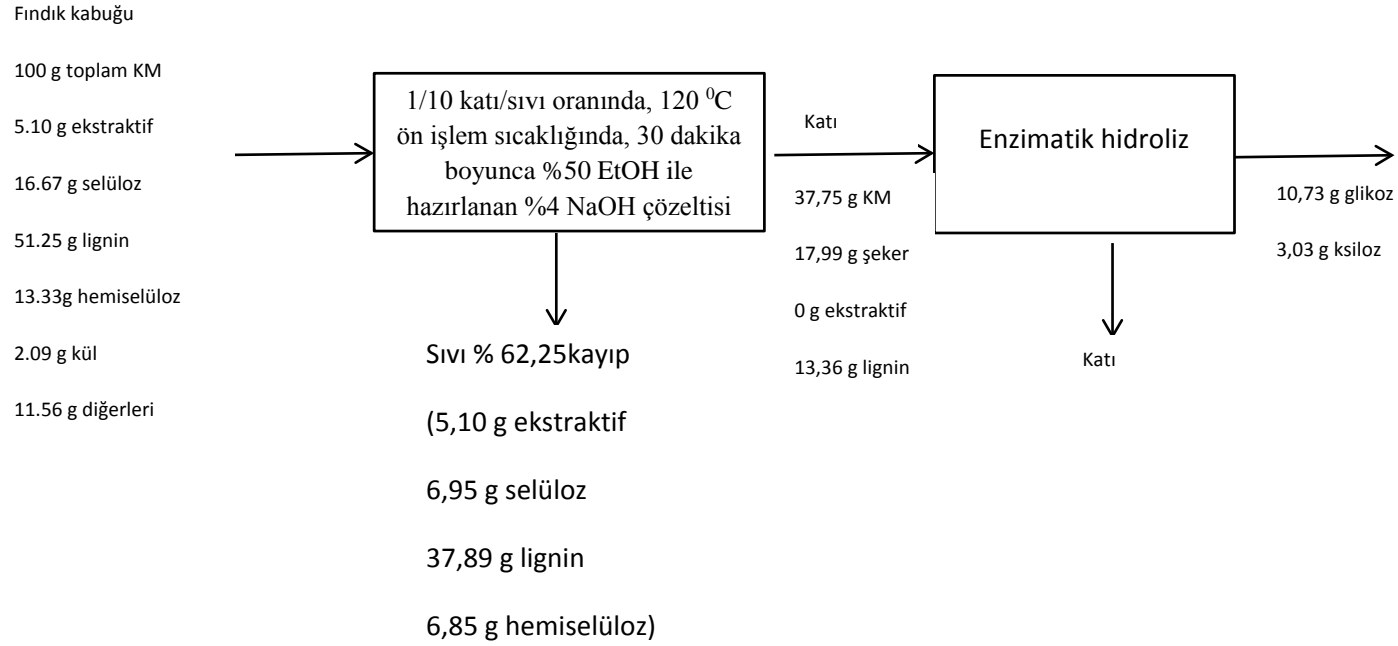


**Şekil 4.93.** 120°C, 1/10 katı/sıvı oranı, %4 NaOH içeren %50 EtOH ve 30 dak proses koşullarında ön işlem uygulanmış fındık kabuklarının hnzimatik hidroliz sonucunda elde edilen şeker miktarları ( ▨ Ön işlem uygulanmış fındık kabuğu, ■ Ham fındık kabuğu)

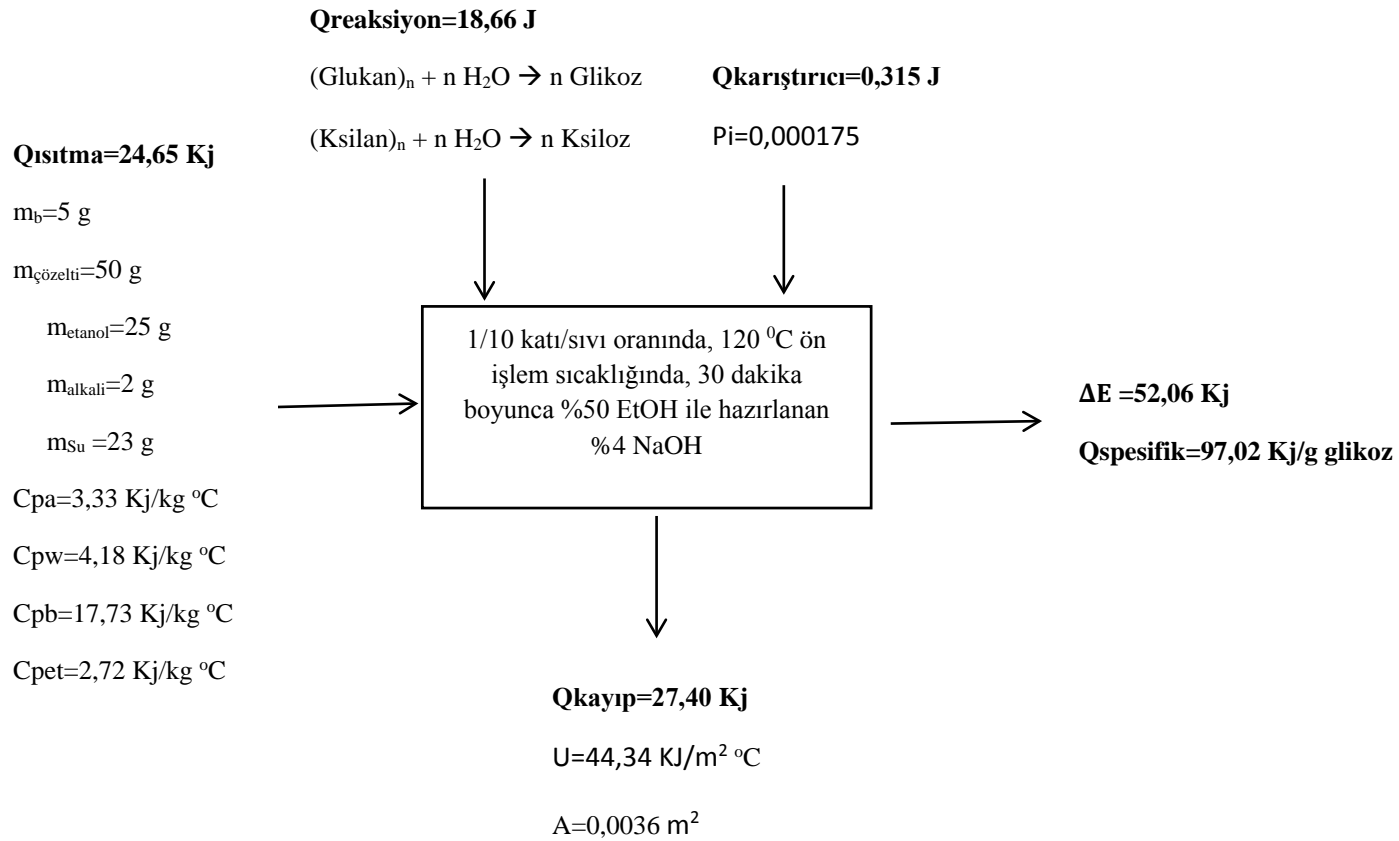


**Şekil 4.94.** 120°C, 1/10 katı/sıvı oranı, %4 NaOH içeren %50 EtOH ve 30 dak proses koşullarında ön işlem sıvılarının kimyasal bileşimi

120°C, 1/10 katı/sıvı oranı, %4 NaOH içeren %50 EtOH ve 30 dakika proses koşullarında kurulan kütle denklığı Şekil 4.95’de gösterilmiştir. Bu proses sonucunda 100 g fındık kabuğundan 10,73 g glikoz ve 3,03 g da ksiloz elde edilmiştir. Aynı koşullarda (120°C, 1/10 katı/sıvı oranı, %4 NaOH içeren %50 EtOH ve 30 dak) uygulanan organosolv ön işlemi için kurulan enerji denklığı sonucunda ise elde edilen her bir gram glikoz başına 97,02 kJ enerji harcanmıştır (Şekil 4.96).



**Şekil 4.95.** 120°C, 1/10 katı/sıvı oranı, %4 NaOH içeren %50 EtOH ve 30 dak proses koşullarında ön işlem uygulanmış fındık kabuklarının enzimatik hidroliz sonrasındaki kütle denklığı



**Şekil 4.96.** 1/10 katı/sıvı oranında, 120°C ön işlem sıcaklığında, 30 dakika boyunca %50 EtOH ile hazırlanan %4 NaOH ön işlem uygulanmış fındık kabuklarının enerji denkliği

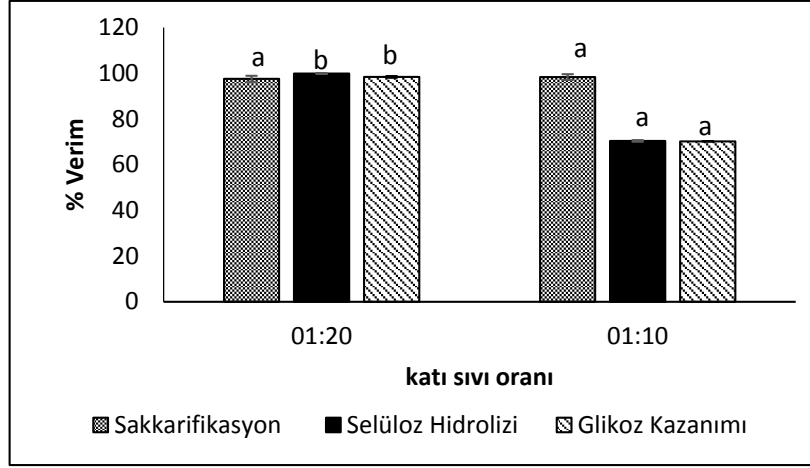
#### **4.12. İyonik Sıvılarla Yapılan Ön İşlemlerinin Fındık Kabuğunun Kimyasal Bileşimi ve Enzimatik Hidrolizine Etkisi**

Alkali ve asit çözücülere alternatif olarak çevre dostu iyonik sıvılar fındık kabuklarının enzimatik hidroliz verimlerinin artırılması için kullanılmıştır. Bu bölümde 120°C, 60 dakikada farklı iyonik sıvıların (1-etil-3-metilimidazolium asetat, [EMIM]Ac 1-Ethyl-3-methylimidazolium dietil fosfat [EMIM]DEP ve 1-etil-3-metilimidazolium klorür [EMIM]Cl) farklı katı/sıvı oranlarında (1/10 ve 1/20) ve zamanlarda (30, 60, 120 dak) fındık kabuğunun kimyasal bileşimi ve enzimatik hidrolizi üzerine etkileri incelenmiştir.

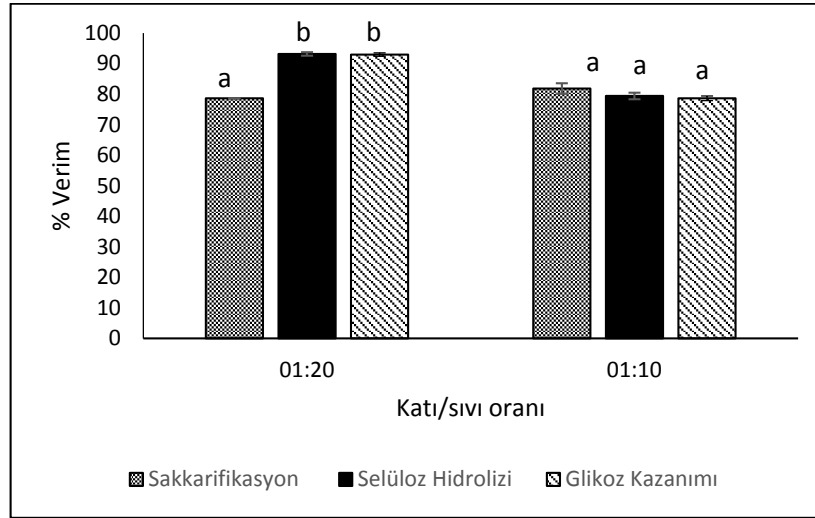
##### **4.12.1 İyonik sıvılarla yapılan ön işlemlerinin fındık kabuğunun enzimatik hidrolizine etkisi**

120°C'de 60 dak [EMIM]Ac ile uygulanan ön işlemin sonucunda beklendiği üzere çözücü miktarının artması glikoz kazanımını artırmıştır (Şekil 4.97). Glikoz kazanımı %70,18 (1/10 katı/sıvı) den %98,40 (1/20 katı/sıvı)'a yükselmiştir. [EMIM]Ac miktarının artması ile bir şekilde fındık kabuklarının sakkarifikasyon verimini değiştirmemiş ( $p>0,05$ ), bununla birlikte katı/sıvı oranı 1/10 de selüloz hidrolizi %70,38 elde edilirken, 1/20'de %99,86 değerine ulaşılmıştır (Şekil 4.97).

120°C'de 60 dak [EMIM]DEP ile uygulanan ön işlemin glikoz kazanımı üzerine çözücü miktarının artması ile glikoz kazanımı da artmış ve 1/20 katı/sıvı oranında %92,96 glikoz kazanımına ulaşılmıştır (Şekil 4.98). [EMIM]DEP ön işlemi uygulanan fındık kabuklarının sakkarifikasyon miktarlarına katı/sıvı oranı etki etmez iken, selüloz hidrolizi katı/sıvı oranının 1/10'dan 1/20'ye düşmesi ile %79,40'den %93,17 değerine yükselmiştir (Şekil 4.98).

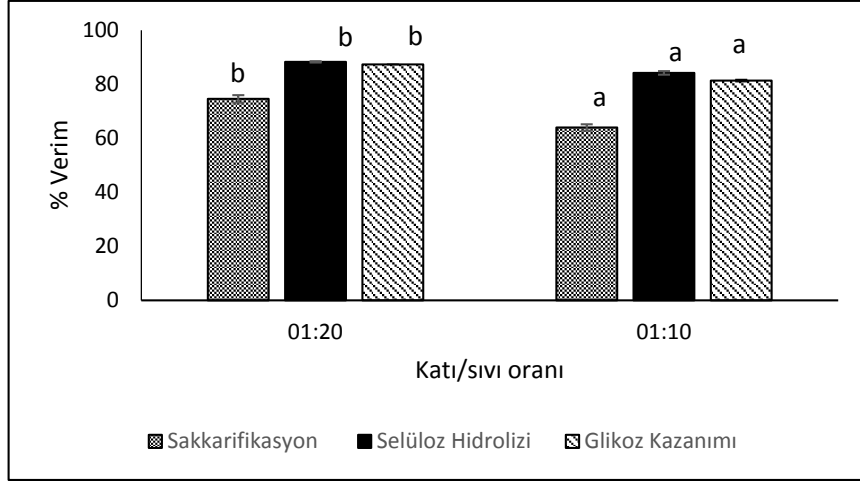


**Şekil 4.97.** Katı/sıvı oranının [EMIM]Ac ile ön işlem (120<sup>0</sup>C, 60 dak) uygulanmış fındık kabuklarının enzimatik hidrolizi sonucunda elde edilen glikoz kazanımı, sakkarifikasyon ve selüloz hidroliz verimi üzerine etkisi



**Şekil 4.98.** Katı/sıvı oranının [EMIM]DEP ile ön işlem (120<sup>0</sup>C, 60 dak) uygulanmış fındık kabuklarının enzimatik hidrolizi sonucunda elde edilen glikoz kazanımı, sakkarifikasyon ve selüloz hidroliz verimi üzerine etkisi

[EMIM]Cl ile uygulanan ön işleminin glikoz kazanımı üzerine katı/sıvı oranının etkisi de diğer iyonik sıvılara benzerdir. Ancak bu sıvı ile 1/20 de sadece %87,33'lük bir glikoz kazanımı elde edilmiştir (Şekil 4.99). [EMIM]Cl miktarının iki kat artması ile sakkarifikasyon verimi %16, hidroliz verimi ise %5 oranında artmıştır (Şekil 4.99)

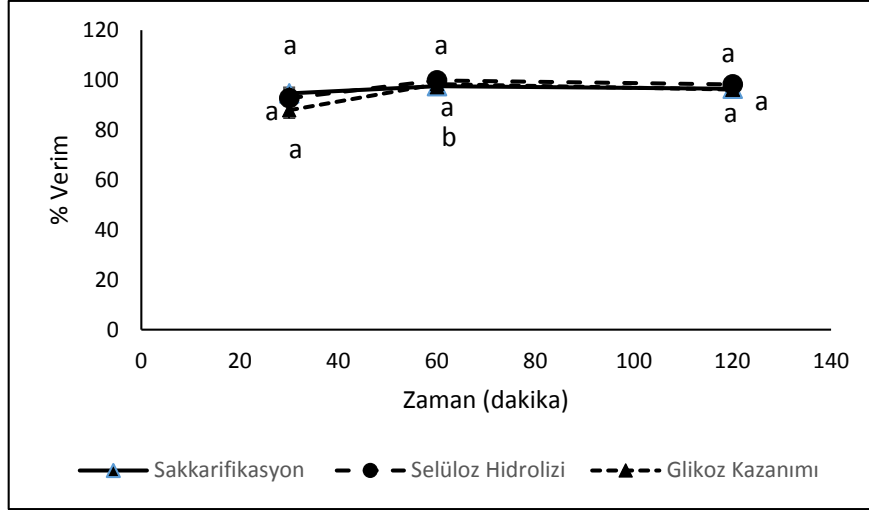


**Şekil 4.99.** Katı/sıvı oranının [EMIM]Cl ile ön işlem (120°C, 60 dak) uygulanmış fındık kabuklarının enzimatik hidrolizi sonucunda elde edilen glikoz kazanımı, sakkarifikasyon ve selüloz hidroliz verimi üzerine etkisi

İyonik sıvılarla yapılan ön işlemlerde 1/20 katı sıvı oranı glikoz kazanımı açısından en uygun oran olarak belirlenmiştir. Bu oran kullanılarak 120°C’de ön işlem zamanının enzimatik hidroliz ve ön işlem görmüş fındık kabuğu üzerine etkileri incelenmiştir.

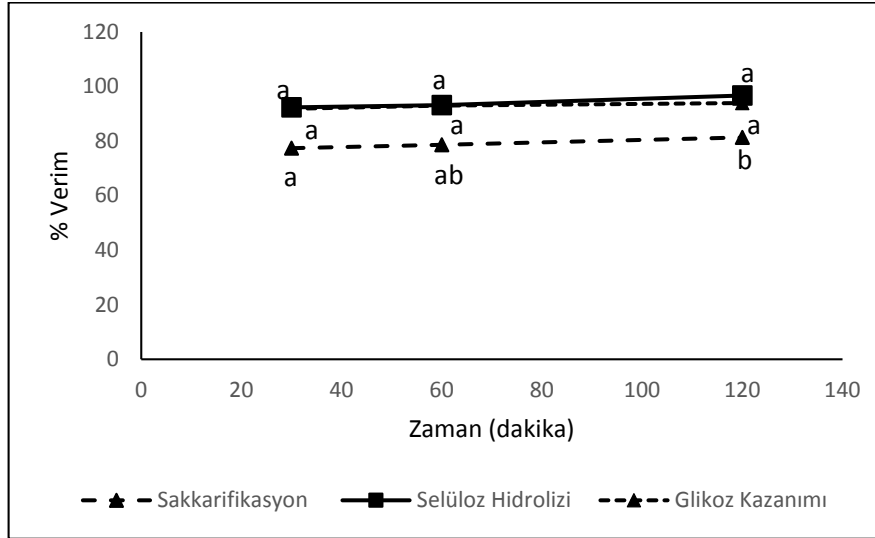
[EMIM]Ac iyonik sıvısı ile uygulanan ön işlem zamanının 30 dak’dan 60 dak’ya artırılması ile fındık kabuklarından glikoz kazanımı bir miktar anlamlı bir şekilde artmıştır, sürenin uzaması ile azda olsa (%2) azalmıştır (Şekil 4.100). Ön işlem zamanının sakkarifikasyon ve selüloz hidrolizi verimi üzerine etkisi görülmemiştir ( $p>0,05$ ; Şekil 4.100)





**Şekil 4.100.** Ön işlem zamanının [EMIM]Ac ile ön işlem (120°C, 1/20) uygulanmış fındık kabuklarının enzimatik hidrolizi sonucunda elde edilen glikoz kazanımı, sakkarifikasyon ve selüloz hidroliz verimi üzerine etkisi

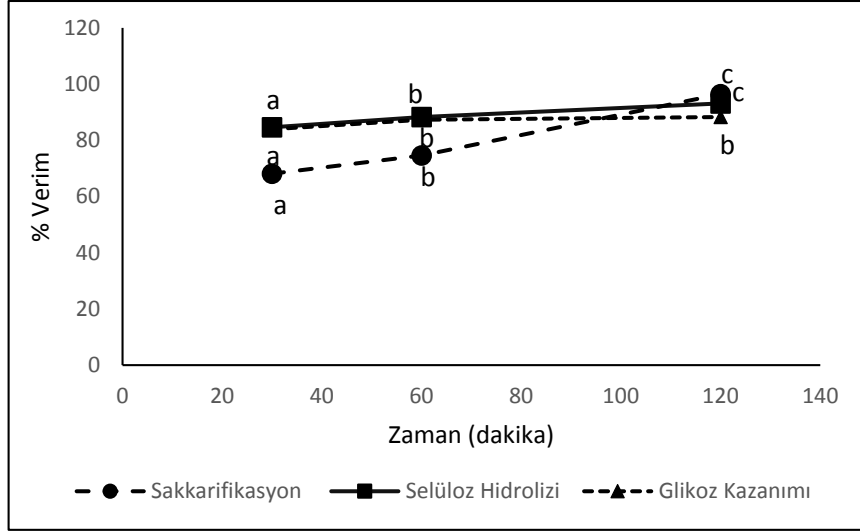
[EMIM]DEP iyonik sıvısıyla fındık kabuklarına uygulanan ön işleminde de ön işlem süresinin glikoz kazanımı, sakkarifikasyon selüloz hidrolizi üzerine etkisi ( $p>0,05$ ) bulunmamıştır (Şekil 4.101)



**Şekil 4.101.** Ön işlem zamanının [EMIM]DEP ile ön işlem (120°C, 1/20) uygulanmış fındık kabuklarının enzimatik hidrolizi sonucunda elde edilen glikoz kazanımı, sakkarifikasyon ve selüloz hidroliz verimi üzerine etkisi

[EMIM]Cl ile fındık kabuklarına uygulanan ön işlem sonucunda ön işlem süresi 30 dakikadan 60 dakikaya yükseltildiğinde elde edilen glikoz %5 artmıştır

(Şekil 4.102) şekilde artarken ön işlem süresinin 120 dakikaya çıkarılması ile glikoz kazanımında anlamlı bir artış meydana gelmemiştir (Şekil 4.102). Selüloz hidrolizi bu iyonik sıvı ile zamanla değişmezken sakkarifikasyon verimi %68'den (30dak) %96'ya (120 dakika) çıkmıştır (Şekil 4.102).

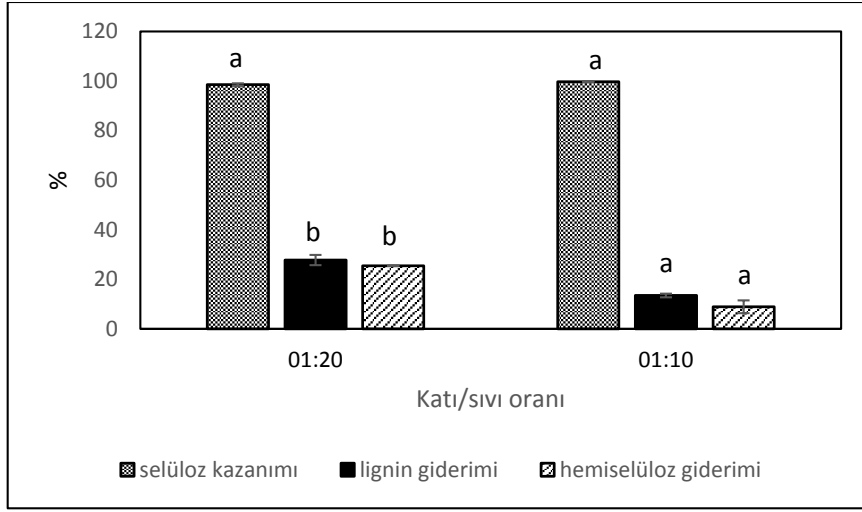


**Şekil 4.102.** Ön işlem zamanının [EMIM]Cl ile ön işlem (120°C, 1/20) uygulanmış fındık kabuklarının enzimatik hidrolizi sonucunda elde edilen glikoz kazanımı, sakkarifikasyon ve selüloz hidroliz verimi üzerine etkisi

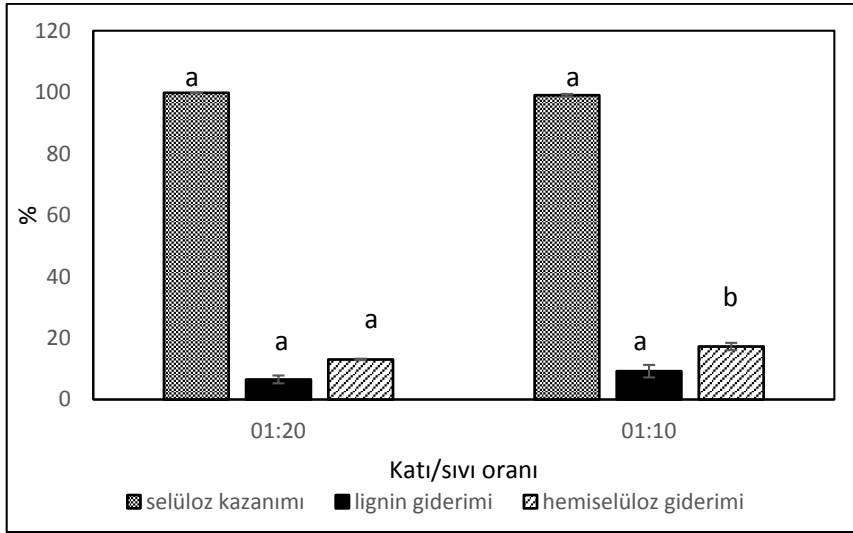
#### 4.12.2 İyonik sıvılarla yapılan ön işlemlerinin fındık kabuğunun kimyasal bileşimine etkisi

120°C'de, 60 dakika farklı iyonik çözücülerin miktarlarının iki katına çıkması, ön işlem görmüş fındık kabuğundan selüloz kazanım yüzdesini değiştirmemiştir. ( $p>0,05$ ; Şekil 4.103, 4.104 ve 4.105). Çalışılan tüm iyonik sıvılar katıdan selülozu % 98-99 oranında uzaklaştırmıştır.

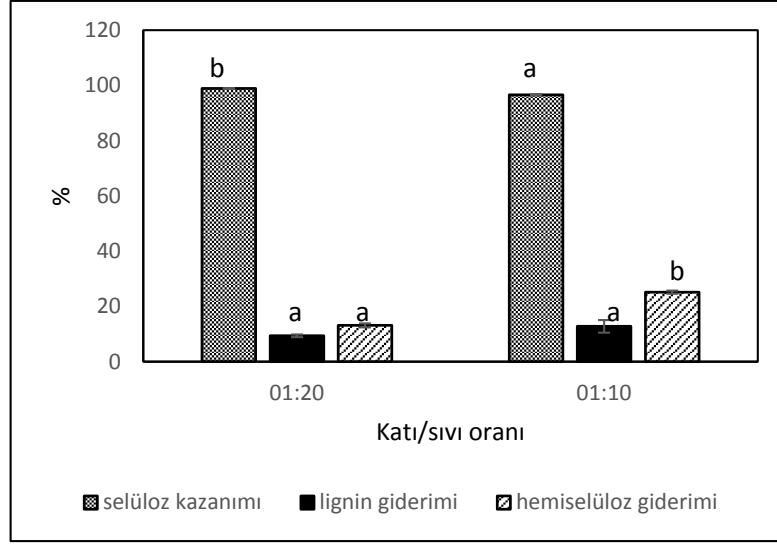
[EMIM]Ac iyonik sıvısı ile uygulanan ön işlem sonucunda çözücü miktarı arttırıldıkça lignin (%27,73) ve hemiselüloz giderimlerinin (%25,44) de arttığı görülmektedir (Şekil 4.103). Çalışılan sıvılar içinde [EMIM]DEP ile en düşük orada lignin (%9,23) ve hemiselüloz (%17,2) giderilmiştir (Şekil 4.104). 1-etil-3-metilimidazolium klorür iyonik sıvısı lignin gideriminden daha çok hemiselüloz giderimi üzerine etkilidir. 1/10 katı sıvı oranında elde edilen lignin giderimi ve hemiselüloz giderimi değerleri sırasıyla %12,77 %25,14 dür (Şekil 4.105).



**Şekil 4.103.** Katı/sıvı oranının [EMIM]Ac ile ön işlem (120°C, 60 dak) uygulanmış fındık kabuklarının kimyasal bileşimine etkisi

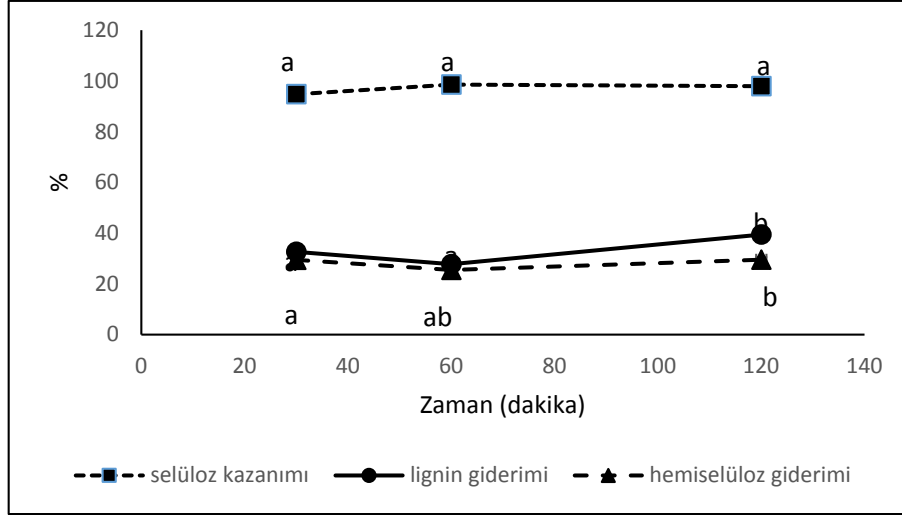


**Şekil 4.104.** Katı/sıvı oranının [EMIM]DEP ile ön işlem (120°C, 60 dak) uygulanmış fındık kabuklarının kimyasal bileşimine etkisi

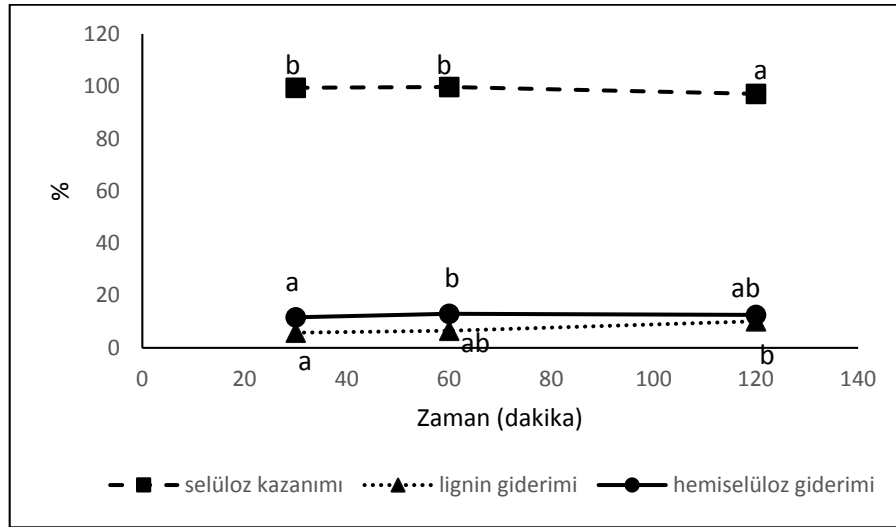


**Şekil 4.105.** Katı/sıvı oranının 1-etil-3metilimidazolium klorür ile ön işlem (120 °C, 60 dak) uygulanmış fındık kabuklarının kimyasal bileşimine etkisi

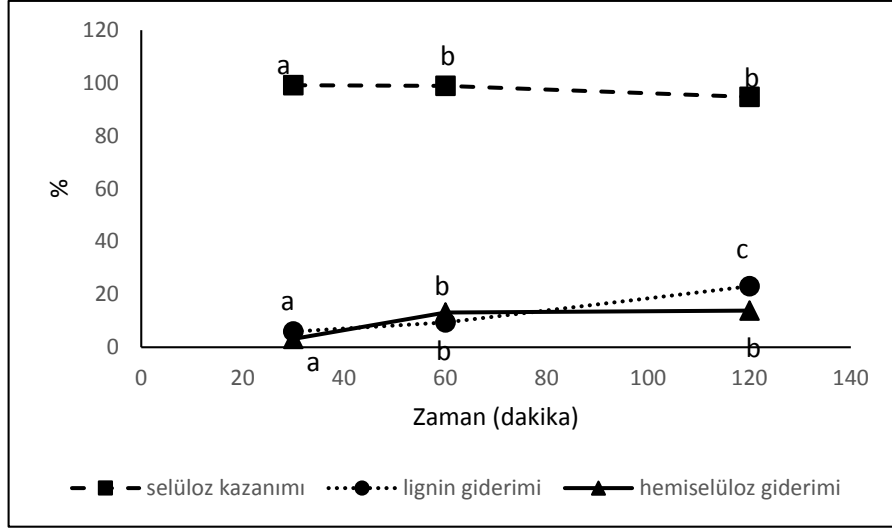
120°C ve 1/20 katı sıvı oranında, [EMIM]Ac iyonik sıvısıyla uygulanan ön işlem zamanının selüloz kazanımı üzerine etkisi yok iken ( $p>0,05$ ), ön işlem süresinin 60 dakika'dan 120 dakika'ya arttırılması ile lignin ve hemiselüloz giderim miktarları sırasıyla %40 ve %16 artarak %39,44 ve %29,50 değerlerine ulaşılmıştır (Şekil 4.106). [EMIM]DEP iyonik sıvısı ile uygulanan ön işlem sonucunda ön işlem zamanı arttırıldıkça lignin ve hemiselüloz giderimleri az da olsa artmış, selüloz kazanımı ise azalmıştır. 120 dakikalık [EMIM]DEP iyonik sıvısı ön işlemi sonucunda %12,58 hemiselüloz ve %10,13 lignin giderimi elde edilmiştir (Şekil 4.107). [EMIM]Cl ile zamanla selüloz geri kazanımı yaklaşık %5 azalmıştır (Şekil 4.108). Lignin ve hemiselüloz giderimi açısından ise zamanın pozitif etkisi görülmüştür. Buna göre 120 dakikalık ön işlem sonucunda %23,09 lignin giderimi, %13,88 hemiselüloz giderimi elde edilmiştir (Şekil 4.108).



Şekil 4.106. Ön işlem zamanının [EMIM]Ac ile ön işlem (120 °C, 60 dakika) uygulanmış fındık kabuklarının kimyasal bileşimine etkisi



Şekil 4.107. Ön işlem zamanının [EMIM]DEP ile ön işlem (120 °C, 60 dakika) uygulanmış fındık kabuklarının kimyasal bileşimine etkisi

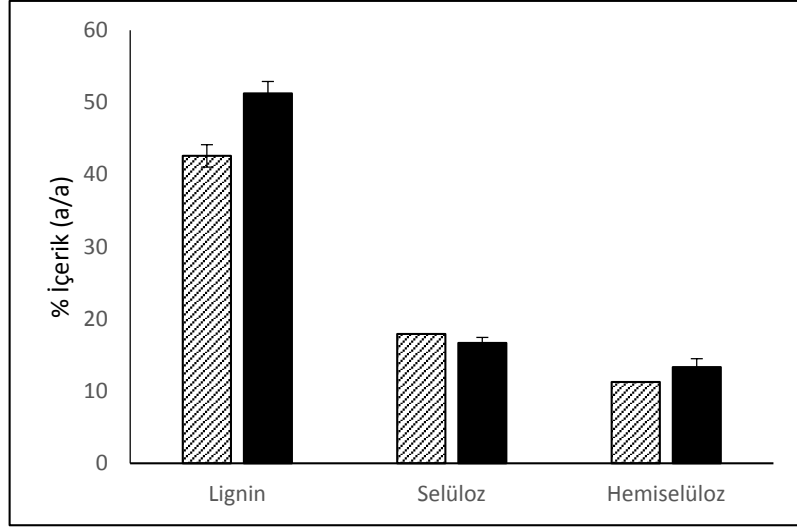


**Şekil 4.108.** Ön işlem zamanının [EMIM]Cl ile ön işlem (120°C, 60 dakika) uygulanmış fındık kabuklarının kimyasal bileşimine etkisi

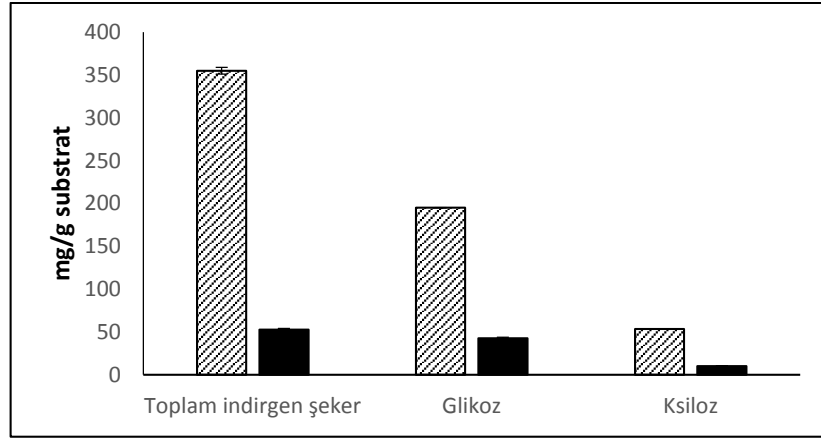
#### 4.12.3. [EMIM]Ac ön işlem prosesinin (120 °C ve 1/10 katı/sıvı, 60 dak) kütle denklığı

Fındık kabuğuna uygulanan iyonik sıvılarla yapılan ön işlemlerde, çalışılan çözücüler ve parametreler içinde, 120°C, 1/10 katı/sıvı oranı, 60 dakika ve [EMIM]Ac'nin çözücü olarak kullanıldığı proses koşulları maksimum glikoz veriminin elde edildiği koşullar olarak belirlenmiştir.

Bu koşullarda fındık kabuklarına tekrar ön işlem uygulanmış ve katı bileşimi, ön işlem sıvısının bileşimi ve elde edilen şeker miktarları hesaplanmıştır. Bu değerler ön işlem prosesinde kütle ve enerji denkliklerinin kurulmasında kullanılmıştır. Belirlenen şartlarda ön işlem uygulanmış fındık kabuklarının lignin içeriğinin %42,59'a, hemiselüloz içeriğinin ise %11,26'ya azaltılırken, selüloz yüzdesinin %17,92'ye arttırıldığı görülmüştür (Şekil 4.109). Bu proses koşullarında her bir gram kuru ön işlem görmüş hammadde başına toplam indirgen şeker miktarı 312,23 mg, glikoz miktarı 195,11 mg ve ksiloz miktarı ise 53,53 mg olarak hesaplanmıştır (Şekil 4.110).

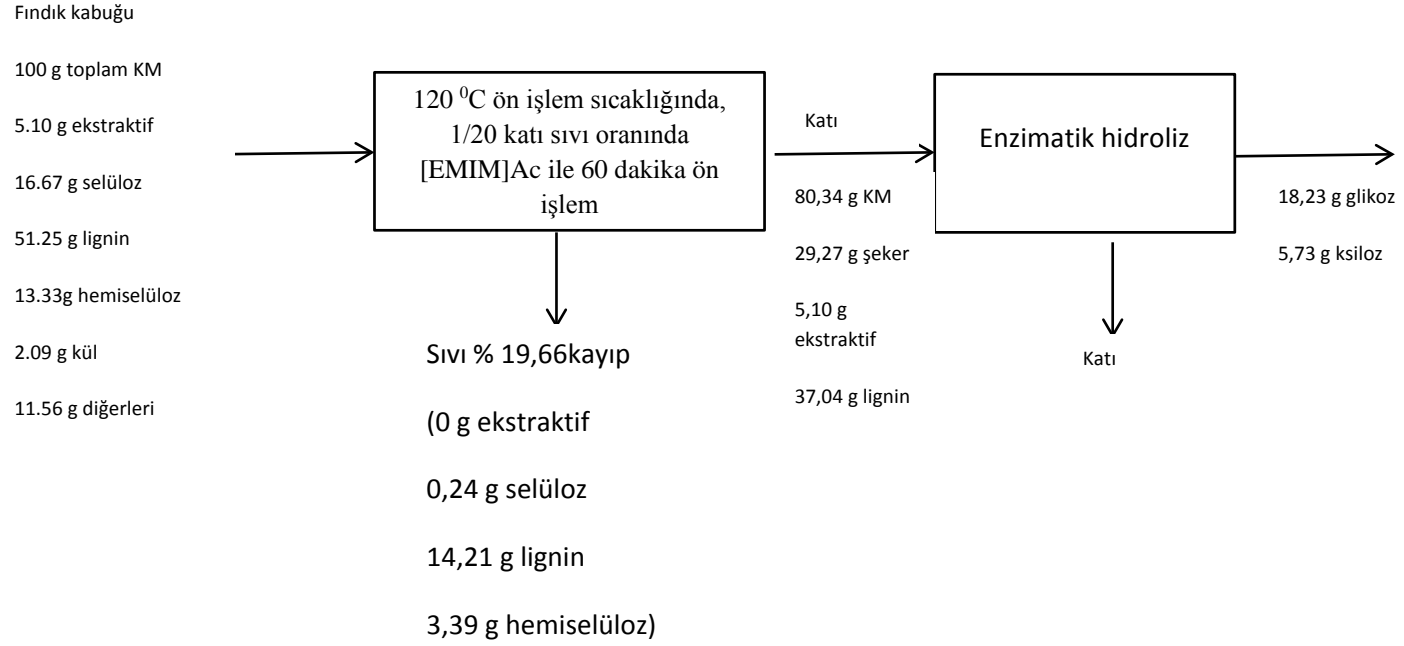


**Şekil 4.109.** [EMIM]Ac ile ön işlem (120°C, 1/20, 60 dak) uygulanmış fındık kabuklarının kimyasal bileşimi (▨ Ön işlem uygulanmış fındık kabuğu, ■ Ham fındık kabuğu)



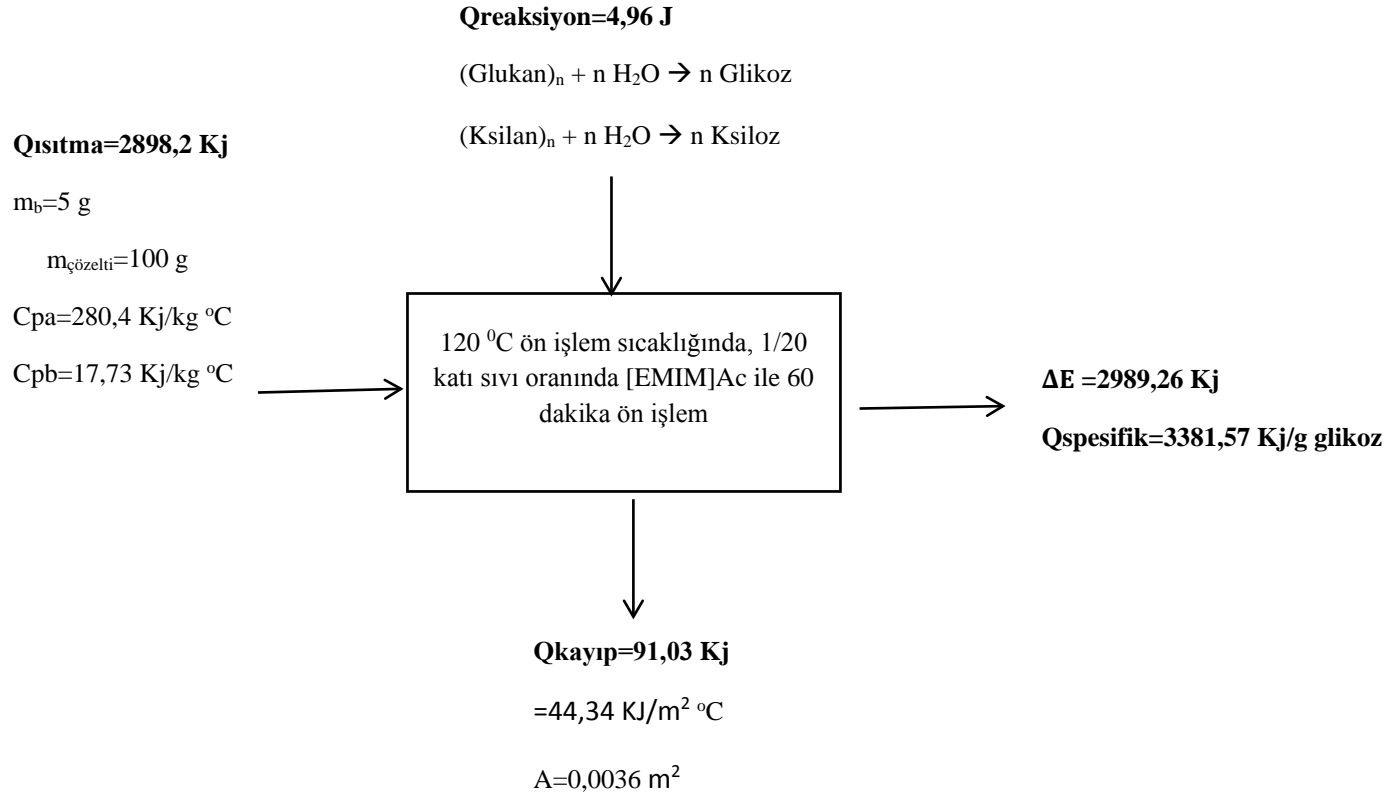
**Şekil 4.110.** [EMIM]Ac ile ön işlem (120 °C, 1/20, 60 dak) uygulanmış fındık kabuklarının enzimatik hidrolizi sonucunda elde edilen şeker miktarları (▨ Ön işlem uygulanmış fındık kabuğu, ■ Ham fındık kabuğu)

[EMIM]Ac ile 120°C, 1/20 katı/sıvı oranı, 60 dakika proses koşullarında kurulan kütle denkliği Şekil 4.111’de gösterilmiştir. Bu proses sonucunda 100 g fındık kabuğundan 17,68 g glikoz ve 4,85 g da ksiloz elde edilmiştir. Aynı koşullarda ([EMIM]Ac ile 120 °C, 1/20 katı/sıvı oranı, 60 dak) uygulanan iyonik sıvı ön işlemi için kurulan enerji denkliği sonucunda ise elde edilen her bir gram glikoz başına 3381,57 kJ enerji harcanmıştır (Şekil 4.112).



**Şekil 4.111.** [EMIM]Ac ile ön işlem (120°C, 1/20, 60 dakika) uygulanmış findık kabuklarının enzimatik hidroliz sonrasındaki kütle dengeliği





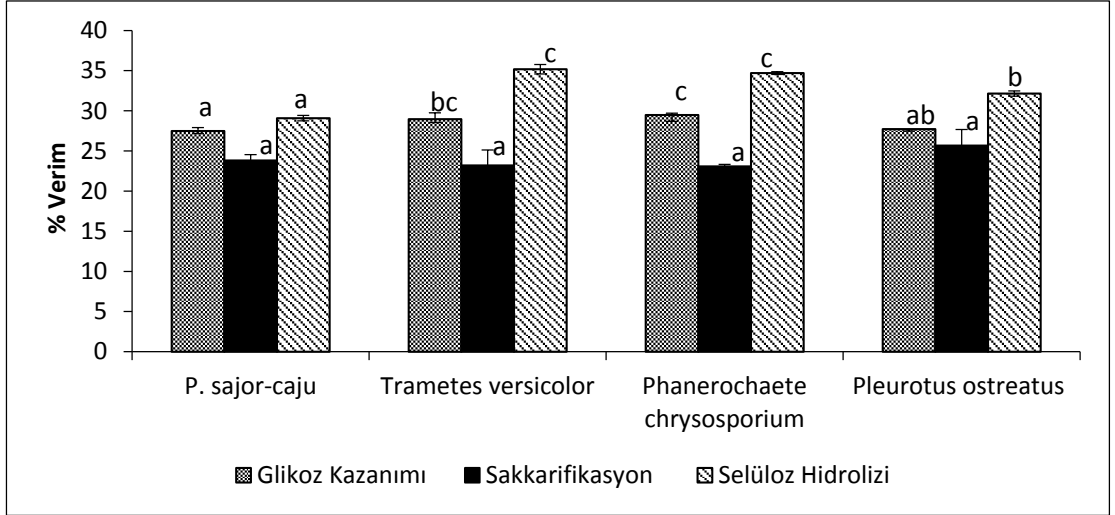
**Şekil 4.112.** 120 °C ön işlem sıcaklığında, 1/20 katı sıvı oranında [EMIM]Ac ile 60 dakika ön işlem ön işlem uygulanmış fındık kabuklarının enerji denkliği

### **4.13. Biyolojik Ön İşlemlerin Fındık Kabuğunun Kimyasal Bileşimi Ve Enzimatik Hidrolizine Etkisi**

Kimyasal çözücülere alternatif olarak çevre dostu funguslar kullanılmaktadır. Funguslar toksik olmayan özelliklerinin yanı sıra düşük sıcaklıkta çalışmalarında dolayı ön işlem sırasında harcanan enerji bakımından daha ekonomiktirler. Bu bölümde fındık kabuklarına beyaz çürükçül funguslarla (*Trametes versicolor*, *Phanerochaete chrysosporium*, *P. sajor-caju*, *Pleurotus ostreatus*) aynı koşullarda (1/10 katı/sıvı oranında, 28<sup>0</sup>C ön işlem sıcaklığında 1 hafta boyunca) ön işlem uygulanmış ve fungus türü ile disk sayısı'nın fındık kabuğunun kimyasal bileşimi ve enzimatik hidrolizi üzerine etkileri incelenmiştir.

#### **4.13.1 Biyolojik ön işlemlerin fındık kabuğunun enzimatik hidrolizine etkisi**

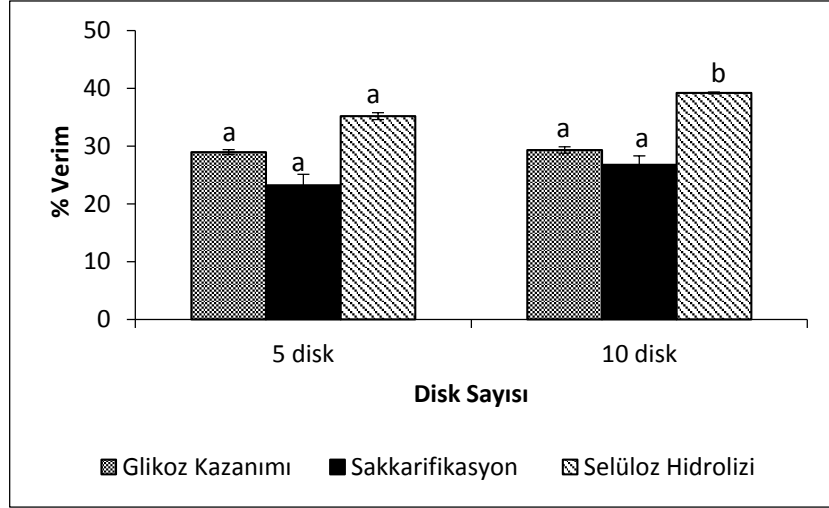
Fındık kabuklarına beyaz çürükçül funguslarla (*Trametes versicolor*, *Phanerochaete chrysosporium*, *P. sajor-caju*, *Pleurotus ostreatus*) aynı koşullarda (1/10 katı/sıvı oranında, 28<sup>0</sup>C ön işlem sıcaklığında 1 hafta boyunca) uygulanan ön işlem sonucunda gerçekleştirilen enzimatik hidroliz sonucu elde edilen glikoz kazanımı %27,49 ile %29,47 arasında değişmektedir (Şekil 4.113). En yüksek glikoz kazanımı *Phanerochaete chrysosporium* ile elde edilmiştir. Sakkarifikasyon verimlerinde fungus çeşidine bağlı olarak anlamlı bir değişikliğin olmadığı görülmektedir (Şekil 4.113). Selüloz hidrolizi açısından ise en yüksek değerlere *Trametes versicolor*, ve *Phanerochaete chrysosporium* tarafından uygulanana ön işlem sonucunda ulaşılmıştır. Bu ön işlemler sonucunda elde edilen selüloz hidroliz miktarları sırasıyla %35,18 ve %34,70 dir.



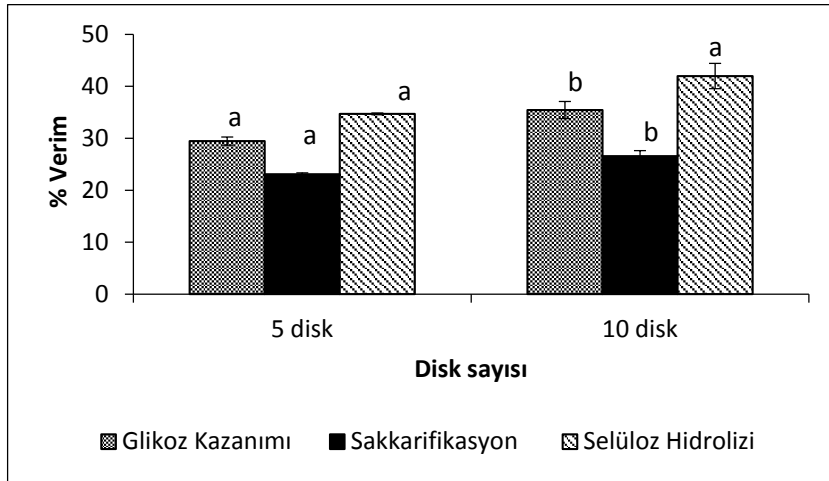
**Şekil 4.113.** Farklı funguslarla ön işlem uygulanmış (1/10 katı/sıvı, 28 °C, 1 hafta) fındık kabuklarının enzimatik hidrolizi sonucunda elde edilen glikoz kazanımı, sakkarifikasyon ve selüloz hidroliz verimi üzerine etkisi

Şekil 4.114’de 1/10 katı/sıvı oranında, 28<sup>0</sup>C ön işlem sıcaklığında 1 hafta boyunca *Trametes versicolor* ile uygulanan ön işlemin glikoz kazanımı ve sakkarifikasyon ve selüloz hidrolizine disk sayısının etkisi verilmektedir. *Trametes versicolor* ile uygulanan ön işlem sonucunda disk sayısının sakkarifikasyon sonucuna herhangi bir anlamlı etki gözlemlenmez iken, selüloz hidrolizi üzerine etkili olmuştur. Selüloz hidrolizi ön işlem sırasında 5 disk kullanıldığında %35,18 iken 10 disk kullanıldığında %39,20 ye yükselmiştir.

*Phanerochaete chrysosporium* ile fındık kabuğuna uygulanan ön işlemlerin enzimatik hidroliz sonucunda elde edilen glikoz kazanımlarına etkisi disk sayısı ile anlamlı bir şekilde ( $p<0,05$ ) artmıştır (Şekil 4.115). Ön işlem sırasında 5 disk kullanılması ile %29,47 glikoz kazanımı elde edilirken, disk sayısı 10’a arttırıldığında glikoz kazanımı %35,43 e yükselmiştir. Şekil 141’a göre disk sayısı sakkarifikasyon ve selülüz hidroliz verimini sırası ile %13 ve %24 oranında artırmıştır ( $p<0,05$ ). 10 disk *Phanerochaete chrysosporium* ile fındık kabuğuna uygulanan ön işlem sonrasında enzimatik hidroliz selüloz verimi %41,97 olarak elde edilmiştir.



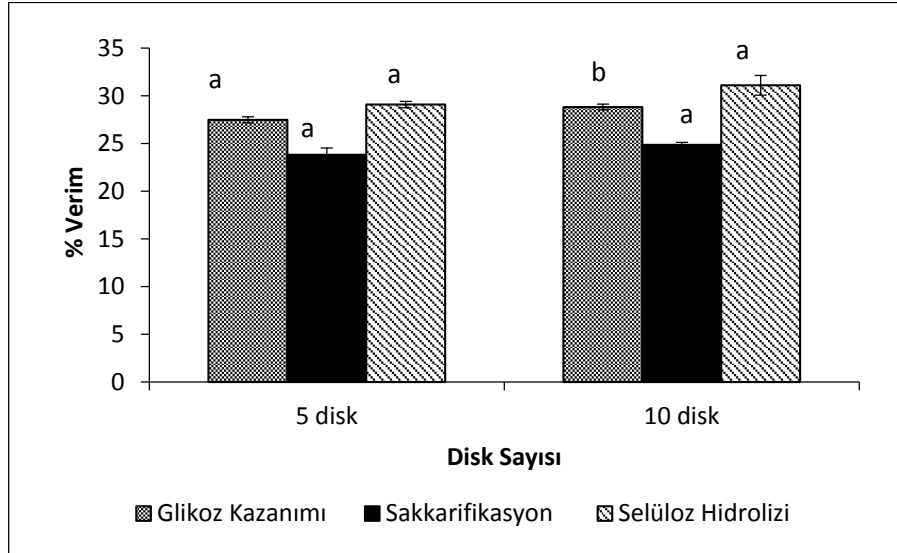
**Şekil 4.114.** Disk sayısının *Trametes versicolor* ile ön işlem (1/10 katı/sıvı, 28 °C, 1 hafta) uygulanmış fındık kabuklarının enzimatik hidrolizi sonucunda elde edilen glikoz kazanımı, sakkarifikasyon ve selüloz hidroliz verimi üzerine etkisi



**Şekil 4.115.** Disk sayısının *Phanerochaete chrysosporium* ile ön işlem (1/10 katı/sıvı, 28 °C, 1 hafta) uygulanmış fındık kabuklarının enzimatik hidrolizi sonucunda elde edilen glikoz kazanımı, sakkarifikasyon ve selüloz hidroliz verimi üzerine etkisi

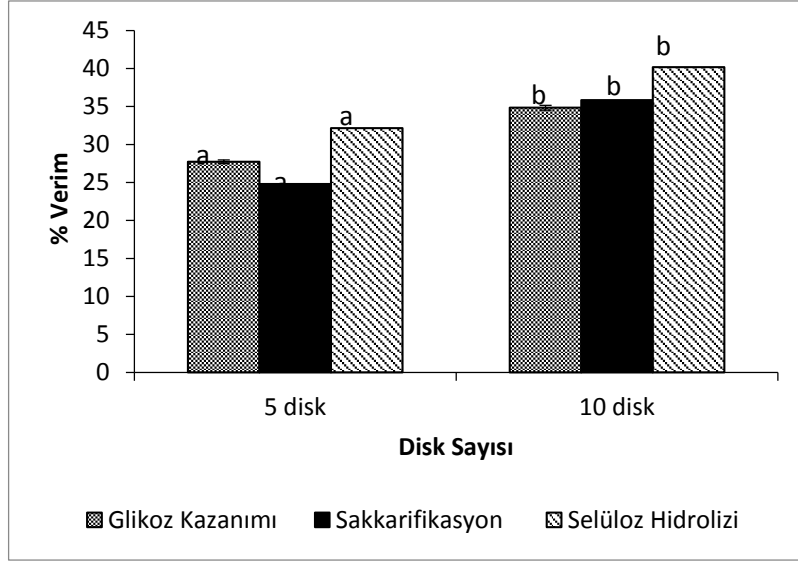
*P. sajor-caju* ile uygulanan ön işlemin disk sayısı glikoz kazanımı üzerine anlamlı az da (%5) olsa bir etki yaratmıştır. 10 disk ile uygulanan *P. sajor-caju* ön işleminde sonucunda %28,83 glikoz kazanımı elde edilmiştir (Şekil 4.116). *P. sajor-caju* ile uygulanan ön işlemin disk sayısının sakkarifikasyon verimine etkisi yok iken selüloz hidrolizi verimini (%13) artırmıştır. Ancak bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ( $p>0,05$ ). 10 disk ile uygulanan *P. sajor-caju* ön işleminden

sonra elde edilen sakkarifikasyon ve selüloz hidrolizi değerleri sırasıyla %24,87, %31,11 dir (Şekil 4.116).



**Şekil 4.116.** Disk sayısının *P. sajor-caju* ile ön işlem (1/10 katı/sıvı, 28°C, 1 hafta) uygulanmış fındık kabuklarının enzimatik hidrolizi sonucunda elde edilen glikoz kazanımı, sakkarifikasyon ve selüloz hidroliz verimi üzerine etkisi

Uygulanan disk sayısının iki katına çıkması ile *Pleurotus ostreatus* ile ön işlemden glikoz kazanımı %27,72 den %34,83’de yükselerek yaklaşık olarak %25 artmıştır (Şekil 4.117). Glikoz verimine paralel olarak disk sayısı sakkarifikasyon verimini %46, selüloz hidrolizi verimini ise %25 artırmıştır. 10 disk kullanılarak yapılan ön işlemlerde sakkarifikasyon verimi %35,84, selüloz hidrolizi verimi ise %40,17 olarak bulunmuştur (Şekil 4.117).

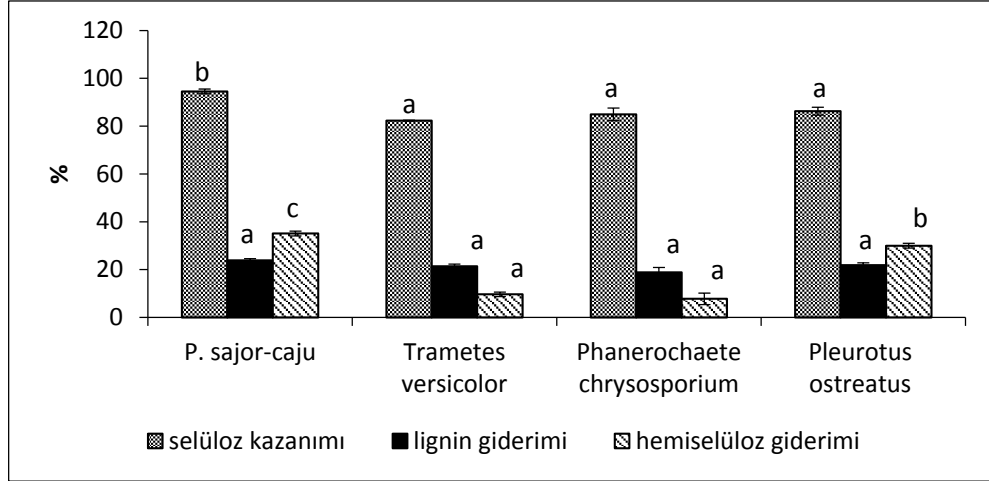


**Şekil 4.117.** Disk sayısının *Pleurotus ostreatus* ile ön işlem (1/10 katı/sıvı, 28°C, 1 hafta) uygulanmış fındık kabuklarının enzimatik hidrolizi sonucunda elde edilen glikoz kazanımı, sakkarifikasyon ve selüloz hidroliz verimi üzerine etkisi

#### 4.13.2 Biyolojik ön işlemlerin fındık kabuğunun kimyasal bileşimine etkisi

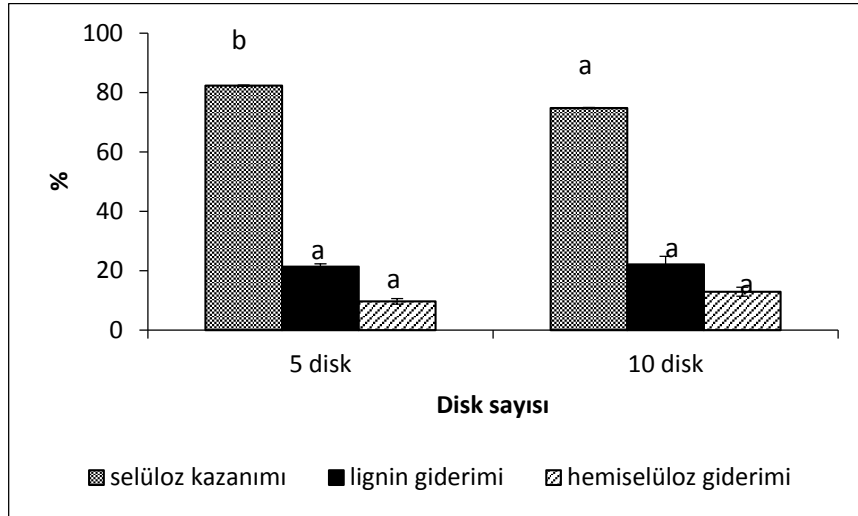
Şekil 4.118’de 1/10 katı/sıvı oranında, 28°C ön işlem sıcaklığında 1 hafta boyunca farklı funguslarla uygulanan ön işleminin fındık kabuğunun kimyasal bileşimi üzerine farklı fungusların etkisi görülmektedir. Selüloz kazanımları fungusların etkisi sırasıyla *P. sajor-caju* (%94,51) > *Pleurotus ostreatus* (%86,24) > *Phanerochaete chrysosporium* (%84,93) > *Trametes versicolor* (%82,33) olarak bulunmuştur. Lignin giderimleri üzerine fungusların anlamlı bir etkisi yok iken (%18-24) en yüksek hemiselüloz giderimi *P. sajor-caju* (%35,11) ile yapılan ö işleminde elde edilmiştir. Bu değeri sırasıyla *Pleurotus ostreatus* (%30,0) > *Trametes versicolor* (%9,67) > *Phanerochaete chrysosporium* (%7,79) takip etmiştir.

Disk sayısının ön işlem görmüş fındık kabuğu bileşimine etkisi incelendiğinde ise *Trametes versicolor* ile uygulanan ön işleminde disk sayısının artırılması lignin ve hemiselüloz giderimi üzerinde etki göstermez ( $p > 0,05$ ) iken, selüloz kazanımı az da olsa (%11) azalmıştır (Şekil 4.119). *Phanerochaete chrysosporium* disk sayısının artması sadece hemiselüloz giderimini arttırmıştır (yaklaşık 4 kat) (Şekil 4.120).

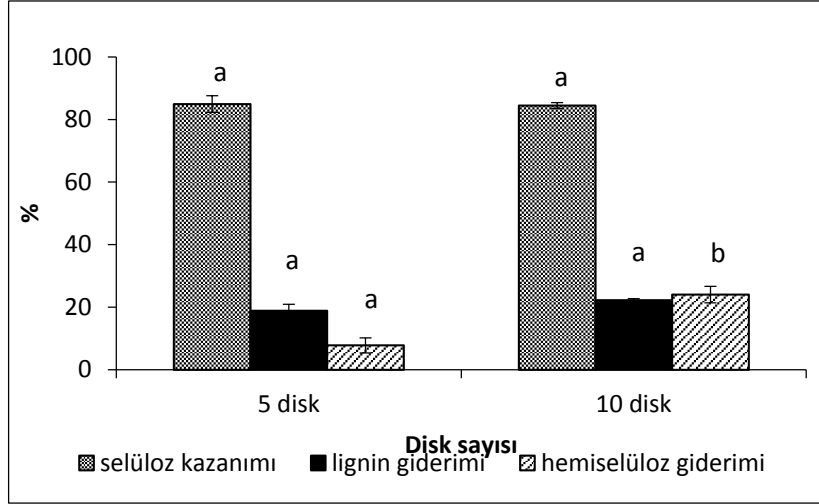


Şekil 4.118. Farklı funguslarla ön işlem uygulanmış (1/10 katı/sıvı, 28°C, 1 hafta) fındık kabuklarının kimyasal bileşimleri

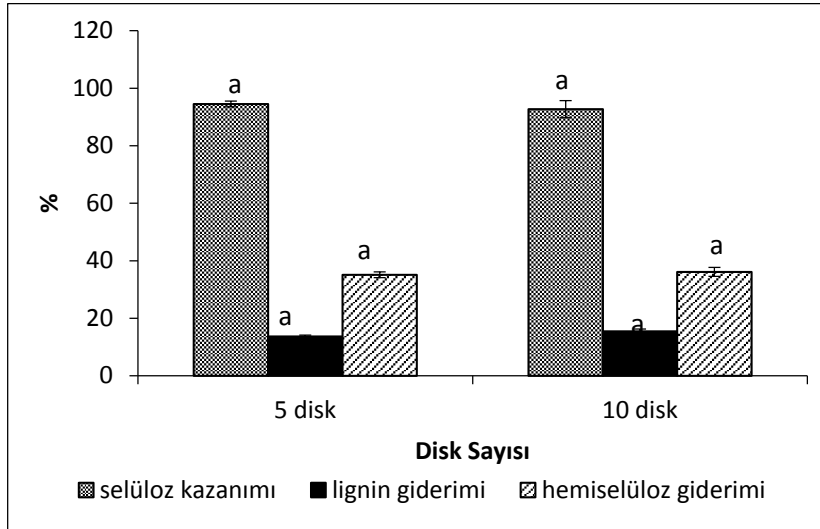
*P. sajor-caju* ve *Pleurotus ostreatus* ile uygulanan ön işlemlerde disk sayısının artması fındık kabuğunun kimyasal bileşimi üzerine disk sayısının etki etmemiştir (Şekil 4.121 ve 4.122).



Şekil 4.119. Disk sayısının *Trametes versicolor* ile ön işlem (1/10 katı/sıvı, 28°C, 1 hafta) uygulanmış fındık kabuklarının kimyasal bileşimine etkisi

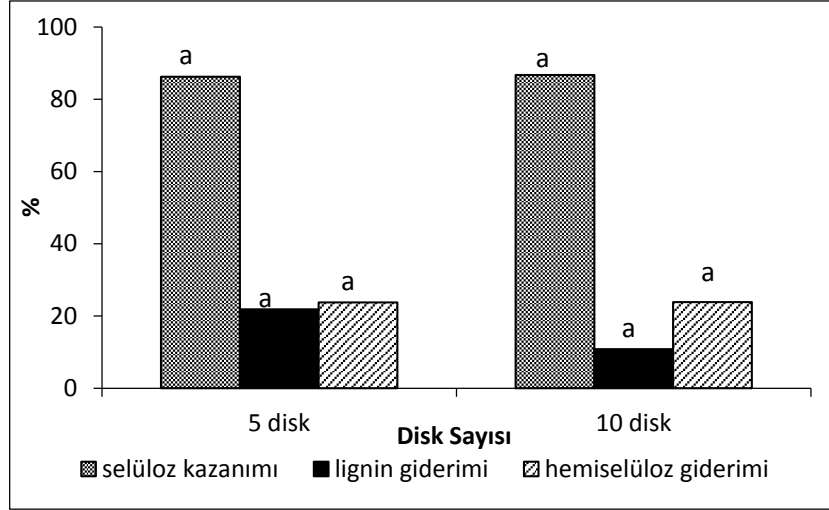


Şekil 4.120. Disk sayısının *Phanerochaete chrysosporium* ile ön işlem (1/10 katı/sıvı, 28°C, 1 hafta) uygulanmış fındık kabuklarının kimyasal bileşimine etkisi



Şekil 4.120. Disk sayısının *P. sajor-caju* ile ön işlem (1/10 katı/sıvı, 28°C, 1 hafta) uygulanmış fındık kabuklarının kimyasal bileşimi üzerine etkisi

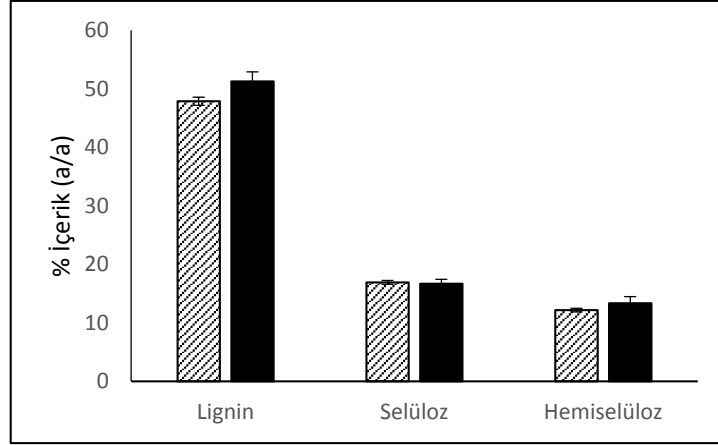




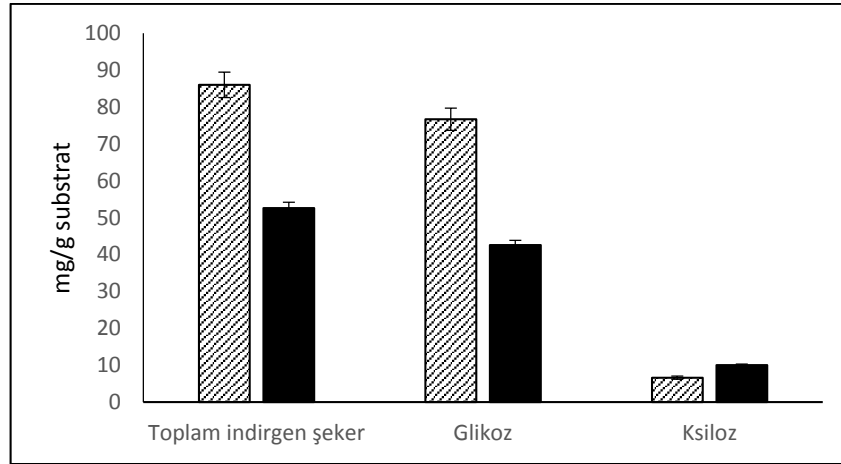
Şekil 4.121. Disk sayısının *Pleurotus ostreatus* ile ön işlem (1/10 katı/sıvı, 28°C, 1 hafta) uygulanmış fındık kabuklarının kimyasal bileşimine etkisi

#### 4.13.3. *Phanerochaete chrysosporium* ile yapılan ön işlem (1/10 katı/sıvı, 28°C, 1 hafta, 10 disk) prosesinin kütle dengliği

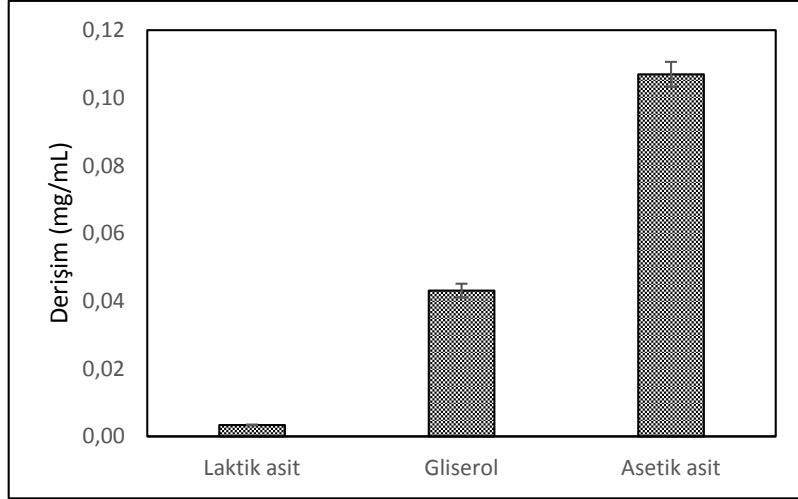
Fındık kabuğuna uygulanan biyolojik işlemlerde, çalışılan funguslar içinde *Phanerochaete chrysosporium* ile yapılan ön işlem (1/10 katı/sıvı, 28°C, 1 hafta, 10 disk) sonucunda maksimum glikoz veriminin elde edildiği görülmüştür. *Phanerochaete chrysosporium* ile 1/10 katı/sıvı, 28°C, 1 hafta, 10 disk koşullarında kabuklarına tekrar ön işlem uygulanmış ve katı bileşimi, ön işlem sıvısının bileşimi ve elde edilen şeker miktarları hesaplanmıştır. Bu değerler ön işlem prosesinde kütle ve enerji dengliklerinin kurulmasında kullanılmıştır. Belirlenen şartlarda ön işlem uygulanmış fındık kabuklarının lignin içeriğinin %47,87'ye, hemiselüloz içeriğinin ise %12,16'ya azaltıldığı, selüloz yüzdesinin ise %16,90'a arttırıldığı görülmüştür (Şekil 4.122). Bu proses koşullarında her bir gram kuru ön işlem görmüş hammadde başına toplam indirgen şeker miktarı 85,74 mg, glikoz miktarı 76,67 mg ve ksiloz miktarı ise 6,63 mg olarak hesaplanmıştır (Şekil 4.123). Ön işlem sıvısında ise eser miktarda laktik asit (<0,001), 0,04 mg/ml glikol ve 0,11 mg/ml asetik asit olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.124).



**Şekil 4.122.** 1/10 katı/sıvı oranında, 28°C ön işlem sıcaklığında 10 disk ile 1 hafta boyunca *Phanerochaete chrysosporium* ile ön işlem uygulanmış fındık kabuklarının kimyasal bileşimi (▨ Ön işlem uygulanmış fındık kabuğu, ■ Ham fındık kabuğu)

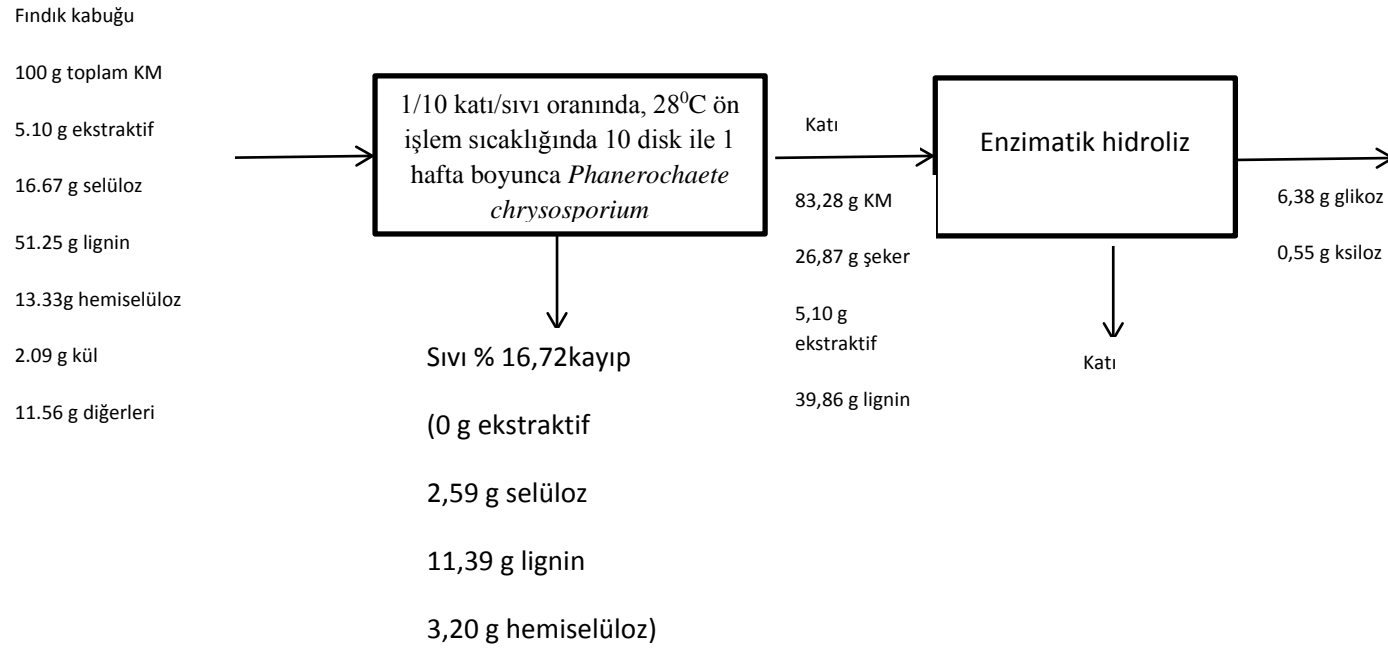


**Şekil 4.123.** 1/10 katı/sıvı oranında, 28°C ön işlem sıcaklığında 10 disk ile 1 hafta boyunca *Phanerochaete chrysosporium* ile ön işlem uygulanmış fındık kabuklarının enzimatik hidrolizi sonucunda elde edilen şeker miktarları (▨ Ön işlem uygulanmış fındık kabuğu, ■ Ham fındık kabuğu)

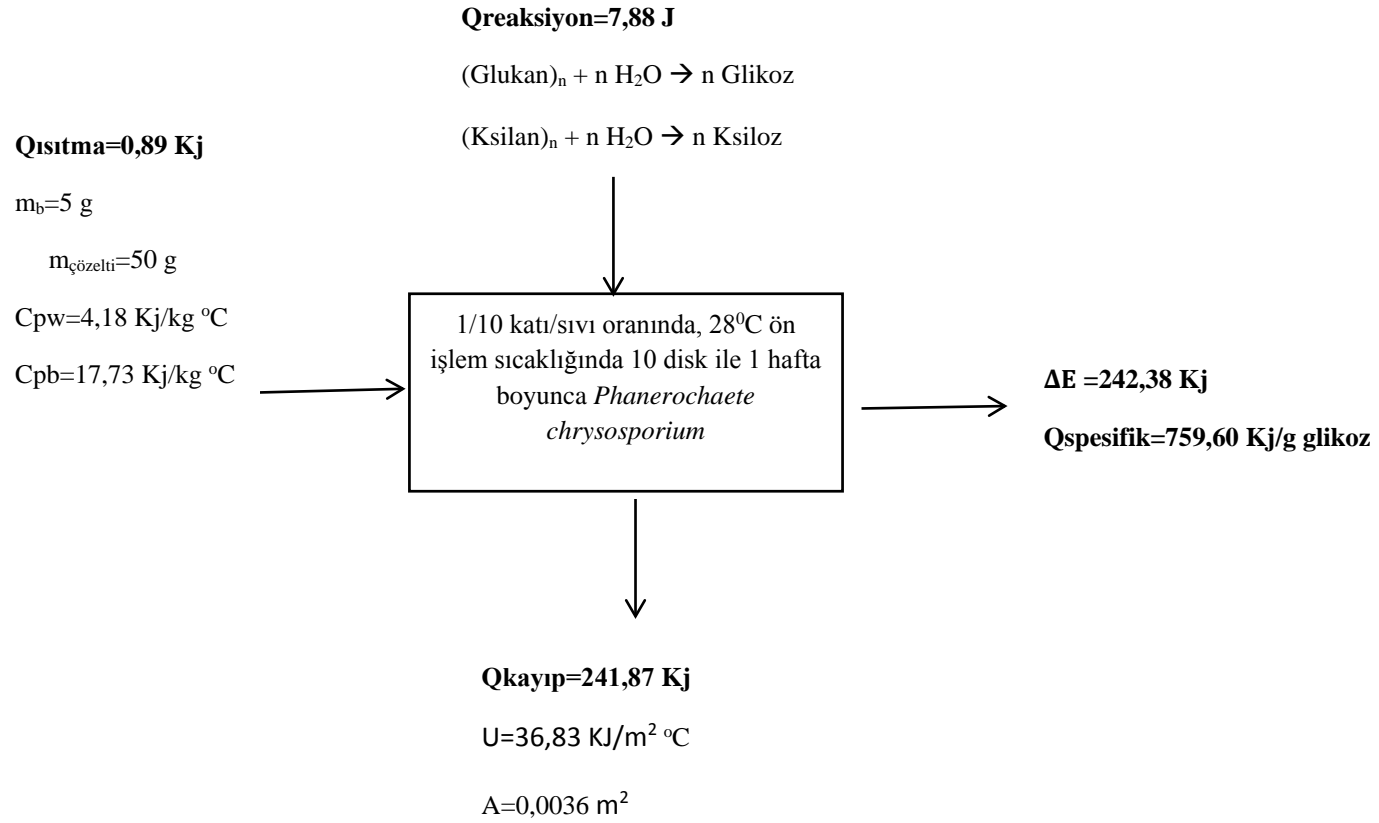


**Şekil 4.124.** 1/10 katı/sıvı oranında, 28<sup>0</sup>C ön işlem sıcaklığında 10 disk ile 1 hafta boyunca *Phanerochaete chrysosporium* ile ön işlem uygulanmış fındık kabuklarının ön işleme sonucu elde edilen kimyasalların içeriği

*Phanerochaete chrysosporium* ile yapılan ön işlem (1/10 katı/sıvı, 28<sup>0</sup>C, 1 hafta, 10 disk) sonucunda kurulan kütle denkliği Şekil 4.125’de gösterilmiştir. Bu proses sonucunda 100 g fındık kabuğundan 6,38 g glikoz ve 0,55 g da ksiloz elde edilmiştir. Aynı koşullarda (*Phanerochaete chrysosporium* ile 1/10 katı/sıvı, 28<sup>0</sup>C, 1 hafta, 10 disk) uygulanan biyolojik ön işleme için kurulan enerji denkliği sonucunda ise elde edilen her bir gram glikoz başına 759,60 kJ enerji harcanmıştır (Şekil 4.126).



**Şekil 4.125.** *Phanerochaete chrysosporium* ile ön işlem (1/10 katı/sıvı, 28 0C, 1 hafta, 10 disk) uygulanmış fındık kabuklarının enzimatik hidroliz sonrasındaki kütle denklığı



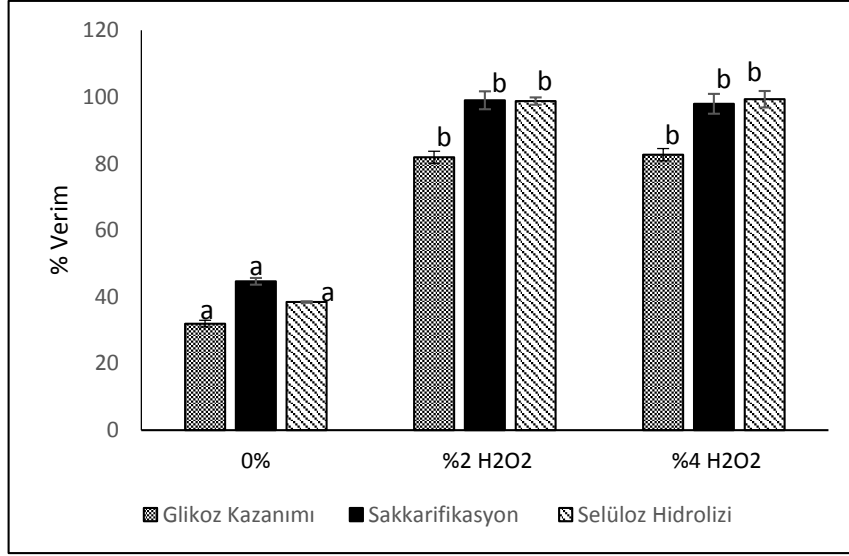
**Şekil 4.125.** 1/10 katı/sıvı oranında, 28 °C ön işlem sıcaklığında 10 disk ile 1 hafta boyunca *Phanerochaete chrysosporium* ön işlem ön işlem uygulanmış fındık kabuklarının enerji denkliği

#### **4.14. Alkali Peroksit (NaOH-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) Ön İşleminin Fındık Kabuğunun Kimyasal Bileşimine ve Enzimatik Hidrolizine Etkisi**

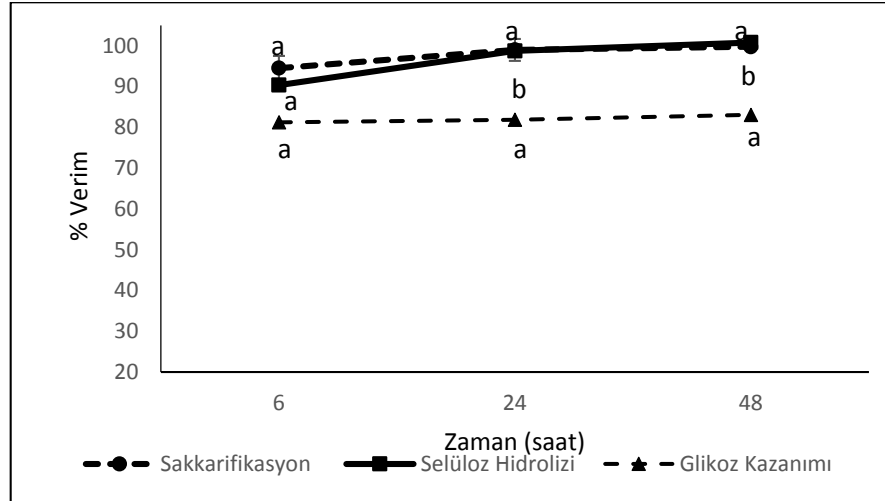
Alkali ön işlemin etkinliğini arttırmak amacıyla, alkali çözelti içerisine hidrojen peroksit ilave edilir ve bu çözücüyle uygulanan ön işlem sonucunda biyokütlenin ligninin daha düşük sıcaklıkta daha etkin olarak giderilir ve biyokütlenin enzimatik hidroliz verimide arttırılır. Bu bölümde 2 (a/h) lik NaOH çözeltisi içerisinde %2 ve %4 (v/v) lük H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> çözeltileri kullanılarak sıcaklığın ve zamanın fındık kabuğunun kimyasal bileşimi ve enzimatik hidrolizi üzerine etkileri incelenmiştir.

##### **4.14.1 Alkali peroksit (NaOH-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) ön işleminin fındık kabuğunun enzimatik hidrolizine etkisi**

30°C, 1 gün, 1/10 katı/sıvı oranında %2 lik NaOH çözeltisi içerisine ilave edilen %2 lik H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> derişimi, sadece %2 lik NaOH kazanımına göre (%32) yaklaşık 2,5 kat daha fazla (%82) glikoz kazanımına neden olmuştur. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> derişiminin artması glikoz kazanımını değiştirmemiştir (Şekil 4.126). Aynı etki sakkarifikasyon ve selüloz hidrolizi verimi üzerinde de görülmüştür (Şekil 4.126). Ön işlem zamanının (6, 24 ve 48 sa) glikoz kazanımına etkisi görülmemiştir (Şekil 4.127). Ancak ön işlem zamanının 6 saatten 24 saate arttırılması ile selüloz hidrolizi verimi az da olsa artmıştır (yaklaşık %9) (Şekil 4.127).



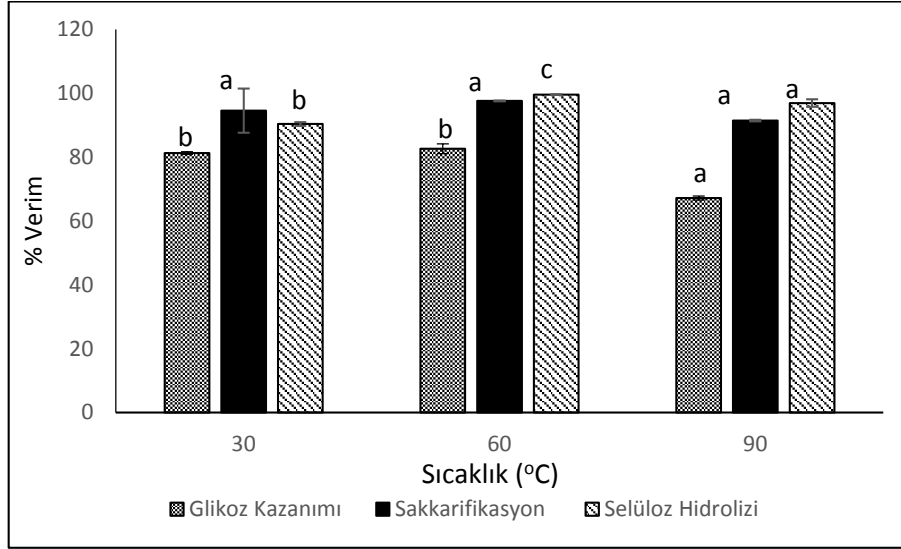
**Şekil 4.126.** %2 lik NaOH'a ilave edilen H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> miktarının (1/10, 30°C, 1 gün) ön işlem uygulanmış fındık kabuklarının enzimatik hidrolizi sonucunda elde edilen glikoz kazanımı, sakkarifikasyon ve selüloz hidroliz verimi üzerine etkisi



**Şekil 4.127.** %2 lik H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ilave edilmiş NaOH (1/10, 30°C, 1 gün) ön işleminde, ön işlem zamanının fındık kabuklarının enzimatik hidrolizi sonucunda elde edilen glikoz kazanımı, sakkarifikasyon ve selüloz hidroliz verimi üzerine etkisi

1/10 katı/sıvı oranında, %2 hidrojen peroksit ile 6 saat boyunca farklı sıcaklıklarda yapılan ön işlemlerde 30 °C ile 60°C arasında sıcaklığın etkisi görülmez iken, 90°C 'ye artırılması ile glikoz kazanımı %82,60'dan %67,16'ya düşmüştür (Şekil 4.128).

Alkali peroksit ön işlemin sıcaklığının artması ile sakkarifikasyon verimini etkilemezken, selüloz hidrolizi ise 60°C sıcaklıkta en yüksek değere (%99,57) (Şekil 4.128).

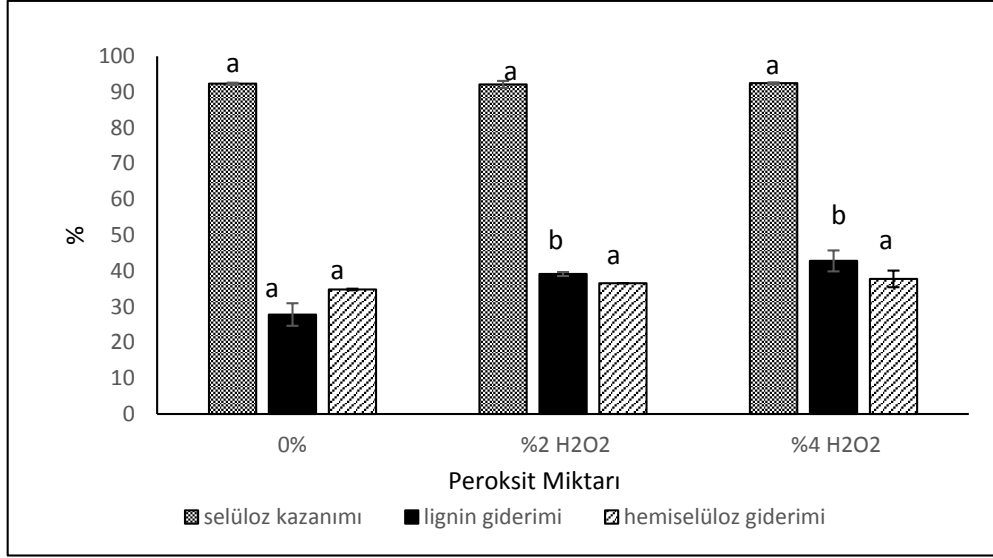


Şekil 4.128. %2 lik H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ilave edilmiş NaOH (1/10, 6 sa) ön işleminde, ön işlem sıcaklığının fındık kabuklarının enzimatik hidrolizi sonucunda elde edilen glüköz kazanımı, sakkarifikasyon ve selüloz hidroliz verimi üzerine etkisi

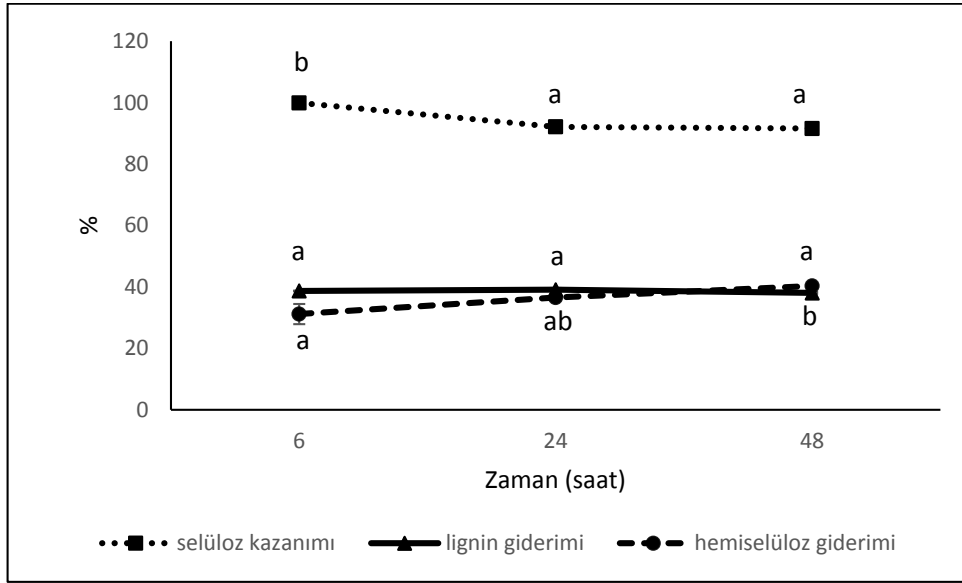
#### 4.14.2 Alkali peroksit (NaOH-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) ön işleminin fındık kabuğunun kimyasal bileşimine etkisi

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ilavesi ile lignin giderimi artarken, selüloz kazanımı ve hemiselüloz giderimi değişmemiştir (p>0,05). Lignin giderimi %2 peroksit ilavesi ile %27,79'dan %39,12'ye yükselmiştir. Peroksit ilavesinin %4'e yükseltilmesi ile bu değer %42,78'e yükselmiştir (Şekil 4.129). Ön işlem zamanının 6 saatten 24 saate artması ile selüloz kazanımı %99,91 den %92,12'ye azalmıştır. Ön işlem zamanının lignin giderimi üzerinde ise anlamlı bir etkisi olmamıştır (Şekil 4.130). Ön işlem sıcaklığının artırılması ile selüloz kazanımı %99'91dan %77'ye azalmıştır (Şekil 4.131). Sıcaklığın 30°C'den 60°C'ye artırılması ile lignin gideriminde değişiklik meydana gelmez iken, sıcaklığın 90°C'ye artırılması ile giderim yaklaşık 1,5 kat artarak %66,45'e yükselmiştir.

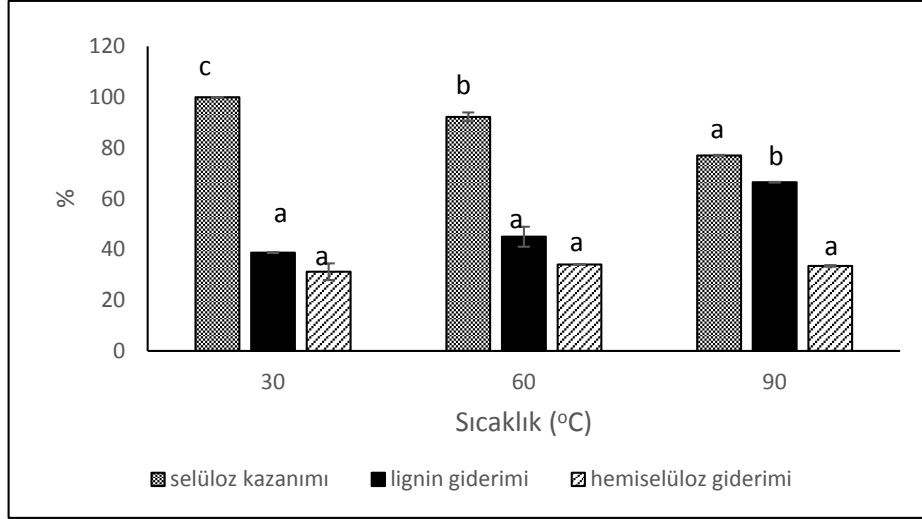




**Şekil 4.129.** %2 lik NaOH'a ilave edilen H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> miktarının (1/10, 30°C, 1 gün) ön işlem uygulanmış fındık kabuklarının kimyasal bileşimine etkisi



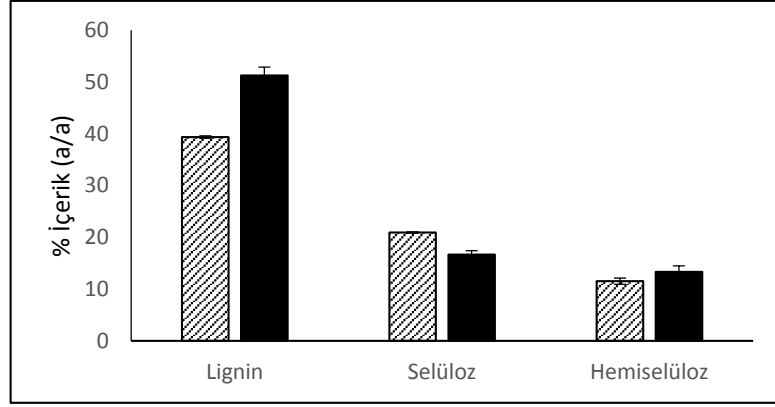
**Şekil 4.130.** %2 lik H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ilave edilmiş NaOH (1/10, 30°C) ön işleminde, ön işlem zamanının fındık kabuğunun kimyasal bileşimine etkisi



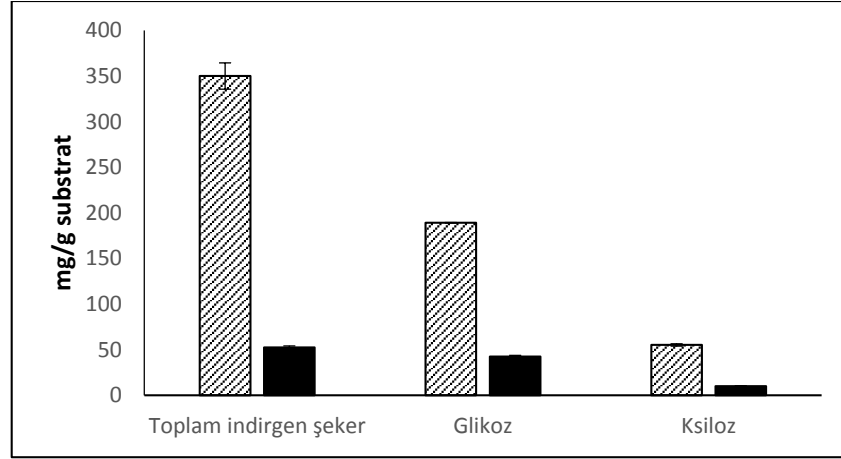
**Şekil 4.131.** %2 lik H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ilave edilmiş NaOH (1/10, 6sa) ön işleminde, ön işlem sıcaklığı'nın fındık kabuğunun kimyasal bileşimine etkisi

#### 4.14.3. Alkali peroksit (NaOH-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) ön işlem prosesinin kütle denklığı

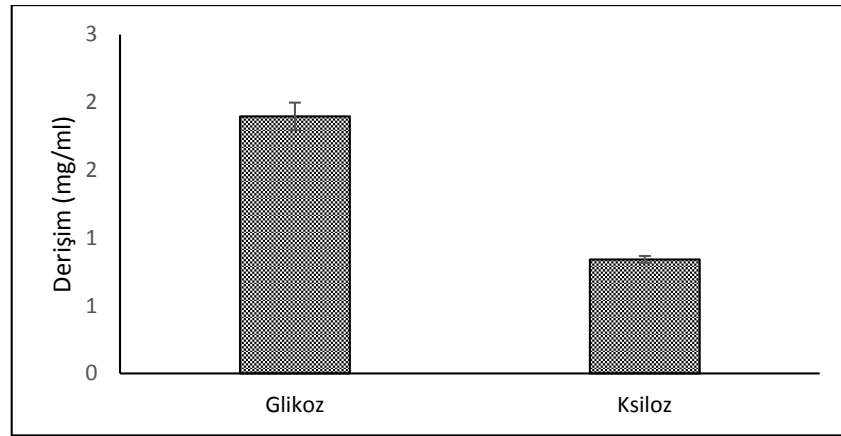
Fındık kabuğuna uygulanan alkali peroksit ön işleminde, 1/10 katı/sıvı oranında, 30°C'de, 6 saat boyunca %2 NaOH içerisinde hazırlanan %2 lik H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> şartlarında uygulanan ön işleminde maksimum glikoz veriminin elde edildiği görülmüştür. Belirlenen şartlarda tekrar ön işlem yapılmış ve katı bileşimi, ön işlem sıvısının bileşimi ve elde edilen şeker miktarları hesaplanmıştır. Bu değerler ön işlem prosesinde kütle ve enerji denkliklerinin kurulmasında kullanılmıştır. Belirlenen şartlarda ön işlem uygulanmış fındık kabuklarının lignin içeriğinin %39,36'ya, hemiselüloz içeriğinin ise %11,54'e azaltıldığı, selüloz yüzdesinin ise % 28,96'ya arttırıldığı görülmüştür (Şekil 4.132). Bu proses koşullarında her bir gram kuru ön işlem görmüş hammadde başına toplam indirgen şeker miktarı 349,70 mg, glikoz miktarı 189,21 mg ve ksiloz miktarı ise 55,26 mg olarak hesaplanmıştır (Şekil 4.133). Ön işlem sıvısında sadece glikoz (1,89 mg/ml) ve ksiloz (0,84 mg/ml) olduğu görülmüştür (Şekil 4.134).



**Şekil 4.132.** %2 lik  $H_2O_2$  ilave edilmiş NaOH (1/10, 30°C, 6 saat) ile ön işlem uygulanmış fındık kabuklarının kimyasal bileşimi (▨ Ön işlem uygulanmış fındık kabuğu, ■ Ham fındık kabuğu)

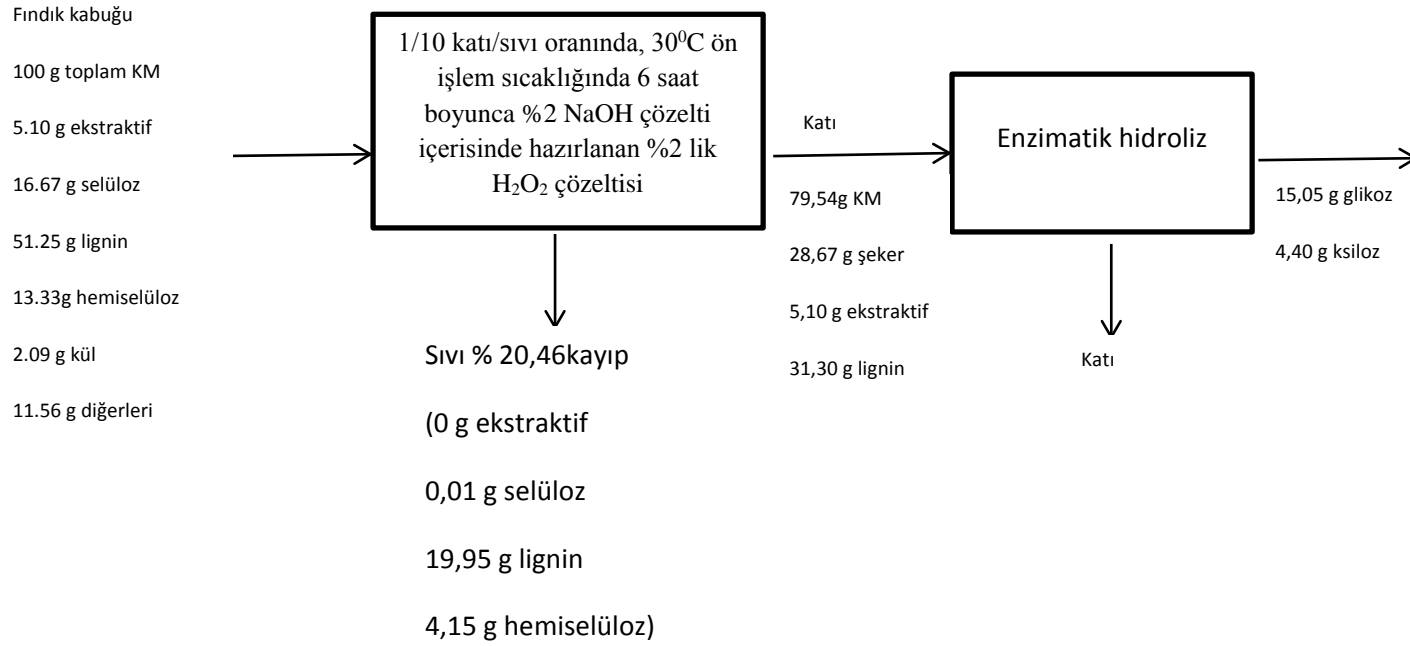


**Şekil 4.133.** %2 lik  $H_2O_2$  ilave edilmiş NaOH (1/10, 30°C, 6 saat) ile ön işlem uygulanmış fındık kabuklarının enzimatik hidrolizi sonucunda elde edilen şeker miktarları

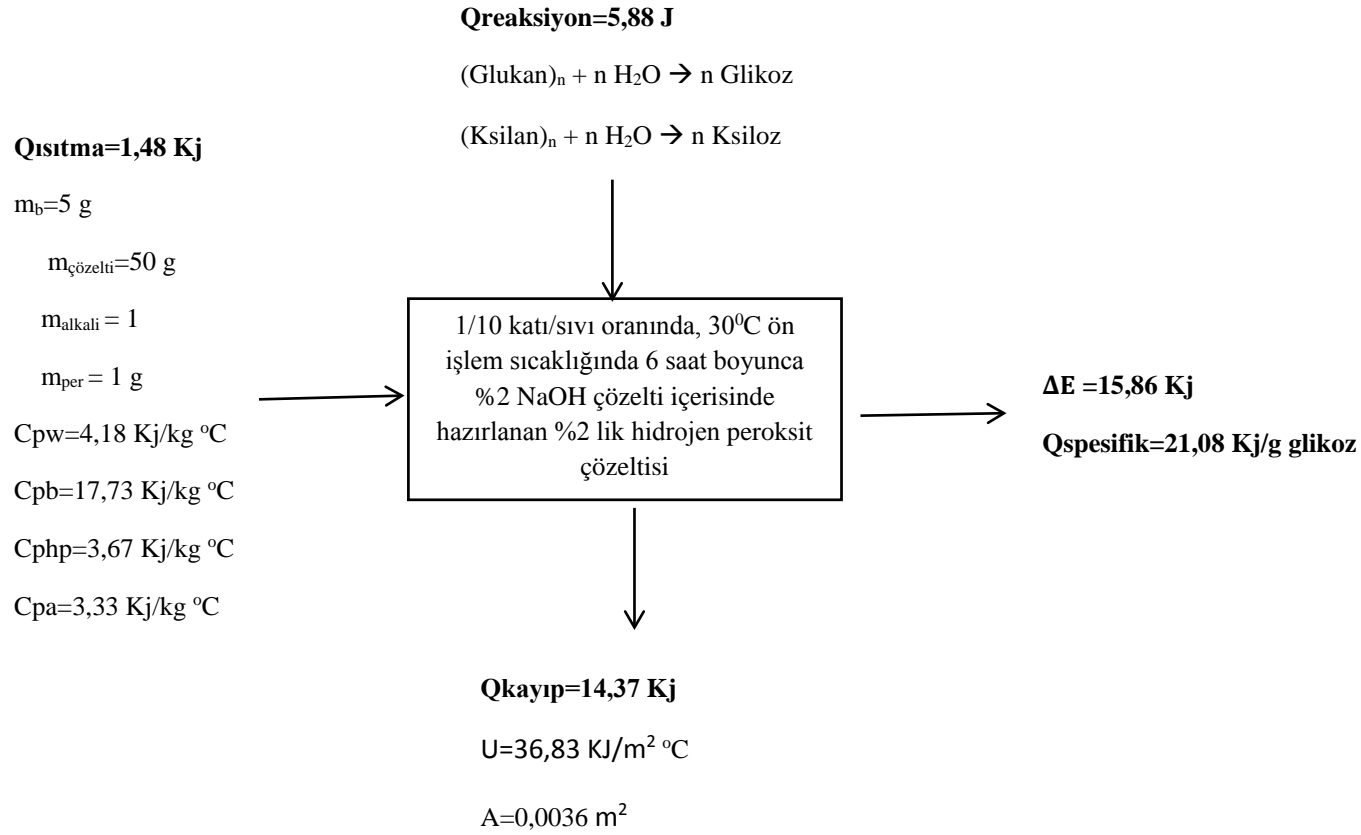


**Şekil 4.134.** %2 lik  $H_2O_2$  ilave edilmiş NaOH (1/10, 30°C, 6 saat) ön işleminde, ön işlem sıvısının kimyasal bileşimi

Fındık kabuklarının %2 lik H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ilave edilmiş NaOH (1/10, 30 °C, 6 saat) ön işleminde sonucunda kurulan kütle denkliği Şekil 4.135’de gösterilmiştir. Bu proses sonucunda 100 g fındık kabuğundan 15,05 g glikoz ve 4,40 g da ksiloz elde edilmiştir. Aynı koşullarda (%2 lik H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ilave edilmiş NaOH, 1/10 katı/sıvı, 30°C, 6 saat) uygulanan alkali peroksit ön işleminin için kurulan enerji denkliği sonucunda ise elde edilen her bir gram glikoz başına 21,08 kJ enerji harcanmıştır (Şekil 4.136).



Şekil 4.135. %2 lik H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ilave edilmiş NaOH (1/10, 30°C, 6sa) ön işlemi uygulanmış findık kabuklarının enzimatik hidroliz sonrasındaki kütle denkleği



**Şekil 4.136** 1/10 katı/sıvı oranında, 30°C ön işlem sıcaklığında 6 saat boyunca %2 NaOH çözelti içerisinde hazırlanan %2 lik H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> çözeltisi ile ön işlem uygulanmış fındık kabuklarının enerji denkliği

#### **4.15. Yüksek Sıcaklık NaOH Prosesinin Optimizasyonu**

Yüksek sıcaklık alkali ön işleminin fındık kabuğundan lignin giderimi ve glikoz kazanımı üzerine etkisi görüldükten sonra yüksek sıcaklık alkali ön işlemlerin tüm parametrelerin birbiri üzerine etkisini görebilmek, işlem parametrelerinin maksimum glikoz verimini verecek şekilde optimizasyonu gerçekleştirmek ve ikinci derece çok değişkenli polinom modeline uygunluğunu gözleyebilmek için cevap yüzey yöntemi ile optimizasyon işlemi gerçekleştirilmiştir

##### **4.15.1. Yüksek sıcaklık alkali ön işlemlerinin fındık kabuğunun enzimatik hidrolizine etkisi**

Bu bölümde, sıcaklık (120-180°C), zaman (30-60 dak), katı/sıvı oranı (1/10-1/20 g/mL) ve NaOH derişimi (% 1,5-4,0 (a/h)) parametrelerinin, Bölüm 3.2.3.9'da ayrıntıları verilen ve Çizelge 3.4'de belirtilen istatistiksel kombinasyonlarına göre yapılan ön işlem çalışmalarında, parametrelerin glikoz kazanımlarını maksimize edecek şekilde optimizasyonu yapılmıştır

Belirlenen kombinasyona göre yapılan çalışmalarda elde edilen glikoz kazanımları Çizelge 4.1'de, cevap yüzey grafikleri ise 4.137'de verilmiştir.

**Çizelge 4.1.** Dört değişkenli yanıt yüzey yöntemi için glikoz kazanımı deneysel sonuçları

T (°C)	Zaman (dak)	Sıvı/katı (mL/g)	NaOH (% a/h)	Glikoz kazanımı (%)
150	45	15	2,75	64,23
150	45	5	2,75	78,71
180	30	10	1,50	63,45
150	75	15	2,75	55,74
180	30	20	4,00	51,92
120	60	20	1,50	66,05
180	60	10	4,00	67,09
180	60	20	1,50	56,01
120	60	20	4,00	66,21
150	15	15	2,75	56,51
120	30	10	4,00	65,67
150	45	15	5,25	79,69
120	30	20	4,00	59,75
150	45	15	0,25	59,30
210	45	15	2,75	43,84
120	30	20	1,50	64,99
150	45	15	2,75	61,20
120	30	10	1,50	51,70
180	30	10	4,00	74,69
150	45	25	2,75	72,84
180	30	20	1,50	60,34
180	60	20	4,00	52,24
120	60	10	4,00	59,39
120	60	10	1,50	54,30
90	45	15	2,75	50,07
180	60	10	1,50	60,27

Şekil 4.137'ye göre ön işlem koşullarının glikoz kazanımı üzerine etkili oldukları görülmektedir. En yüksek glikoz kazanımı %79,69 ile 150°C 45 dakika, 15 sıvı katı oranı ve %5,25 NaOH derişiminde elde edilmiştir. Glikoz kazanımı üzerine en çok etkinin NaOH derişimi olduğu görülmektedir. Düşük sıcaklıkta (120°C, 1/20 katı/sıvı oranı, %4 NaOH) 30 dakika ön işlem sonucunda elde edilen

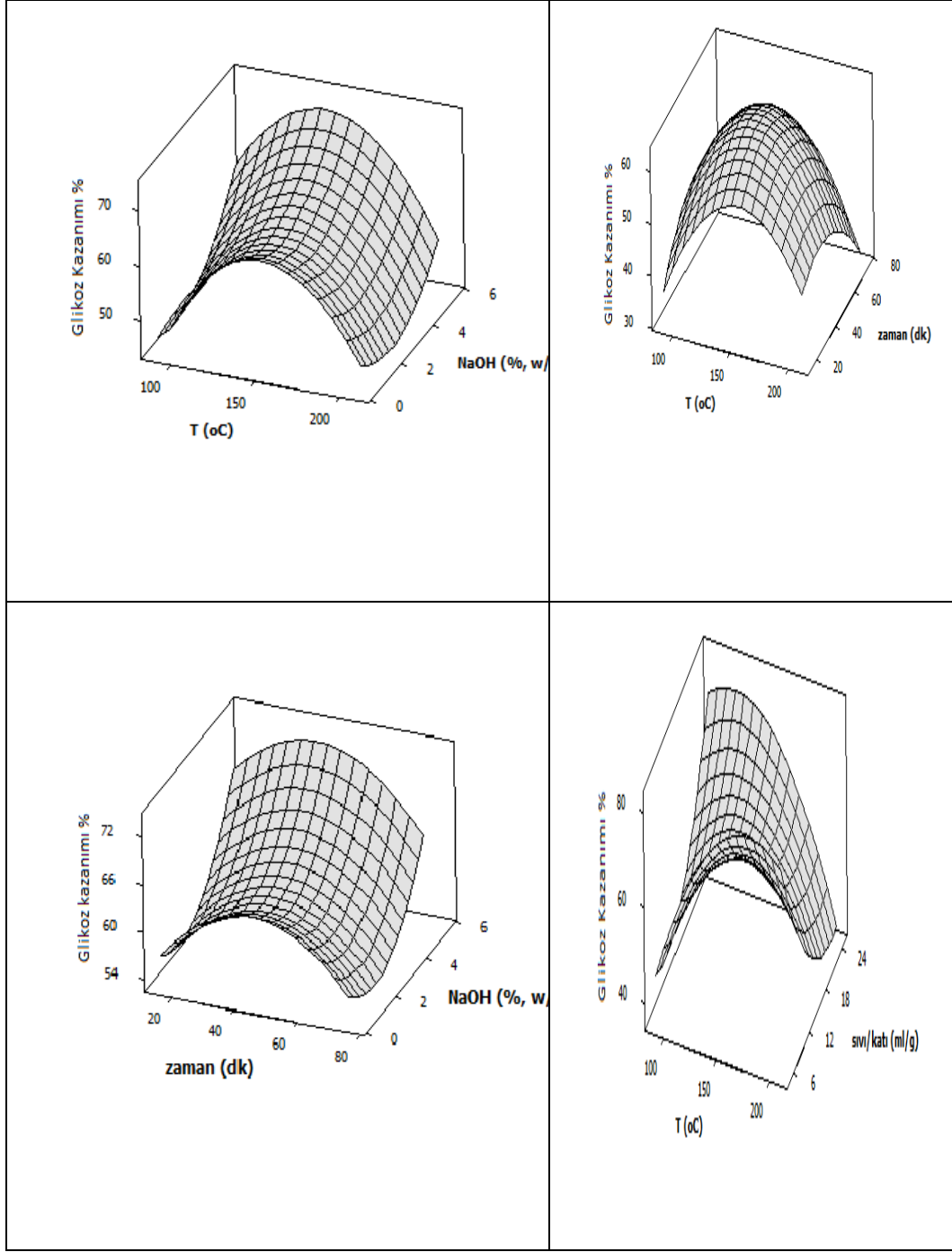


glikoz kazanımı %59,75 iken aynı koşullarda 60 dakika sonucunda ön işlem zamanı glikoz kazanımını %66,21'e yükselmiştir. Yüksek sıcaklıkta ise (180°C, 1/10 katı/sıvı oranı, %1,5 NaOH) 30 dakika ön işlem sonucunda %63,45'den 60 dakika sonunda %60,27'ye azalmıştır. Bu nedenle düşük sıcaklıkta ön işlem zamanının glikoz kazanımı üzerine etkin bir parametre iken, yüksek sıcaklıklarda bu etkinliğini kaybetmiştir. Bunun sebebi ön işlem sırasında yüksek sıcaklıklarda meydana gelen selülozun çözünmesidir.

Orta nokta koşullarında (45 dak, 1/15 katı/sıvı oranı, %2,75 alkali), sıcaklık 90°C'den 150°C'ye artması ile glikoz verimi %50,07'den %64,23'e yükselmiştir. Aynı koşullarda sıcaklığın 210°C'ye yükselmesi ile glikoz verimi %43,84'e düşmüştür. Glikoz verimi için orta nokta sıcaklık koşulları uygun iken sıcaklığın orta noktaların üstüne çıkarılması ile selüloz ve hemiselülozun ön işlem sırasında çözünmesinden dolayı verim azalmıştır.

NaOH miktarının etkisi, yine orta nokta koşullarında (45 dak, 1/15 katı/sıvı oranı, %2,75 alkali) incelenecek olursa, alkali miktarı %0,25 den %2,75'e yükseltildiğinde glikoz verimi %50,39 dan %64,23'e, yükselmiştir. Alkali derişiminin aynı koşullarda %5,25e arttırıldığında ise glikoz verimi %79,69 %13,18'e düşmüştür. Bu nedenle alkali derişiminde glikoz verimi üzerine lignin gideriminde etkili olduğu için lineer bir biçimde etkili olmuştur.

Katı/sıvı oranı 150°C, 45 dakika, %2,75 alkali miktarı ön işlem koşullarında 1/5 iken glikoz kazanımı en yüksek ikinci değer olan %78,71'e yükselmiştir. Katı/sıvı oranının artması ile glikoz kazanımı azalmıştır.



Şekil 4.137. Yüksek sıcaklık ön işlem parametrelerinin glikoz kazanımı üzerine etkileri

Deneysel verilerin model uygulaması sonucunda elde edilen denklem Eşitlik 4.1. de verilmiştir.

$$Y = -122,978 + 1,95699 X_1 + 0,898467 X_2 + 1,32213 X_3 + 7,43623 X_4 - 0,00460050 X_1^2 - 0,00821880 X_2^2 + 0,122524 X_3^2 + 0,956369 X_4^2 - 0,00258821 X_1 X_2 - 0,0295519 X_1 X_3 - 0,0135384 X_1 X_4 + 0,0149710 X_2 X_3 - 0,0108448 X_2 X_4 - 0,543769 X_3 X_4$$

(4.1)

#### 4.15.2 Yüksek sıcaklık alkali ön işlemlerinin fındık kabuğunun kimyasal kompozisyonuna etkisi

Çizelge 3.2’de fındık kabuğunun yüksek sıcaklık NaOH ön işleminde cevap yüzey yöntemi uygulanarak belirlenen parametre kombinasyonları sonucu yapılan ön işlemlerden elde edilen katıların bileşimleri verilmiştir. Sıcaklık, zaman, katı/sıvı oranı ve NaOH derişiminin etkileri verilmiştir. Parametrelerin selüloz kazanım, lignin ve hemiselüloz giderime etkilerini gösteren cevap yüzey grafikleri ise Şekil 4.138’de verilmiştir.

Ön işlem uygulanmış katıda kalan selüloz ve hemiselülozun enzimatik hidrolizi sonucunda elde edilen monomerik şeker etanol fermentasyonu ve etkin bir ön işlem için önemli bir göstergedir.

NaOH ön işleminden sonra çözünmeyen katı kazanımı anlamlı bir şekilde azalmıştır. Alkali konsantrasyonundaki değişiklikler katı kazanımını anlamlı şekilde etkilemiştir ( $p < 0,05$ ). Lignin ve hemiselüloz etkin bir biçimde giderilmiştir. En yüksek selüloz kazanımı (100% kadar) yanıt yüzey koşullarının orta noktasında (180°C, %1,5 NaOH, 1/10 katı/sıvı oranı 30 dakika) elde edilmiştir. Selüloz kazanımı sıcaklığın, alkali miktarı ve zamanın artması ile anlamlı bir şekilde azalmıştır ( $p < 0,05$ ) (Şekil 4.138). En düşük selüloz kazanımı %48,50 olarak 210°C %2,75 NaOH koşullarında elde edilmiştir. Katı/sıvı oranı anlamlı bir şekilde selüloz kazanımını etkilememiştir ( $p > 0,05$ )

**Çizelge 4.2.** Dört değişkenli yanıt yüzey yöntemi için ön işlem sonrası kalan katı bileşen deneysel sonuçları

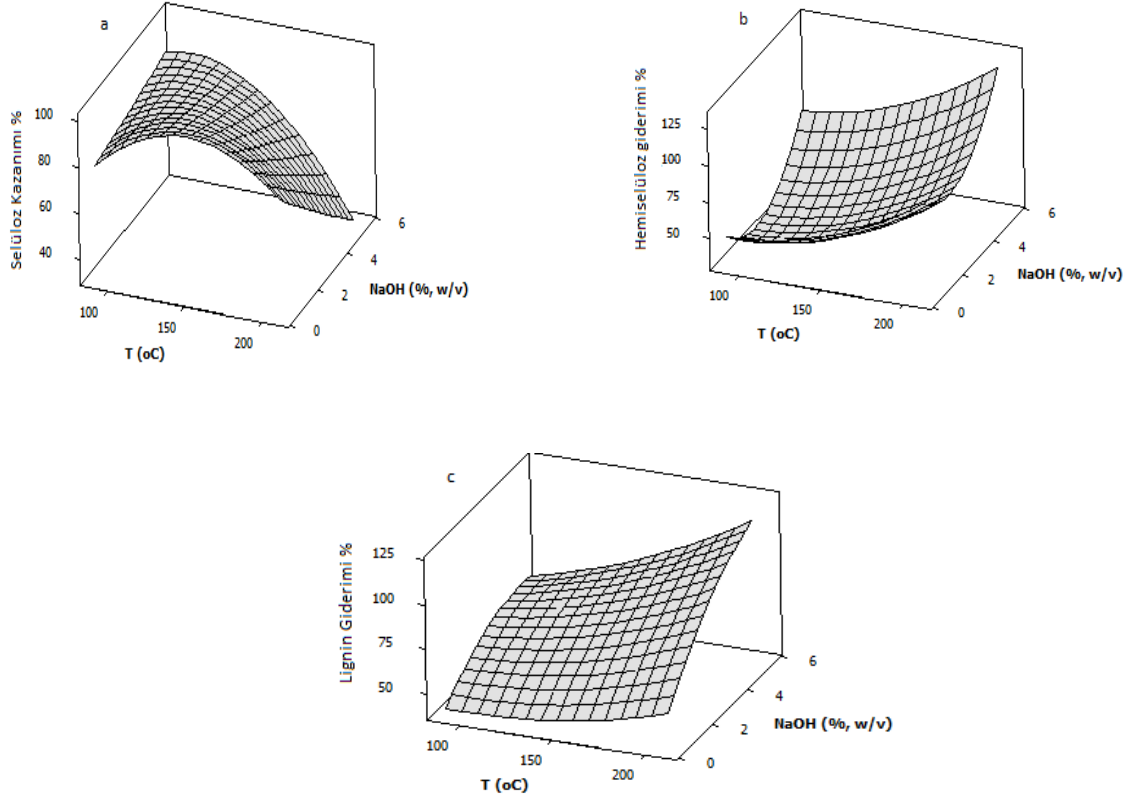
T (°C)	Zaman (dak)	Sıvı/katı (mL/g)	NaOH (% a/h)	Selüloz kazanımı (%)	Lignin giderimi (%)	Hemiselüloz giderimi (%)
150	45	15	2,75	88,46	71,24	49,86
150	45	5	2,75	97,77	56,36	62,67
180	30	10	1,5	100,00	50,67	67,92
150	75	15	2,75	71,51	74,73	68,35
180	30	20	4	61,17	95,03	90,69
120	60	20	1,5	75,80	59,08	55,76
180	60	10	4	67,03	87,34	86,95
180	60	20	1,5	65,13	79,93	77,21
120	60	20	4	93,22	74,08	70,45
150	15	15	2,75	92,52	69,23	63,19
120	30	10	4	75,84	69,75	72,49
150	45	15	5,25	87,90	88,42	81,43
120	30	20	4	85,59	69,73	52,04
150	45	15	0,25	99,87	36,77	75,13
210	45	15	2,75	48,53	96,88	93,65
120	30	20	1,5	93,83	57,73	55,73
150	45	15	2,75	89,60	74,60	47,32
120	30	10	1,5	75,24	48,13	18,86
180	30	10	4	83,32	87,60	80,44
150	45	25	2,75	88,20	74,49	66,99
180	30	20	1,5	88,69	76,64	67,28
180	60	20	4	52,57	93,74	93,26
120	60	10	4	73,01	72,58	71,26
120	60	10	1,5	97,47	59,83	45,19
90	45	15	2,75	98,22	57,58	28,64
180	60	10	1,5	83,15	61,72	41,31

Sıcaklık ve alkali miktarının hemiselüloz giderimi üzerine etkisi şekil 4.138’de gösterilmektedir. Hemiselüloz giderimi deney parametrelerinin artması ile %35’den %98’e kadar değişmektedir. Yüksek sıcaklık ve alkali derişimli ön işlemlerden sonra (210°C ve % 4 NaOH) hemiselülozun %98’i giderilmiştir.

Lignin giderimi ön işlemin etkinliğini göstermektedir. Enzimatik hidrolizin etkinliğinin artırılması için kritiktir ve enzimatik hidroliz için yüksek oranda ön

işlem şiddetinden etkilenmektedir. Ele alınan tüm ön işlem parametreleri fındık kabuğundan lignin giderimine katkıda bulunmuşlardır, özellikle alkali miktarı ve sıcaklık ( $p < 0.05$ ) (Şekil 4.138), oldukça etkili iken bu parametreleri katı sıvı oranının ve ön işlem zamanı takip etmektedir.

Tahmin edilen regresyon sabitleri glikoz kazanımı olarak Çizelge 4.3 de ve Yanıt Yüzey Analizi ile glikoz kazanımı için Anova değerleri ise 4.4’de verilmiştir.



**Şekil 4.138.** Yüksek sıcaklık ön işlem parametrelerinin fındık kabuklarının kimyasal kompozisyonu üzerine etkileri

**Çizelge 4.3** Glikoz kazanımının (%) yanıt yüzey yöntemi ANOVA testi katsayı sonuçları

Terim	Katsayı	SE katsayısı	T	P
Sabit	62,7147	2,5.632	24.468	0.000
T	-0,6043	0,7399	-0.817	0.431
Zaman	-0,5207	0,7399	-0.704	0.496
Sıvı /katı oranı	-1,2830	0,7399	-1.734	0.111
NaOH %	2,5262	0,7399	3.414	0.006
T*T	-4,1405	0,8676	-4.772	0.001
Zaman*zaman	-1,8492	0,8676	-2.131	0.056
Sıvı /katı oranı*	3,0631	0,8676	3.530	0.005
Sıvı /katı oranı				
NaOH*NaOH	1,4943	0,8676	1.722	0.113
T*zaman	-1,1647	0,9062	-1.285	0.225
T*katı	-4,4328	0,9062	-4.892	0.000
T*NaOH	-0,5077	0,9062	-0.560	0.587
Zaman*katı	1,1228	0,9062	1.239	0.241
Zaman*NaOH	-0,2033	0,9062	-0.224	0.827
Sıvı*NaOH	-3,3986	0,9062	-3.750	0.003
R-Sq	92.45%			
R-Sq(adj)	82.85%			

**Çizelge 4.4** Glikoz kazanımının (%) yanıt yüzey yöntemi ANOVA testi

Kaynak	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Regresyon	14	1770,89	1770,89	126,492	9,63	
Doğrusal	4	207,93	207,93	51,984	3,96	0,032
X <sub>1</sub> : T (°C)	1	8,76	8,76	8,764	0,67	0,431
X <sub>2</sub> : Zaman (dk.)	1	6,51	6,51	6,508	0,50	0,496
X <sub>3</sub> :Sıvı/Katı (mL/g)	1	39,50	39,50	39,505	3,01	0,111
X <sub>4</sub> : NaOH (% w/v)	1	153,16	153,16	153,158	11,66	0,006
İkinci derece polinom	4	1017,09	1017,09	254,273	19,35	
X <sub>1</sub> * X <sub>1</sub>	1	591,84	299,23	299,229	22,77	0,001
X <sub>2</sub> * X <sub>2</sub>	1	261,25	59,69	59,689	4,54	0,056
X <sub>3</sub> * X <sub>3</sub>	1	125,02	163,77	163,770	12,46	0,005
X <sub>4</sub> * X <sub>4</sub>	1	38,98	38,98	38,976	2,97	0,113
İkili etkileşim	6	545,86	545,86	90,976	6,92	
X <sub>1</sub> * X <sub>2</sub>	1	21,70	21,70	21,704	1,65	0,225
X <sub>1</sub> * X <sub>3</sub>	1	314,39	314,39	314,394	23,93	0,000
X <sub>1</sub> * X <sub>4</sub>	1	4,12	4,12	4,124	0,31	0,587
X <sub>2</sub> * X <sub>3</sub>	1	20,17	20,17	20,172	1,54	0,241
X <sub>2</sub> * X <sub>4</sub>	1	0,66	0,66	0,662	0,05	0,827
X <sub>3</sub> * X <sub>4</sub>	1	184,80	184,80	184,803	14,06	0,003
Kalan Hata	11	144,54	144,54	13,140		
Uyum Eksikliği	10	139,95	139,95	13,995	3,05	0,42
Saf Hata	1	4,59	4,59	4,589		

%95 güven aralığında ( $p=0,05$ ) ön görülen modele ait olabilirlik değeri  $p<0,001$  den küçük bulunmuştur ( $p<0,0001$ ). Yani öngörülen model istatistiksel olarak anlamlıdır. Modelin bu hali ile uygunluğu regresyon katsayısı ile test edilebilir. Modelin regresyon katsayısı  $r^2=0,9495$  (düzenlenmiş  $r^2=0,8285$ , uyum eksikliği (lack of fit) ise  $0,42$  ( $p>0,05$ ) bulunmuştur.

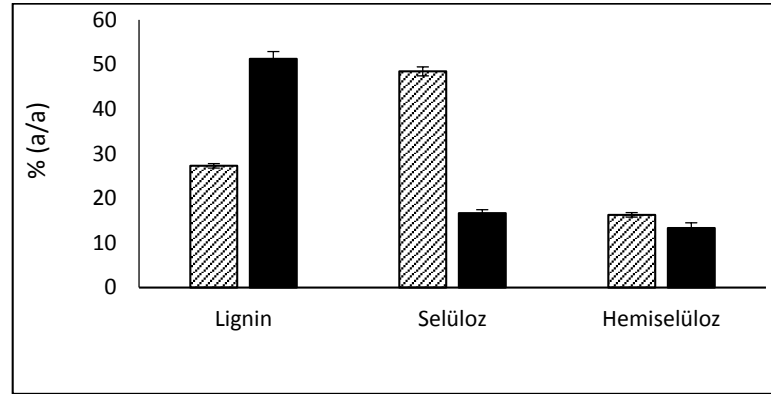
#### **4.15.3. Yüksek sıcaklık NaOH prosesinin optimizasyonu prosesinin kütle denkliği**

Proses değişkenleri glikoz miktarında maksimum verimi elde etmek için Minitab 16 yazılımının yüzey optimizeri kullanılarak optimize edilmiştir. Buna göre optimum ön işlem koşulları %5,25 (a/h) NaOH, 180°C, 1/5 katı/sıvı, 30 dakika olarak belirlenmiştir.

Belirlenen şartlarda tekrar ön işlem yapılmış ve katı bileşimi, ön işlem sıvısının bileşimi ve elde edilen şeker miktarları hesaplanmıştır. Bu değerler ön işlem prosesinde kütle ve enerji denkliklerinin kurulmasında kullanılmıştır.

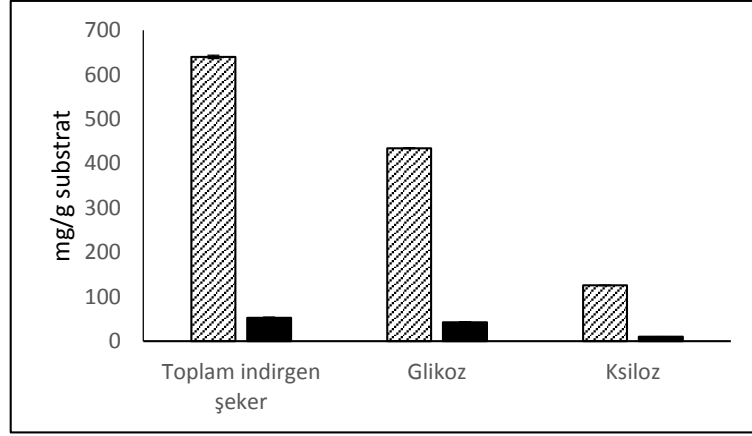
Belirlenen şartlarda ön işlem uygulanmış fındık kabuklarının lignin içeriğinin %27,28, selüloz yüzdesinin %48,44 ve hemiselüloz içeriğinin ise %16,28 olduğu görülmüştür (Şekil 4.139). Bu proses koşullarında her bir gram kuru ön işlem görmüş hammadde başına toplam indirgen şeker miktarı 640,21 mg, glikoz miktarı 434,37 mg ve ksiloz miktarı ise 125,62 mg olarak hesaplanmıştır (Şekil 4.140). Ön işlem sıvısında 7,75 mg /ml asetik asit ve 1,22 mg/ml gliserol bulunmaktadır. Ayrıca glikoz ksiloz ve süksinik asitte ön işlem sıvısında bulunduğu görülmüştür (Şekil 4.141).

Fındık kabuklarının %5,25 (a/h) NaOH, 180°C, 1/5 katı/sıvı, 30 dakika ön işlemi sonucunda kurulan kütle denkliği Şekil 4.142'de gösterilmiştir. Bu proses sonucunda 100 g fındık kabuğundan 14,38 g glikoz ve 4,06 g da ksiloz elde edilmiştir. Aynı koşullarda (%5,25 (a/h) NaOH, 180°C, 1/5 katı/sıvı, 30 dakika) uygulanan sodyum hidroksit ön işlemi için kurulan enerji denkliği sonucunda ise elde edilen her bir gram glikoz başına 106,08 kJ enerji harcanmıştır (Şekil 4.143).

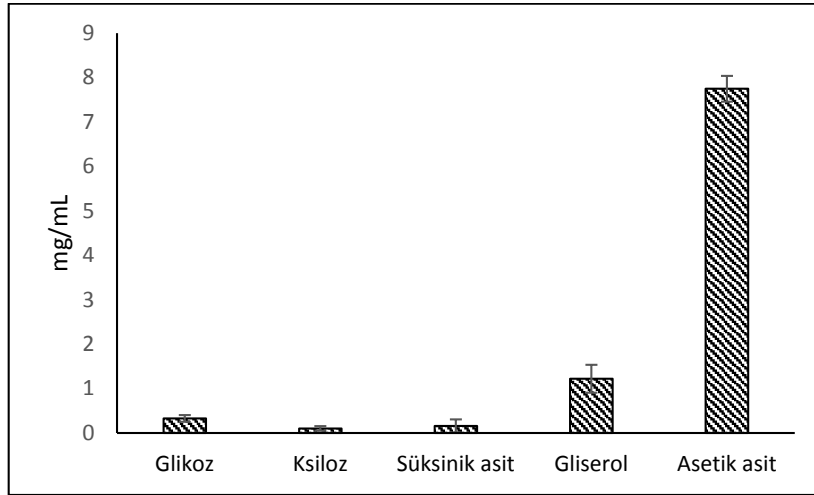


**Şekil 4.139.** %5,25 (a/h) NaOH, 180°C, 1/5 katı/sıvı, 30 dakika boyunca ön işlem uygulanmış fındık kabuklarının kimyasal bileşimi (▨ Ön işlem uygulanmış fındık kabuğu, ■ Ham fındık kabuğu)

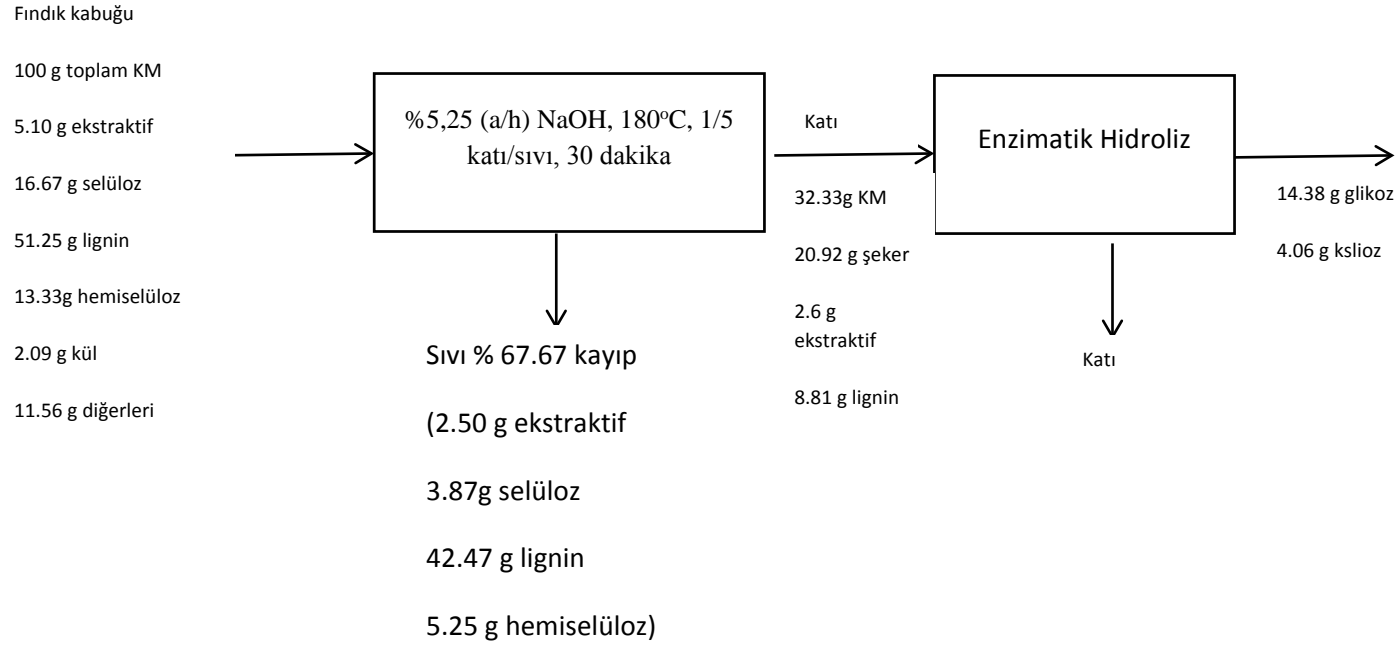




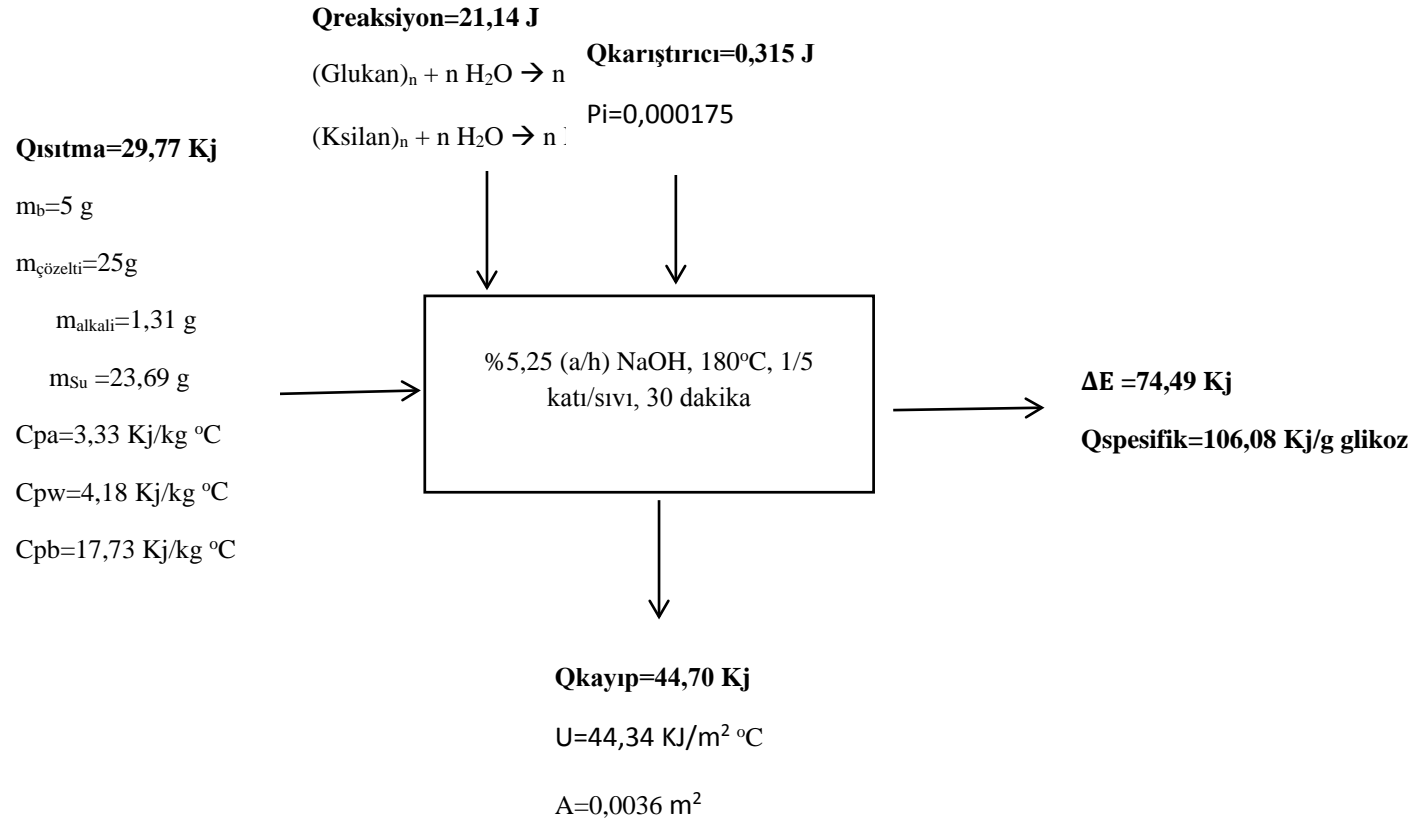
**Şekil 4.140.** %5,25 (a/h) NaOH, 180°C, 1/5 katı/sıvı, 30 dakika boyunca ön işlem uygulanmış findık kabuklarının enzimatik hidrolizi sonucunda elde edilen şeker miktarları (▨ Ön işlem uygulanmış findık kabuğu, ■ Ham findık kabuğu)



**Şekil 4.141.** %5,25 (a/h) NaOH, 180°C, 1/5 katı/sıvı, 30 dakika boyunca ön işlem uygulanmış findık kabuklarının ön işleme sonucu elde edilen kimyasalların içeriği



**Şekil 4.142.** %5,25 (a/h) NaOH, 180°C, 1/5 katı/sıvı, 30 dakika ile 30 dakika boyunca ön işlem uygulanmış findık kabuklarının enzimatik hidroliz sonrasındaki kütle denklığı

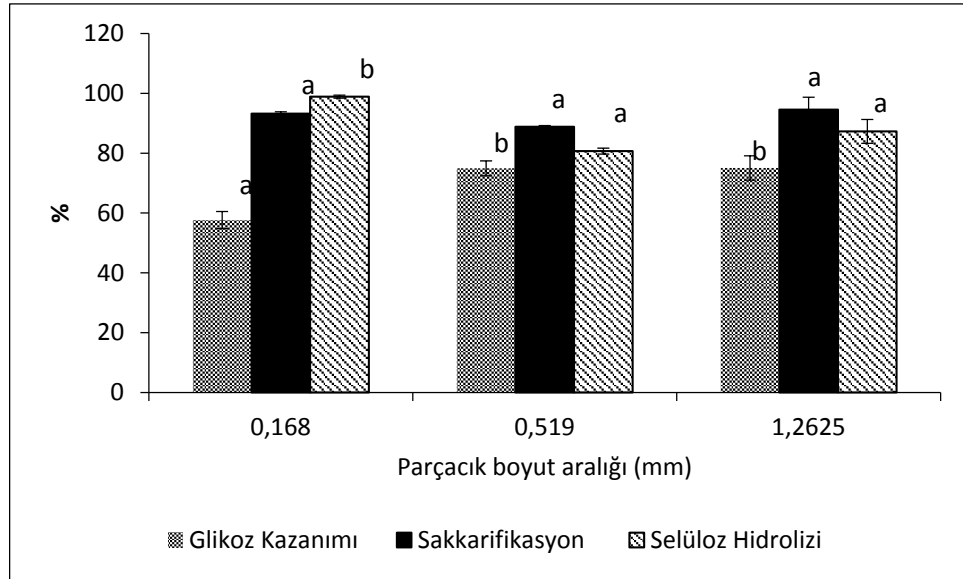


**Şekil 4.143.** %5,25 (a/h) NaOH çözeltisi ile 180°C, 1/5 katı/sıvı oranında 30 dakika boyunca ön işlem uygulanmış fındık kabuklarının enerji denkleği

#### 4.16 Alkali Ön İşlem Uygulanmış Fındık Kabuğunun Enzimatik Hidrolizine Tanecik Boyutunun Etkisi

Optimum ön işlem koşullarında üretilen fındık kabuklarındandaha yüksek oranda glikoz kazanımı elde edebilmek amacıyla tanecik boyutunun etkisi araştırılmıştır.

180°C sıcaklıkta, 30 dakika süresince, %5,25 NaOH çözeltisi ile 1/5 katı/sıvı oranında ön işlem uygulanmış fındık kabuklarının tanecik boyutu 0,168 mm iken elde edilen glikoz kazanımı tanecik boyut aralığı 0,519 mm ye artırıldığında %57,94 den %74,93 e yükseltilmiştir (Şekil 4.144). Tanecik boyutu 0,519 dan 1,2625 mm'ye yükseltildiğinde ise elde edilen glikoz kazanımında anlamlı bir değişiklik meydana gelmemiştir. Bunun sebebi yüzey alanını artması ile selüloz çözünürlüğünün ön işlem sırasında artmasıdır.

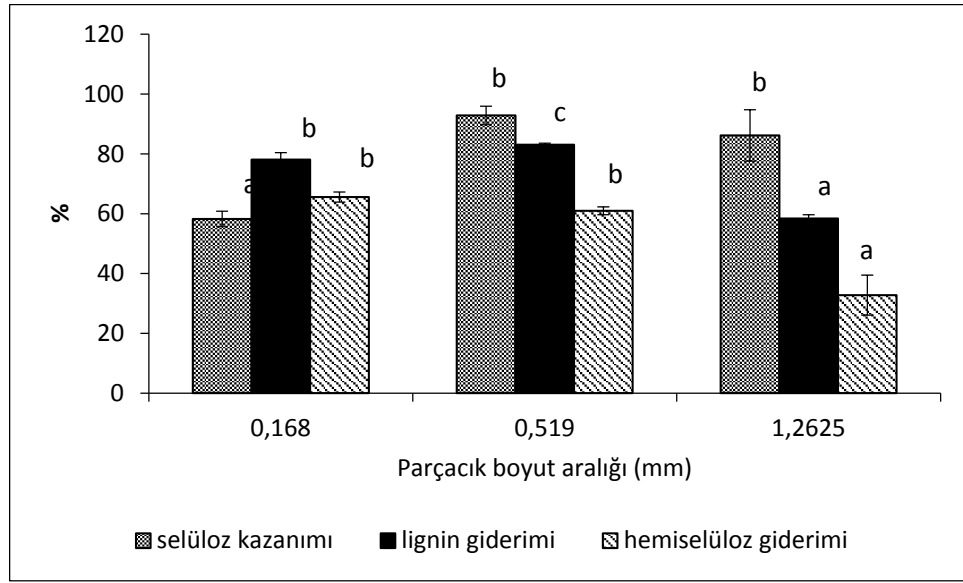


Şekil 4.144. 180°C sıcaklıkta, 30 dakika süresince, %5,25 NaOH çözeltisi ile 1/5 katı/sıvı oranında uygulanmış fındık kabuklarının enzimatik hidrolizi sonucunda elde edilen glikoz kazanımı, sakkarifikasyon ve selüloz hidroliz verimi üzerine parçacık boyutunun etkisi

Tanecik boyutu fındık kabuklarının enzimatik hidrolizinden elde edilen sakkarifikasyon verimi üzerine anlamlı bir etki göstermemiştir (Şekil 4.144). Selüloz hidrolizi en yüksek değere 0,168 mm tanecik boyutunda yükselmiştir

(%98,92). Bunun sebebi artan yüzey alanı ile enzimin selüloza daha iyi difüze olmasıdır.

180°C sıcaklıkta, 30 dakika süresince, %5,25 NaOH çözeltisi ile 1/5 katı/sıvı oranında göre tanecik boyutunun artması ile selüloz kazanımı anlamlı bir şekilde artmıştır. Lignin giderimi ve hemiselüloz giderimi en düşük tanecik boyutunda (0,168 mm) en yüksek değerlere sahiptir. Bunun sebebi artan temas yüzeyi ile çözünürlüğün artmasıdır (Şekil 4.145).



Şekil 4.145. 180°C sıcaklıkta, 30 dakika süresince, %5,25 NaOH çözeltisi ile 1/5 katı/sıvı oranında ön işlem uygulanmış fındık kabuklarının kimyasal kompozisyonuna tanecik boyutunun etkisi

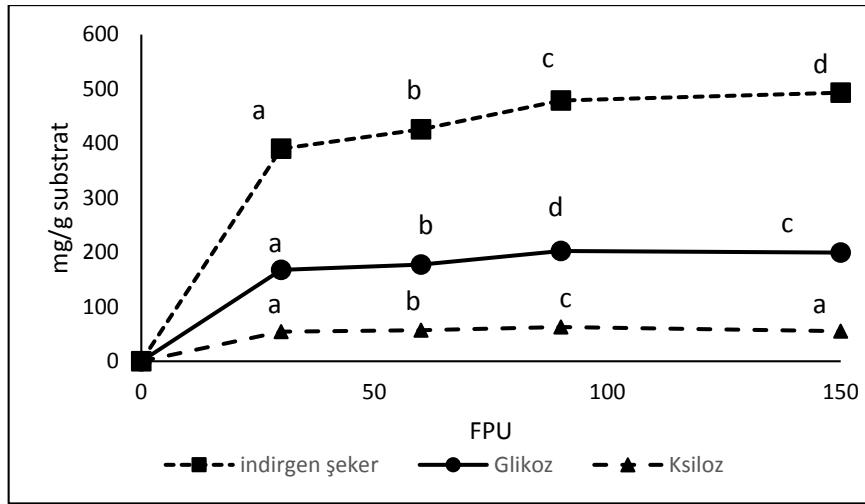
Sonuç olarak optimum ön işlem koşullarında gerçekleştirilen tanecik boyutunun enzimatik hidrolize etkisinin kullandığımız 0,519 mm'lik tanecik boyutunun yani ön işlemlerde kullandığımız boyutun uygun olduğu görülmüştür.

#### 4.17. Alkali Ön İşlem Uygulanmış Fındık Kabuğunun Enzim Karışımı ile Hidrolizi

Optimum ön işlem koşullarında (180°C sıcaklıkta, 30 dakika süresince, %5,25 NaOH çözeltisi ile 1/5 katı/sıvı) ön işlem uygulanmış ve selülozca zengin biyokütle haline getirilmiş olan fındık kabuklarından maksimum şeker elde

edebilmek için selüloz, beta-glukosidaz ve ksilanaz enzimlerinin optimizasyonu gerçekleştirilmiştir.

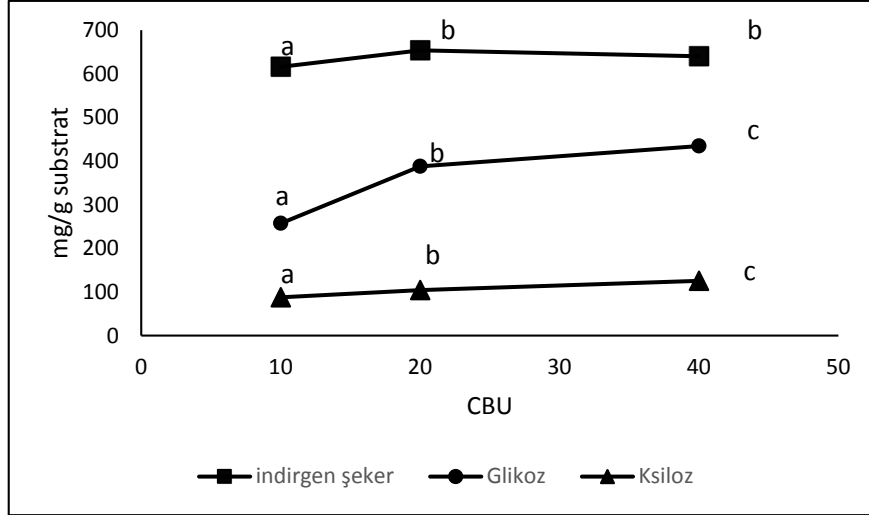
Selüloz enzim yüklemesinin (1 gram ön işlem uygulanmış fındık kabuğu başına) artması ile elde edilen indirgen şeker, glikoz ve ksiloz miktarlarında anlamlı artışlar meydana gelmiştir. Glikoz ve ksiloz miktarı açısından bakıldığında selüloz yüklemesi 60 FPU dan 90 FPU ya artırıldığında yaklaşık olarak % 10 luk bir artış meydana gelmiştir (Şekil 4.146). Gerek selüloz fiyatlarının yüksek olması gerekse enzim karışımıyla elde edilecek şeker miktarını arttırmak için çalışmalara 60 FPU ile devam edilmiştir.



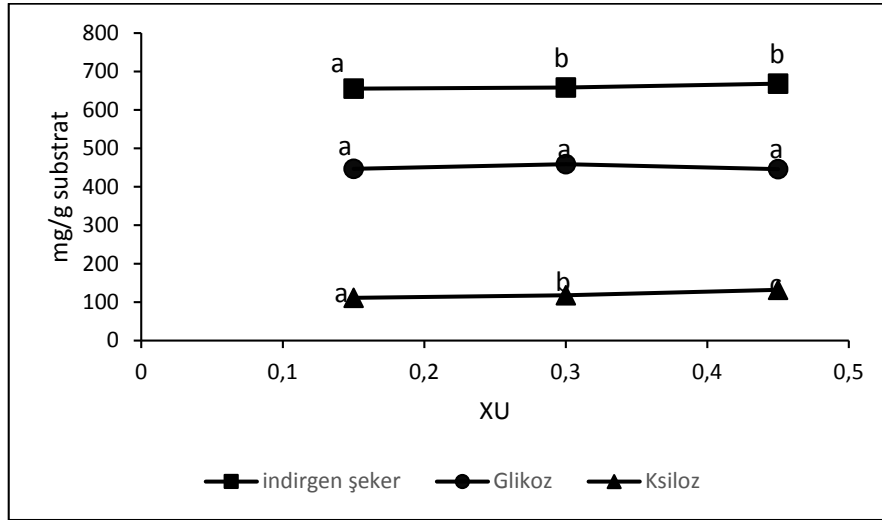
**Şekil 4.146.** 180°C sıcaklıkta, 30 dakika süresince, %5,25 NaOH çözeltisi ile 1/5 katı/sıvı oranında ön işlem uygulanmış fındık kabuklarının enzimatik hidrolizine selüloz enzim miktarının etkisi

60 FPU selüloz enzimi üzerine beta glikozidaz enzimi ilavesi 10-40 CBU ya arttırıldığında elde edilen şeker miktarlarının da anlamlı bir şekilde arttığı görülmektedir (Şekil 4.147) en yüksek glikoz miktarı 40 CBU enzim ilavesi ile elde edilmiştir.

Selüloz ve beta glikozidaz enzim karışımına ilave edilen ksilanaz enziminin elde edilen glikoz miktarına anlamlı bir etkisi yokken, indirgen şeker ve ksiloz miktarına etki etmiştir (Şekil 4.148). 0,45 XU ksilanaz enzim ilavesi ile elde edilen ksiloz miktarı 104,26 dan 132,02 mg a yükselmiştir.

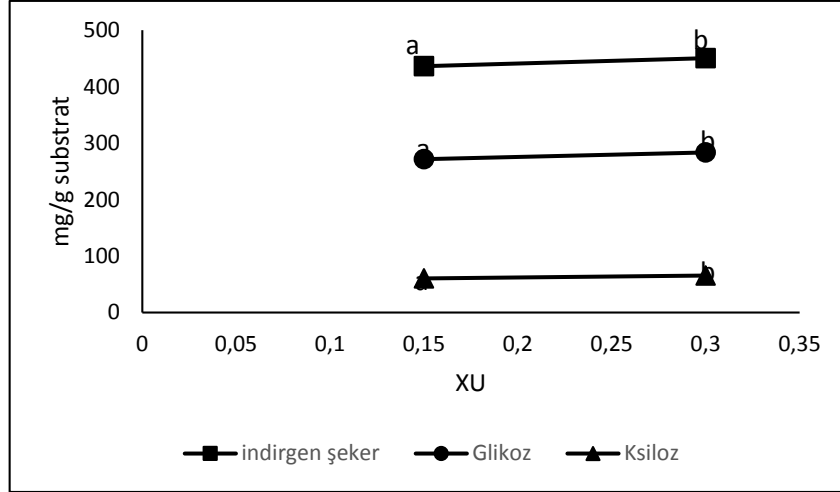


Şekil 4.147. 180°C sıcaklıkta, 30 dakika süresince, %5,25 NaOH çözeltisi ile 1/5 katı/sıvı oranında ön işlem uygulanmış fındık kabuklarının enzimatik hidrolizine selülaz enzimi üzerine ilave edilen beta glikozidaz enzim miktarının etkisi



Şekil 4.148. 180°C sıcaklıkta, 30 dakika süresince, %5,25 NaOH çözeltisi ile 1/5 katı/sıvı oranında ön işlem uygulanmış fındık kabuklarının enzimatik hidrolizine selülaz ve beta glikozidaz enzimi üzerine ilave edilen ksilanaz enzim miktarının etkisi

Sadece selülaz enzimi üzerine ksilanaz enziminin ilave edilmesi sadece ksiloz miktarına değil aynı zamanda glikoz miktarına da etki etmiştir. 0,30 XU ksilanaz enzimi ilavesi ile elde edilen glikoz miktarı 177,49 dan 283,41 mg a yükselirken ksiloz miktarı ise 57,06 dan 65,61 e yükselmiştir (Şekil 4.149).



**Şekil 4.149.** 180°C sıcaklıkta, 30 dakika süresince, %5,25 NaOH çözeltisi ile 1/5 katı/sıvı oranında ön işlem uygulanmış fındık kabuklarının enzimatik hidrolizine selüloz enzimi üzerine ilave edilen ksilanaz enzim miktarının etkisi

#### 4.18 Ön İşlem Uygulanmış Fındık Kabuğunun Enzimatik Hidroliz Verilerinin Modellenmesi

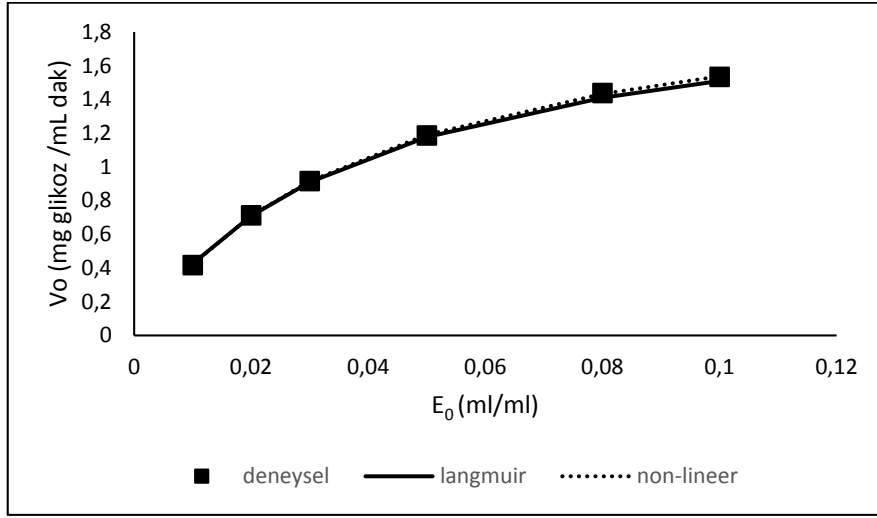
##### 4.18.1. Michaelis-Menten kinetik model parametrelerinin belirlenmesi

Alkali ön işlem uygulanmış fındık kabuklarının farklı enzim konsantrasyonlarındaki başlangıç hidroliz hızlarını Bölüm 3.2.5.1 de anlatıldığı şekilde hesaplanmış ve Bölüm 3.2.5.1 de açıklandığı gibi 2 farklı şekilde hesaplanan Michaelis-Menten sabitleri Çizelge 4.5’da verilmiştir. Enzim derişimi ile başlangıç enzimatik hidroliz hızlarının değişimini gösteren grafik ise Şekil 4.150’de gösterilmiştir. Elde edilen veriler Michelis-Menten modeline %99,99 oranında uyum göstermiştir. Vmax değeri 2,169-2,179 arasında, Ke değeri ise 0,041-0,042 olarak bulunmuştur.



**Çizelge 4.5.** Enzim konsantrasyonu değişimine göre Michaelis-Menten sabitleri

	langmuir	non-linear
<b>Vmax</b>	2,179	2,169
<b>Ke</b>	0,042	0,041
<b>R<sup>2</sup></b>	0,999	0,999
<b>OMS (%)</b>	1,266	0,518



**Şekil 4.150.** Alkali ön işlem uygulanmış fındık kabuğunun başlangıç enzimatik hidroliz hızına (deneysel ve farklı yaklaşımlarla çözülen Michaelis-Menten modelinden hesaplanan) başlangıç enzim konsantrasyonunun etkisi

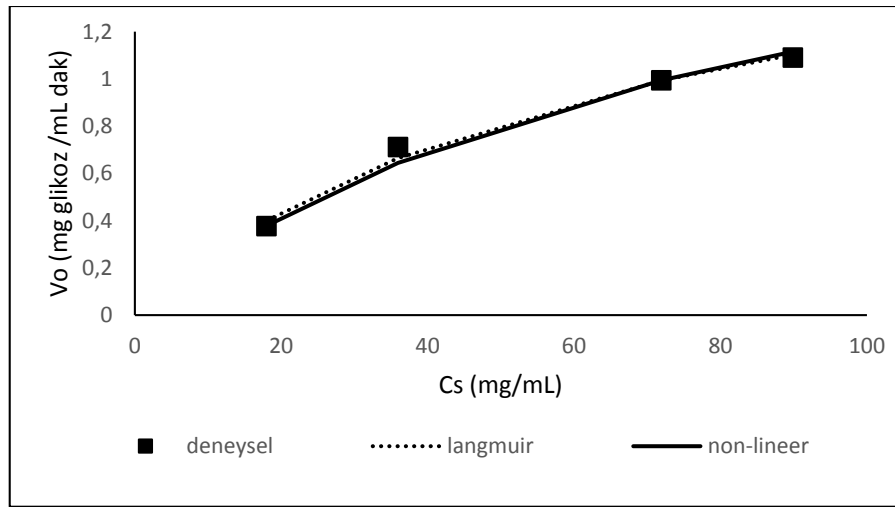
Şekil 4.150'de deneysel olarak elde edilen başlangıç hızlarının modelden elde edilen başlangıç hızlarına çok yakın değerler olduğu görülmektedir. Enzim miktarınının 0,05'e kadar yükseltilmesi ile başlangıç hızının daha yüksek oranda arttığı, ancak enzim miktarının 0,05'den (mL enzim /mL çözelti) 0,10'a yükseltilmesi ile başlangıç hızının artış miktarının azaldığı görülmektedir.

Alkali ön işlem uygulanmış fındık kabuklarının farklı substrat konsantrasyonlarındaki başlangıç hidroliz hızlarını Bölüm 3.2.5.1 de anlatıldığı şekilde hesaplanmış ve Bölüm 3.2.5.1 de açıklandığı gibi 2 farklı şekilde hesaplanan Michaelis-Menten sabitleri Çizelge 4.6'da verilmiştir. Enzim derişimi ile başlangıç enzimatik hidroliz hızlarının değişimini gösteren grafik ise Şekil 4.151'de gösterilmiştir. Elde edilen veriler Michelis-Menten modeline %99,94-

%99,95 oranında uyum göstermiştir.  $V_{max}$  değeri 1,968-2,173 arasında,  $K_e$  değeri ise 70,55-85,307 olarak bulunmuştur.

**Çizelge 4.6.** Substrat konsantrasyonu değişimine göre Michaelis-Menten sabitleri

	langmuir	non-lineer
<b><math>V_{max}</math></b>	1,968	2,173
<b><math>K_e</math></b>	70,55	85,307
<b><math>R^2</math></b>	0,995	0,994
<b>OMS(%)</b>	3,474	3,261



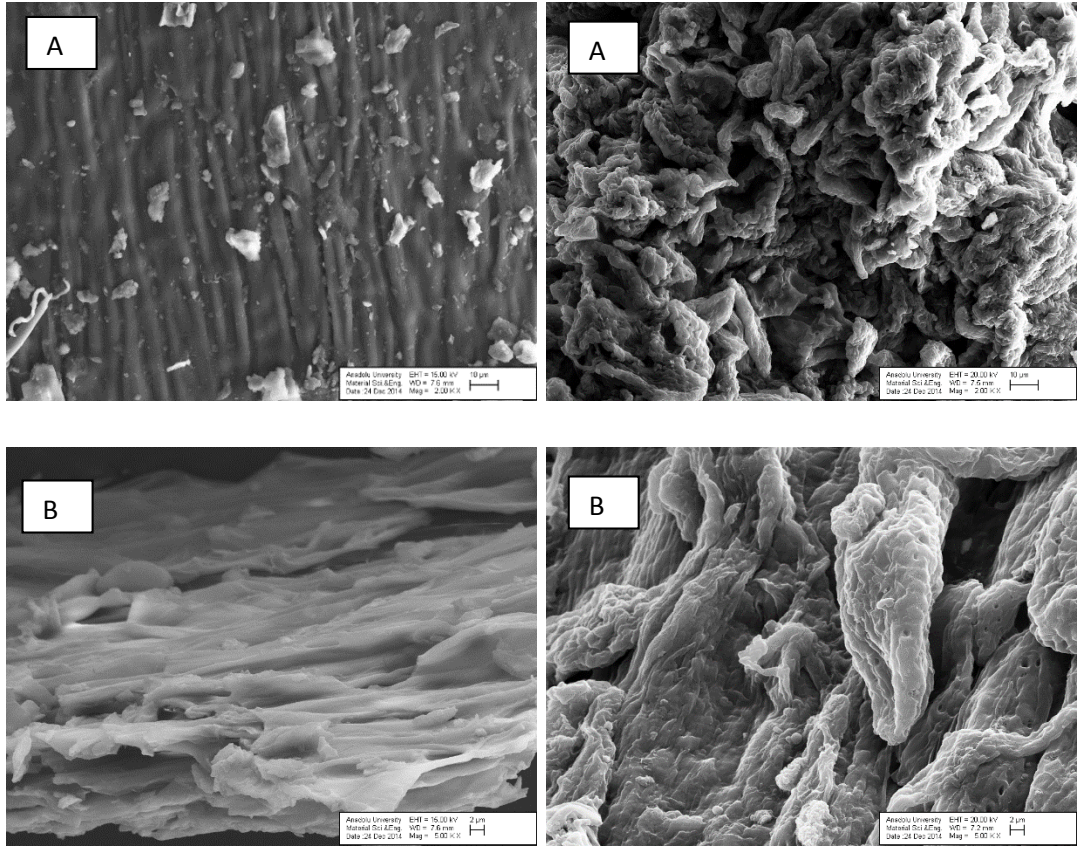
**Şekil 4.151.** Alkali ön işlem uygulanmış haşhaş sapının başlangıç enzimatik hidroliz hızına (deneysel ve farklı yaklaşımlarla çözülen Michaelis-Menten modelinden hesaplanan) başlangıç substrat konsantrasyonunun etkisi.

Şekil 4.151’de deneysel olarak elde edilen başlangıç hızlarının modelden elde edilen başlangıç hızlarına çok yakın değerler olduğu görülmektedir. Substrat miktarının artması ile elde edilen başlangıç enzimatik hidroliz hızlarının arttığı görülmektedir.

Enzimatik hidroliz sonuçlarının hem enzim derişimi hemde substrat miktarına bağlı olarak Michaelis-Menten yaklaşımı ile modellenmesi sonucunda elde edilen maksimum hız miktarları sırasıyla (non lineer çözümleyici ile) 2,169 ve 2,173 olarak elde edilmiştir. Bu sonuçlar birbirine oldukça yakın olarak bulunması maksimum hızın enzim derişimi ve substrata bağlı olmadığını göstermektedir.

#### 4.19 Ön İşlem Uygulanmış Ve Ön İşlem Uygulanmamış Fındık Kabuklarının SEM Analizi

Şekil 4.152 A’da gösterilen ön işlem uygulanmamış ve B’de alkali ön işlem uygulanmış fındık kabuklarının SEM analizi görülmekte olup buna göre ön işlem görmemiş hammadde düzenli bir yapıya sahipken bu yapının ön işlem etkisiyle bozulduğu özellikle gözlenmektedir. Ön işlem uygulanmamış fındık kabukları düzgün ve sert yapıya sahipken, ön işlem uygulandıktan sonra yapının gözenekliliğinin arttığı ve selüloz liflerinin ortaya çıktığı görülmektedir.



Şekil 4.152. Ön işlem uygulanmış (A) ve alkali ön işlem uygulanmış fındık kabuklarının (B) SEM görüntüsü

## 5. SONUÇ TARTIŞMA ve ÖNERİLER

Petrol ve petrole bağlı ürünlerde önümüzdeki yıllarda yaşanabilecek darboğaz dikkate alınarak son yıllarda özellikle sıvı yakıt katkı maddesi olarak kullanılabilir biyoetanol ve lignoselülozik kaynaklı çeşitli kimyasalların üretimine olan talep gün geçtikçe artmaktadır. Biyoetanol ve diğer petrol eşdeğeri kimyasalların üretiminde fermente şekerler temel bileşen (platform) kimyasalı olarak sürdürülebilir hammadde kaynaklarının başında yer almaktadırlar.

Dünyamızın karasal kısmının yaklaşık olarak üçte ikisinde yaygın olarak bulunan lignoselülozik biyokütle fermente şekerlerin üretiminde önemli bir kaynaktır. Özellikle tarım ülkesi olarak bilinen ülkemizde tarımsal atıkların değerlendirilerek katma değeri yüksek ürünlere dönüştürülmesi önemlidir. Bu amaçla, bu çalışmada, dünya üretiminin 2/3 ünün ülkemizde gerçekleştiği, tarımsal ve ticari açıdan önemli bir hammadde olan fındık kabuğu lignoselülozik biyokütle kaynağı olarak seçilerek, ülkemizdeki tarımsal atıklardan biyoetanol ve temel bileşen (platform) kimyasalı üretimine katkıda bulunabilecek araştırmaların yapılması amaçlanmıştır.

Bu çalışmada ilk olarak hammaddenin içeriği belirlenmiştir. Deneysel çalışmalarda kullanılan fındık kabukları %16,67 selüloz, %13,30 hemiselüloz, %51,10 lignin içermektedir. Literatürde lignin yüzdesi badem kabukları için %20-28 (Caballero ve ark., 1997; Antal ve ark., 2000; González ve ark., 2005), hindistan cevizi kabuğu için %28-34 (Bhushan, 1978; Antal ve ark., 2000), brezya fındığı için %59 (Bonelli ve ark., 2001) fıstık kabuğu için %30-33, pekan cevizi kabuğu için %70 ve ceviz için %33-52 arasında bulunmuştur (Antal ve ark., 2000). Fındık kabuğundaki selüloz ve hemiselüloz içeriği ise sırasıyla %24-50 ve %24-38 arasında bulunmuştur (White ve ark., 2011). Ülkemiz araştırmacıları tarafından yapılan bir çalışmada da fındık kabuğunun lignin, selüloz ve hemiselüloz içeriği sırasıyla %44, %26 ve %30 (Demirbas ve ark., 1996) olarak rapor edilmiştir.

Çalışmada fındık kabuğuna uygulanan ön işlemlerinin selülozun şekerlere enzimatik hidrolizi üzerine etkisi incelendiği için, öncelikle enzimatik hidroliz koşullarının belirlenmesine yönelik çalışmalar yapılmıştır. Bu çalışmaların sonucunda 1 g ön işlem uygulanmış katı başına 20 mL enzim karışımı (60 FPU selülaz + 40 CBU  $\beta$ -glükozidaz ) kullanılarak devam edilmiştir. Bira üretiminden

artan tahıllarla yapılan bir çalışmada optimum selüloz miktarını 45 FPU/g olarak belirlemişlerdir aynı çalışmada katı sıvı oranını %2 (a/h) olarak belirlemiş, ayrıca katı sıvı oranının artırılması ile elde edilen glikoz miktarında azalma meydana gelmiştir (Mussatto ve ark., 2008). Mısır sapları ile yapılmış bir çalışmada selüloz enzimi üzerine 16,1 mg  $\beta$ -glukozidaz enzimi ilavesi ile 72 saat enzimatik hidroliz sonucunda glikoz miktarı %13, ksiloz miktarı ise %37 artırıldığı bildirilmiştir (Wyman ve Kumar 2009). Bu çalışmada daha yüksek bir değer bulma sebebimiz fındık kabuklarının sert bir yapıya sahip olması ve lignin içeriğinin fazla olmasından kaynaklanabilir

Fındık kabuğundan katma değerli bileşik olan şekerlerin enzimatik hidrolizi ile üretim proses veriminin optimize edilmesi amacıyla fındık kabuğuna fiziko kimyasal, fiziksel, kimyasal ve biyolojik olmak üzere on bir farklı ön işlem uygulanmıştır.

Farklı asitlerle yapılan çalışmada sülfürik asit en etkili asit olarak belirlenmiş ve yüksek sıcaklıklardaki etkisi incelenmiştir. Optimum ön işlem koşulu seçildikten sonra sülfürik asit (%0,5 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 120°C, 1/10 katı/sıvı oranı, 10 dak) ön işlemi hammaddenin hemiselüloz içeriğini %7,78'e düşürmüş, selüloz içeriğini ise %21,61 arttırmıştır (Çizelge 5.2). Asit ön işlem ile glikoz kazanımı %42,41 olarak elde edilmiştir. Kütle denklığı sonucunda 100 gram fındık kabuğu başına 7,87 g glikoz ve 1,67 g ksiloz elde edilmiştir (Çizelge 5.3). Enerji denklığı sonucunda ise bir gram ürün başına 95,76 KJ enerji harcanmıştır (Çizelge 5.4). Literatürde yapılan çalışmalarda da benzer sonuçlara ulaşılmıştır. Örneğin, bambuyla yapılan bir çalışmada, asetik asit ve sülfürik asit ön işlemleri uygulamaları sonucunda aynı koşullarda sülfürik asitin daha etkili olduğu bildirilmiştir. Bambunun asetik asit ön işlemi sonucunda enzimatik hidroliz verimi %30 civarlarında iken sülfürik asit ön işlemi ile %50'lere yükselmiştir (Li ve ark., 2014). Zeytin ağacının atıklarına seyreltik sülfürik asit ön işlemi uygulandığı başka bir çalışmada (Cara ve ark., 2008) sıcaklığın artmasıyla hemiselüloz kadar selülozunda çözülmüş olduğu ve glikoz veriminin belli bir sıcaklıktan sonra düştüğü gözlenmiştir. Kavak atıkları ile yapılan bir çalışmada (Yang ve ark. 2012) ise optimum sülfürik asit ön işleminin %0,5 lik çözelti ile 120°C sıcaklıkta 2 saat süreyle yapılan ön işlem sonucunda elde etmişlerdir. Castro ve arkadaşlarının

(2012) kolza atıkları ile yapmış olduğu çalışmada, sıcaklığın artması ile selüloz kazanımının azaldığı gözlenmiş ve optimizasyon kriteri yüksek selüloz içeriği olarak kabul edildiğinde, 140°C nin en uygun sıcaklık olacağı sonucuna ulaşılmıştır.

Su buharı ile yapılan çalışmalarda hemiselüloz içeriği %5,44 e düşürülmüş ve selüloz miktarı %20,34 e arttırılmıştır (Su buharı, 200°C, 1/5 katı/sıvı, 60 dak). Su buharı ön işlemi ile glikoz kazanımı %46,71 olarak elde edilmiştir. Kütle denkliği sonucunda 100 gram fındık kabuğu başına 7,79 g glikoz ve 2,82 g ksiloz elde edilmiştir. Enerji denkliği sonucunda ise bir gram glikoz başına 491,17 Kj enerji harcanmıştır. Su buharı ön işlemi çözücü kullanılmamasına rağmen yüksek sıcaklık gerektirdiği için ürün başına harcanan enerji miktarı oldukça yüksektir. Ayrıca elde edilen glikoz ve ksiloz miktarları ise asit ön işlemi ile hemen hemen aynı olarak bulunmuştur. Şeker kamışı atıklarının buhar ön işlemine tabi tutulduğu bir çalışmada (Oliviera ve ark. 2013) sıcaklığın 200°C'ye arttırılması ile enzimatik hidroliz verimini %80'e yükseltmişlerdir. Aynı çalışmada, sıcaklık ile hemiselüloz çözünürlüğü arasında doğrusal bir bağıntı elde edilmiştir. Su buharı ön işlemi kavak (Oliva ve ark. 2003), okalıptus (Ballesteros ve ark. 2004), zeytin atıkları (Cara ve ark. 2006), mısır sapı (Yang ve ark. 2010), buğday samanı (Ballesteros ve ark. 2006), şeker kamışı atığı (Martin ve ark. 2002), çimen (Viola ve ark. 2008) ve kenevir (Barta ve ark. 2010) gibi birçok biyokütleye uygulanmış ve enzimatik hidroliz verimliliğini artmıştır.

Düşük sıcaklık kısa zaman alkali ön işlemi sonucunda lignin içeriği %40,11'e düşürülmüş ve selüloz miktarı %22,49'a arttırılmıştır (%2,25 NaOH, 60°C, 1/40 katı/sıvı, 30 dak). NaOH ön işlemi ile glikoz kazanımı %43,53 olarak elde edilmiştir. Kütle denkliği sonucunda 100 gram fındık kabuğu başına 7,35 g glikoz ve 0,29 g ksiloz elde edilmiştir. Enerji denkliği sonucunda ise bir gram glikoz başına 133,38 Kj enerji harcanmıştır. Alkali ön işlem sonucunda fındık kabuklarının lignin içeriği bir miktar giderilmiş olsa da daha fazla giderim ve enzimatik hidroliz veriminin artması için yüksek sıcaklığa ihtiyaç duyulmaktadır. Bu ön işlem her ne kadar düşük sıcaklıkta gerçekleşmiş olsa da ön işlem süresinin fazla olması nedeniyle birim glikoz başına düşen enerji miktarı asit ön işleme göre daha fazladır. Benzer optimum koşullar farklı biyoküteller için farklı araştırmacılar

tarafından da elde edilmiştir. Kavak atıkları ile yapılan bir çalışmada (Rawat ve ark. 2013) NaOH ön işlemi düşük sıcaklık ve kısa zaman için optimize edilmiş ve sakkarifikasyon verimi üzerinden %2,5 NaOH, 60 dakika, 94°C sıcaklık ön işlem koşulları optimum olarak belirlenmiştir. Ayrıca buğday atıkları (Carrillo ve ark. 2005) ve pirinç atıkları (Jeya ve ark. 2009) ile yapılmış olan çalışmalarda, optimum ön işlem koşulları sırasıyla %2 NaOH 80°C 6 saat, %2 NaOH, 85°C, 1 saat olarak belirlenmiştir. Alkali ön işlem, glikoz kazanımı ve enzimatik hidroliz verimini tatlı sorgum (Goshadroua ve ark. 2011), ayçiçek sapı (Sharma ve ark. 2002) pirinç sapı (Zang ve Chai 2008), pamuk sapı (Binod ve ark. 2012) gibi birçok biyokütle için arttırmıştır.

Yüksek sıcaklık alkali ön işlemi sonucunda lignin içeriği %36,38'e düşürülmüş ve selüloz miktarı %31,83'e arttırılmıştır (%2,25 NaOH, 150°C, 1/10 katı/sıvı, 60 dak). Yüksek sıcaklık NaOH ön işlemi ile glikoz kazanımı %72,22 olarak elde edilmiştir. Kütle denklığı sonucunda 100 gram fındık kabuğu başına 12,04 g glikoz ve 3,17 g ksiloz elde edilmiştir. Enerji denklığı sonucunda ise bir gram glikoz başına 181,37 Kj enerji harcanmıştır. Yüksek sıcaklık alkali ön işlem sonucunda fındık kabuklarının lignin içeriği giderilmiş ve enzimatik hidroliz verimini arttırılmıştır. Bu ön işlem yüksek sıcaklıkta gerçekleşmiş olduğundan dolayı birim ürün başına düşen enerji miktarı hala fazladır. Yüksek sıcaklık alkali ön işleminin enerji gereksinimini azaltmak ve glikoz kazanımını daha da yükseltmek için bu ön işlemin proses parametreleri optimize edilmiştir.

Yüksek sıcaklık NaOH ön işleminin istatistiksel optimizasyonu sonucunda elde edilen optimum koşullarda lignin içeriği %27,28 ye düşürülmüş ve selüloz miktarı %48,44 e arttırılmıştır (%5,25 NaOH, 180°C, 1/5 katı/sıvı, 30 dakika). Optimum ön işlem koşullarında glikoz kazanımı %75,81 olarak elde edilmiştir. Kütle denklığı sonucunda 100 gram fındık kabuğu başına 14,38 g glikoz ve 4,06 g ksiloz elde edilmiştir. Enerji denklığı sonucunda ise bir gram glikoz başına 106,08 Kj enerji harcanmıştır. Optimum noktadaki yüksek sıcaklık NaOH ön işlemi sonucunda selülozca zengin hammadde elde edilmiştir. Ayrıca sıcaklığın yüksek olmasına rağmen yüksek ürün verimliliği ve düşük zaman sebebiyle harcanan enerji de düşük sıcaklık ön işlemlerinden daha azdır. Binod ve arkadaşları pamuk sapından yapmış oldukları alkali ön işlem optimizasyon çalışmalarında maksimum

glikoz verimi %4 NaOH çözeltisi ile 180°C de 45 dakika sonunda elde edilmiştir (Binod ve ark. 2012). Preeti ve arkadaşları hasat sonrası atıklarda yapmış oldukları çalışmada optimum alkali ön işleme %4,5 NaOH 180°C 15 dakika ön işlem süresini (Preeti ve ark. 2012)

Düşük sıcaklık uzun zaman alkali ön işleme sonucunda lignin içeriği %44,12'e düşürülmüş ve selüloz miktarı %17,72 ye arttırılmıştır (%6 NaOH, 30°C, 1/10 katı/sıvı, 4320 dakika). NaOH ön işleme ile glikoz kazanımı %48,32 olarak elde edilmiştir. Kütle denklığı sonucunda 100 gram fındık kabuğu başına 8,06 g glikoz ve 0,68 g ksiloz elde edilmiştir. Enerji denklığı sonucunda ise bir gram ürün başına 432,17 Kj enerji harcanmıştır. Enerji gideriminin azaltılması için uygulanan düşük sıcaklık ön işleminde uygulama süresinin uzun olması sebebiyle harcanan enerji miktarı yüksek sıcaklık ön işlemlerinden daha fazladır. Ayrıca elde edilen glikoz ve ksiloz miktarları ile glikoz kazanımları uzun ön işlem süresine rağmen düşük sıcaklıktan dolayı oldukça düşüktür. Tatlı sorghum (Wu ve ark. 2011a) ile ve şeker kamışı (Wu ve ark. 2011b) ile yapılan bir çalışmalarda, düşük sıcaklıkta selüloz hidrolizi ve sakkarifikasyon verimi 5 M NaOH çözeltisi kullanılarak arttırılmıştır.

NaOH'e alternatif olarak uygulanan NH<sub>4</sub>OH çözeltisi ön işleme sonucunda lignin içeriği %47,87 e düşürülmüş ve selüloz miktarı %16,13 ye arttırılmıştır (%3 90°C, 1/10 katı/sıvı oranı, %3 NH<sub>4</sub>OH ve 1 gün, 90°C, 1/10 katı/sıvı, 1440 dakika). NH<sub>4</sub>OH ön işleme ile glikoz kazanımı %66,63 olarak elde edilmiştir. Kütle denklığı sonucunda 100 gram fındık kabuğu başına 12,34 g glikoz ve 1,16 g ksiloz elde edilmiştir. Enerji denklığı sonucunda ise bir gram glikoz başına 1243,22 Kj enerji harcanmıştır. NaOH çözücüsüne alternatif olarak uygulanan amonyum hidroksit çözeltisi ile nerdeyse yüksek sıcaklık ön işlemleri kadar glikoz kazanımı elde edilmiştir. Elde edilen glikoz miktarı ise yüksek sıcaklık ön işleminden daha fazladır. Ancak ön işlem sıcaklığının 90°C olması ve ön işlemin uzun sürmesinden harcanan enerji miktarı oldukça yüksektir. Kolza sapları ile yapılan bir çalışmada (Kang ve ark. 2011) optimum amonyum hidroksit ön işleme %19,8 derişim, 14,2 saat ön işlem süresi ve 69°C sıcaklık olarak belirlenmiştir. *Miscanthus giganteus* ile yapılan çalışmada (Yu ve ark. 2013) ise sıcaklığın ve amonyum hidroksit derişiminin lignin giderimi ve sakkarifikasyon üzerinde etkili olduğu gözlenmiş ve



130°C sıcaklıkta, %30'luk amonyum hidroksit çözeltisi ile 2 saat boyunca ön işlem sonucunda en yüksek verime ulaşılmıştır. Mısır sapları ile yapılan bir çalışmada ise sürekli amonyak sistemi kullanılmış ve sıcaklık 85°C olarak belirlenmiştir (Zhang ve ark. 2013). Fındık kabukları için bulmuş olduğumuz amonyum hidroksit derişiminin diğer çalışmalara göre düşük olmasının sebebi ön işlem süresinin yüksek olmasıdır. Ön işlem süresi düşürülmesi için daha yüksek sıcaklığa veya NH<sub>4</sub>OH derişimine ihtiyaç duyulacaktır.

Lignin çözünürlüğünü arttırmak amacıyla etanol çözeltisi içerisinde hazırlanan NaOH çözeltisi ile uygulanan organosolv ön işlemi sonucunda lignin içeriği %35,38 e düşürülmüş ve selüloz miktarı %24,76 ya arttırılmıştır (%50 EtOH içerisinde %4 NaOH ile organosolv, 120°C, 1/10 katı/sıvı, 30 dak). Organosolv ön işlemi ile glikoz kazanımı %57,95 olarak elde edilmiştir. Kütle denkliği sonucunda 100 gram fındık kabuğu başına 10,73 g glikoz ve 3,03 g ksiloz elde edilmiştir. Enerji denkliği sonucunda ise bir gram glikoz başına 97,02 Kj enerji harcanmıştır. Organosolv ön işlemi ile düşük sıcaklık alkali ön işlemlerine göre daha etkin bir lignin giderimi elde edilmiştir. Harcanan enerji miktarı ise düşük ve yüksek sıcaklık alkali ön işlemlerden daha düşüktür. Şeker kamışının enzimatik hidroliz veriminin arttırılmasının amaçlandığı bir çalışmada NaOH ile EtOH çözücüsünün optimum ön işlem koşulları 30% (h/h) EtOH, 195°C sıcaklık ve 60 dakika olarak elde edilmiştir (Mesa ve ark. 2011). Sarı kavak odunuyla yapılan bir çalışmada (Koo ve ark. 2011) 140-160°C ön işlem sıcaklığında %50 EtOH (h/h) %1 NaOH ve H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> çözeltileri ile ön işlem uygulanmış ve alkali çözücünün lignin giderimi üzerinde etkisi bulunmuş, asit çözücüsünün selüloz ve hemiselülozu çözdüğü bulunmuştur.

Alternatif çözücü olarak kullanılabilecek olan iyonik sıvılarla uygulanan uygulanan ön işlem sonucunda lignin içeriği %42,59 a düşürülmüş ve selüloz miktarı %17,93 e arttırılmıştır ([EMIM]Ac, 120°C, 1/20 katı/sıvı, 60 dakika). İyonik sıvı ön işlemi ile glikoz kazanımı %95,46 olarak elde edilmiştir. Kütle denkliği sonucunda 100 gram fındık kabuğu başına 18,23 g glikoz ve 5,73 g ksiloz elde edilmiştir. Enerji denkliği sonucunda ise bir gram glikoz başına 3330,08 Kj enerji harcanmıştır. İyonik sıvı ön işleminde etkin bir lignin giderimi elde edilememesine karşın nerdeyse %100 e yakın glikoz kazanımı elde edilmiştir. Ancak bu ön işlem için harcanan enerji miktarı oldukça yüksektir. Haykır ve

arkadaşları (2013) pamuk sapına farklı iyonik sıvılarla 150°C de 30 dakika boyunca uygulamış oldukları ön işlem sonucunda en uygun iyonik sıvının 1-ethyl-3-methyl imidazolium asetat olduğunu bulmuşlardır.

Kimyasal çözücülere alternatif olarak uygulanan biyolojik ön işlem sonucunda lignin içeriği %47,87 ye düşürülmüş ve selüloz miktarı %16,91 e arttırılmıştır (*Phanerochaete chrysosporium* fungusu ile 28°C, 1/10 katı/sıvı, 1 hafta). Biyolojik ön işlemi ile glikoz kazanımı %35,43 olarak elde edilmiştir. Kütle denkliği sonucunda 100 gram fındık kabuğu başına 6,38 g glikoz ve 0,55 g ksiloz elde edilmiştir. Enerji denkliği sonucunda ise bir gram glikoz başına 759,60 KJ enerji harcanmıştır. Biyolojik ön işlemler ile glikoz kazanımı kimyasal ön işlemlere oranla daha düşüktür. Çözücü maliyeti olmamasına rağmen yüksek ön işlem süresi gereksiniminden dolayı harcanan enerjide oldukça yüksektir. Temiz ve çevreci bir ön işlem olan biyolojik ön işlemler fındık kabuğu için asit ve su buhar ön işlemlerine alternatif olabilirler. Zhao ve arkadaşları mısır saplarından şeker üretimi için yapmış oldukları çalışmada optimum ön işlem koşulunu *Phanerochaete chrysosporium* fungusu ile 29°C sıcaklıkta 2 hafta olarak belirlemişlerdir. Mısır sapları ile yapılan çalışmada *Phanerochaete chrysosporium* ön işlemi enzimatik hidroliz verimini ve lignin giderimini arttırmıştır (Zhao ve ark. 2012).

Düşük sıcaklık alkali ön işlemlerini geliştirmek için uygulanan alkali peroksit ön işlemi sonucunda lignin içeriği %39,36 ya düşürülmüş ve selüloz miktarı %20,94 e arttırılmıştır (%2 NaOH içerisinde çözünmüş %2 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, 30°C, 1/10 katı/sıvı, 360 dakika). Alkali peroksit ön işlemi ile glikoz kazanımı %81,25 olarak elde edilmiştir. Kütle denkliği sonucunda 100 gram fındık kabuğu başına 15,05 g glikoz ve 4,40 g ksiloz elde edilmiştir. Enerji denkliği sonucunda ise bir gram glikoz başına 21,13 KJ enerji harcanmıştır. Düşük sıcaklık alkali çözücü içerisine H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ilavesi ile hem glikoz kazanımı artarken hemde düşük sıcaklık ve kısa zaman ön işlemi olması sebebiyle harcanan enerji oldukça düşüktür. Fındık kabuklarından fermente şeker eldesi için hem ürün hemde enerji bakımında son derece uygundur. Alvarez-Vasco ve Zhang yumuşak talaş parçaları ile yapmış oldukları çalışmada alkali hidrojen peroksit ön işleminin lignin giderimi üzerinde etkili olduğunu ayrıca selüloz kazanımında yüksek olduğunu belirlemişlerdir (Alvarez-Vasco ve Zhang, 2013). Diaz ve arkadaşları pirinç kabukları ile yapmış

oldukları çalışmada % 7,5 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, 90<sup>0</sup>C sıcaklık ve 1 sa ön işlem sonunda yaklaşık olarak %87 toplam verim elde etmişlerdir (Diaz ve arkadaşları, 2013).

Her bir ön işlemin en yüksek glikoz kazanımına bakılarak optimum ön işlem koşulları belirlenmiş ve Çizelge 5.1 de bu koşullar verilmiştir. Çizelge 5.2 de optimum koşullarda ön işlem uygulanmış fındık kabuklarının kimyasal içerikleri, Çizelge 5.3’de 100 gram fındık kabuğundan kütle denkliği sonucunda elde edilen şeker miktarları ve glikoz kazanımları, Çizelge 5.4’de de uygulanan ön işlemler sırasında kullanılan enerji miktarları verilmektedir.

**Çizelge 5. 1.** Optimum noktalarda ön işlem koşulları

Çözücü	Sıcaklık (°C)	Katı/sıvı oranı (g/mL)	Süre (dakika)
% 0,5 (v/v) H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	120	1/10	10
Su Buharı	200	1/5	60
%2,25 (a/h) NaOH	60	1/40	30
%2,25 (a/h) NaOH	150	1/10	60
%5,25 (a/h) NaOH	180	1/5	30
% 6 (a/h) NaOH	30	1/10	4320
%3 (h/h) NH <sub>4</sub> OH	90	1/10	1440
Organosolv (%4 (a/h) NaOH %50 (v/v) etanol içerisinde)	120	1/10	30
Biyolojik ( <i>Phanerochaete chrysosporium</i> )	28	1/10	10080
Alkali peroksit (% 2 (a/h) NaOH % 2 (v/v) H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> )	30	1/10	360
İyonik sıvı ([EMIM]Ac)	120	1/20	60

**Çizelge 5.2** Ön işlem uygulanmış fındık kabuklarının kimyasal içerikleri

Ön işlem	Lignin (%)	Selüloz (%)	Hemiselüloz (%)
Hammadde	51,25	16,67	13,33
% 0,5 (v/v) H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , 120°C, 1/10 katı/sıvı oranı, 10 dak	60,01	21,61	7,78
Su Buharı, 200°C, 1/5 katı/sıvı, 60 dak	65,56	20,34	5,44
%2,25 (a/h) NaOH, 60°C, 1/40 katı/sıvı, 30 dak	40,10	22,49	10,51
%2,25 (a/h) NaOH, 150°C, 1/10 katı/sıvı, 60 dak	36,38	31,83	15,87
%5,25 (a/h) NaOH, 180°C, 1/5 katı/sıvı, 30 dak	27,28	48,44	16,28
% 6 (a/h) NaOH, 30°C, 1/10 katı/sıvı, 4320 dak	44,12	17,72	12,14
%3 (h/h) NH <sub>4</sub> OH, 90°C, 1/10 katı/sıvı, 1440 dak	47,87	16,13	11,20
%4 (a/h) NaOH %50 (v/v) etanol içerisinde ile organosolv, 120°C, 1/10 katı/sıvı, 30 dak	35,38	24,76	17,17
<i>Phanerochaete chrysosporium</i> fungusu ile 28 °C, 1/10 katı/sıvı, 10080 dak	47,87	16,91	12,16
Alkali peroksit (% 2 (a/h) NaOH % 2 (v/v) H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ), 30°C, 1/10 katı/sıvı, 360 dakika	39,36	20,94	11,54
[EMIM]Ac iyonik sıvısı, 120 °C, 1/20 katı/sıvı, 60 dak.	42,59	17,93	11,26

**Çizelge 5.3** 100 gram fındık kabuğundan kütle denkliği sonucu elde edilen şeker miktarları ve glikoz kazanımları

Ön işlem	Glikoz (g)	Ksiloz (g)	Glikoz kazanımı (%)
% 0,5 (v/v) H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , 120°C, 1/10 katı/sıvı oranı, 10 dak	7,87	1,67	42,41
Su Buharı, 200°C, 1/5 katı/sıvı, 60 dak	7,79	2,82	46,71
%2,25 (a/h) NaOH, 60°C, 1/40 katı/sıvı, 30 dak	7,35	0,29	43,53
%2,25 (a/h) NaOH, 150°C, 1/10 katı/sıvı, 60 dak	12,04	3,17	72,22
%5,25 (a/h) NaOH, 180°C, 1/5 katı/sıvı, 30 dak	14,38	4,06	75,81
% 6 (a/h) NaOH, 30°C, 1/10 katı/sıvı, 4320 dak	8,06	0,68	48,32
%3 (h/h) NH <sub>4</sub> OH, 90°C, 1/10 katı/sıvı, 1440 dak	12,34	1,16	66,63
%4 (a/h) NaOH %50 (v/v) etanol içerisinde ile organosolv, 120°C, 1/10 katı/sıvı, 30 dak	10,73	3,03	57,95
<i>Phanerochaete chrysosporium</i> fungusu ile 28°C, 1/10 katı/sıvı, 10080 dak	6,38	0,55	35,43
Alkali peroksit (% 2 (a/h) NaOH % 2 (v/v) H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ), 30°C, 1/10 katı/sıvı, 360 dak	15,05	4,40	81,25
[EMIM]Ac iyonik sıvısı, 120°C, 1/20 katı/sıvı, 60 dak	18,23	5,73	95,46

Çizelge 5.4. uygulanan ön işlemler sırasında kullanılan enerji miktarları

Ön işlem	Qısıtma Kj	Qkayıp Kj	Qreaksiyon Kj	Q karıştırıcı x10 <sup>3</sup> Kj	Qtoplam Kj	Qspesifik Kj/g glikoz
% 0,5 (v/v) H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , 120°C, 1/10 katı/sıvı oranı, 10 dak	28,50	9,13	0,01	0,11	37,64	95,76
Su Buharı, 200°C, 1/5 katı/sıvı, 60 dak	90,30	100,94	0,02	0,63	191,26	491,17
%2,25 (a/h) NaOH, 60°C, 1/40 katı/sıvı, 30 dak	32,23	16,77	0,01	-	49,01	133,38
%2,25 (a/h) NaOH, 150°C, 1/10 katı/sıvı, 60 dak	37,09	72,10	0,01	0,63	109,20	181,37
%5,25 (a/h) NaOH, 180°C, 1/5 katı/sıvı, 30 dak	29,77	44,70	0,02	-	74,49	106,08
% 6 (a/h) NaOH, 30°C, 1/10 katı/sıvı, 4320 dak	1,52	172,49	0,01	-	174,02	432,17
%3 (h/h) NH <sub>4</sub> OH, 90°C, 1/10 katı/sıvı, 1440 dak	19,41	747,44	0,01	-	766,87	1243,22
%4 (a/h) NaOH %50 (v/v) EtOH içerisinde ile organosolv, 120°C, 1/10 katı/sıvı, 30 dak	24,65	27,40	0,02	0,32	52,06	97,02
<i>Phanerochaete chrysosporium</i> fungusu ile 28°C, 1/10 katı/sıvı, 10080 dak	0,89	241,48	0,01	-	242,38	759,60
Alkali peroksit (% 2 (a/h) NaOH % 2 (v/v) H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> , 30°C, 1/10 katı/sıvı, 360 dak	1,52	14,37	0,01	-	15,90	21,13
[EMIM]Ac iyonik sıvısı, 120°C, 1/20 katı/sıvı, 60 dak	2898,22	45,52	0,00		2943,74	3330,08

Çizelge 5.3 ve 5.4’de verilen sonuçlara göre, bu çalışmada kullanılan 100 gram findık kabuğu başına elde edilen glikoz miktarları 6,38-18,23 g arasında değişmektedir. En yüksek glikoz eldesi (18,23 g) iyonik sıvı ön işlemi ([EMIM]Ac iyonik sıvısı, 120<sup>0</sup>C, 1/20 katı/sıvı, 60 dak) ile elde edilmiştir. Alkali peroksit (Alkali peroksit (% 2 (a/h) NaOH % 2 (v/v) H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), 30<sup>0</sup>C, 1/10 katı/sıvı, 360 dakika) ön işlemi ile 15,05 g glikoz elde edilirken, yüksek sıcaklık NaOH (%5,25 (a/h) NaOH, 180<sup>0</sup>C, 1/5 katı/sıvı) ön işlemi ile 14,38 g glikoz eldesi sağlanmıştır. Alternatif olarak kullanılan NH<sub>4</sub>OH (%3 (h/h) NH<sub>4</sub>OH, 90<sup>0</sup>C, 1/10 katı/sıvı, 1440 dakika) ön işlemi ile 12,34 glikoz elde edilmiştir. Ayrıca organosolv (%4 (a/h) NaOH %50 (v/v) etanol içerisinde ile organosolv, 120<sup>0</sup>C, 1/10 katı/sıvı, 30 dakika ) ön işlemi ile ise 10,73 g glikoz elde edilmiştir.

Bu sonuçlara göre, en yüksek glikoz verimi iyonik sıvı ön işlemi ile elde edilmiş olsa da, gerek iyonik sıvıların yüksek maliyetinin olması gerekse bu ön işlem sırasında harcanan enerjinin (2943,74 kJ/g glikoz) çok yüksek olması sebebiyle bu ön işlem bu koşullarda en uygun ön işlem değildir. Bunun yerine daha düşük enerji harcanan (21,13 kJ/g glikoz ) alkali peroksit ön işlemi daha kullanılabilir. Alkali peroksit ön işlemi hem düşük sıcaklıkta (30<sup>0</sup>C) gerçekleştirilen bir ön işlem olup hem de elde edilen glikoz miktarı (15,05g/100g findık kabuğu) iyonik sıvılardan sonra elde edilebilen en yüksek miktardır. Ancak alkali peroksit ön işlemi için uzun bir ön işlem süresi (360 dak) gerekmektedir. Bu ön işleme, alternatif olarak yüksek sıcaklık (180<sup>0</sup>C) NaOH ön işlemi uygun olabilir. 30 dakika gibi kısa bir sürede 100g findık kabuğundan elde edilen glikoz miktarı 14,38 g iken yüksek sıcaklıklara çıkılmasına rağmen harcanan enerji miktarı fazla değildir (106,08 kJ/g glikoz). Bu ön işlem gerek NaOH maliyetinin düşük olması gerekse düşük ön işlem zamanında gerçekleşmesi bakımından tercih edilebilir. NH<sub>4</sub>OH ön işlemi ile de elde edilen glikoz miktarı yüksek olmasına rağmen bu ön işlemin ön işlem zamanı (1440 dak) uzun ve uygulama sıcaklığı (90<sup>0</sup>C) yüksektir. Bu yüzden harcanan enerji miktarı NaOH ön işlemine göre fazladır (1243,22 kJ/g glikoz). Organosolv ön işlemi ise glikoz eldesi (10,73 g/100g findık kabuğu) bakımından iyi iken, harcanan enerji de (97,02 kJ/g glikoz ) bu ön işlemin düşük sürede (30 dak) gerçekleşmesinden dolayı glikoz üretimi için uygun olabilir.

Biyorafineri yaklaşımı ile glikoz üretiminin yanında lignin ve hemiselülozun da değerlendirilmesi önemlidir. Bu çalışma sonucunda, hemiselülozca zengin bir hammadde kaynağı üretilmesi amaçlandığında %50 etanol içerisinde %4 NaOH ile organosolv (120 °C, 1/10 katı/sıvı, 30 dak), lignin içeriği yüksek bir hammadde kaynağı üretilmesi amaçlandığında ise su buharı ön işleminin (200 °C, 1/5 katı/sıvı, 60 dak) uygun olduğu görülmüştür.

Bu çalışmada öncelikle, lignoselülozik biyokütleden monomerik şeker (glikoz) üretimi düşünülmüş ve uygulanan prosesler glikoz verimi üzerinden değerlendirilmiştir. Ancak biyokütleden katma değerli ürün üretiminin maliyetinin düşürülmesi, biyorafineri yaklaşımı ile biyokütlenin tümünün değerlendirilmesi ile mümkündür. Bu amaçla, bu çalışmada uygulanan prosesler sonucu elde edilen şekerlerin biyoetanol ve/veya katma değeri yüksek kimyasallara dönüştürülmesi, ön işlem sıvıları ile kalan katının değerlendirilmesi çalışmalarının da yapılması, bu teknolojilerin endüstriyel olarak uygulanabilirliğine yardımcı olacaktır.

## KAYNAKLAR

- Adney, B., ve Baker, J. (2008d), "Measurement of cellulase activities," Technical Report NREL/TP-510-42628 January
- Alvira, P., Tomas-Pejo, E., Ballesteros, M. ve Negro, M.J. (2010), "Pretreatment technologies for an efficient bioethanol production process based on enzymatic hydrolysis: A review," *Bioresource Technology*, **101**, 4851–4861.
- Alvarez-Vasco, C. ve Zhang, X. (2013), "Alkaline hydrogen peroxide pretreatment of softwood: Hemicellulose degradation pathways," *Bioresource technology*, **150**, 321-327.
- Anonim (2013), "2012 yılı fındık raporu," Gümrük ve Ticaret Bakanlığı Kooperatifçilik Genel Müdürlüğü, Ankara.
- Anonim (2015), Specific heats of substances, <http://www.engineeringtoolbox.com>.
- Antal, M. J., Allen, S. G., Dai, X., Shimizu, B., Tam, M. S. ve Grønli, M. (2000), "Attainment of the theoretical yield of carbon from biomass," *Industrial & engineering chemistry research*, **39(11)**, 4024-4031.
- Ariffin, H., Abdullah, N., Umi Kalsom, M.S., Shirai, Y. ve Hassan, M.A. (2006), "Production And Characterisation Of Cellulase By *Bacillus Pumilus* EB3," *International Journal of Engineering and Technology*, **3(1)**, 47-53.
- Bail, S., Ravikumar, M., Mukeshkumar, D.J., Balashanmugam, P., Bala kumaran, M.D. ve Kalaichelvan, P.T. (2012), "Cellulase Production by *Bacillus subtilis* isolated from Cow Dung", *Scholars Research Library*, **4 (1)**, 269-279.
- Ballesteros, I., Ballesteros, M., Manzanares, P., Negro, M. J., Oliva, J. M., ve Sáez, F. (2008), "Dilute sulfuric acid pretreatment of cardoon for ethanol production," *Biochemical Engineering Journal*, **42(1)**, 84-91.
- Barta, Z., Oliva, J. M., Ballesteros, I., Dienes, D., Ballesteros, M., & Réczey, K. (2010), "Refining hemp hurds into fermentable sugars or ethanol," *Chemical and Biochemical Engineering Quarterly*, 24(3), 331-339.



- Ballesteros, I., Negro, M. J., Oliva, J. M., Cabañas, A., Manzanares, P., & Ballesteros, M. (2006, January), "Ethanol production from steam-explosion pretreated wheat straw," In Twenty-Seventh Symposium on Biotechnology for Fuels and Chemicals. (pp. 496-508). Humana Press.
- Banerjee, G., Car, S., Scott-Craig, J. S., Hodge, D. B. ve Walton, J. D. (2011), "Alkaline peroxide pretreatment of corn stover: effects of biomass, peroxide, and enzyme loading and composition on yields of glucose and xylose," *Biotechnol Biofuels*, **4(1)**, 16.
- Bhushan, B. (1978), "Agricultural residues and their utilization in some countries of South and South East Asia," In *Residue utilization, management of agricultural and agro-industrial residues, Rome, January 18-21, 1977. Vol. 1. Papers and documents. Vol. 2. Presentations by participants.* (pp. 255-314). UNEP/FAO.
- Binod, P., Kuttiraja, M., Archana, M., Janu, K., U., Sindhu, R., Sukumaran, R. K., Pandey, A., "High temperature pretreatment and hydrolysis of cotton stalk for producing sugars for bioethanol production," *Fuel* 2012, **92**, 340–345.
- Behera, S. Arora, R., ve Kuma, S. (2014), "Importance of chemical pretreatment for bioconversion of lignocellulosic biomass," *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, **36**, 91–106.
- Bonelli, P. R., Della Rocca, P. A., Cerrella, E. G. ve Cukierman, A. L. (2001), "Effect of pyrolysis temperature on composition, surface properties and thermal degradation rates of Brazil Nut shells," *Bioresource Technology*, **76(1)**, 15-22.
- Brodeur, G., Yau, E., Badal, K., Collier, J., Ramachandran, K. B. ve Ramakrishnan, S. (2011), "Chemical and physicochemical pretreatment of lignocellulosic biomass: a review," *Enzyme research*,
- Caballero, J. A., Conesa, J. A., Font, R. ve Marcilla, A. (1997), "Pyrolysis kinetics of almond shells and olive stones considering their organic fractions," *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, **42(2)**, 159-175.

- Cara, C., Ruiz, E., Oliva, J. M., Sáez, F. ve Castro, E. (2008), "Conversion of olive tree biomass into fermentable sugars by dilute acid pretreatment and enzymatic saccharification," *Bioresource Technology*, **99(6)**, 1869-1876.
- Cara, C., Ruiz, E., Ballesteros, I., Negro, M. J., & Castro, E. (2006), "Enhanced enzymatic hydrolysis of olive tree wood by steam explosion and alkaline peroxide delignification," *Process Biochemistry*, 41(2), 423-429.
- Carrillo, F., Lis, M. J., Colom, X., López-Mesas, M., & Valldeperas, J. (2005). Effect of alkali pretreatment on cellulase hydrolysis of wheat straw: Kinetic study. *Process biochemistry*, 40(10), 3360-3364.
- Castro, E., Díaz, M. J., Cara, C., Ruiz, E., Romero, I., ve Moya, M. (2011), "Dilute acid pretreatment of rapeseed straw for fermentable sugar generation," *Bioresource technology*, **102(2)**, 1270-1276.
- Chiaromonti, D., Prussi, M., Ferrero, S., Oriani, L., Ottonello, P., Torre, P., ve Cherchi, F. (2012), "Review of pretreatment processes for lignocellulosic ethanol production, and development of an innovative method," *Biomass and Bioenergy*, **46**, 25-35.
- Cullen D. ve Kersten P. (1992), "*Fungal Enzymes For Lignocellulose Degradation, Applied Molecular Genetic Of Filamentous Fungi*;" Edited By J.R. Kinghorn ve G. Turner; Blackie Academic & Professional,
- Demirbaş, A., Akdeniz, F., Erdogan, Y. ve Pamuk, V. (1996), "Kinetics for fast pyrolysis of hazel nut shell," *Fuel Science and Technology International*, 14(3), 405-415.
- Diaz, A., Le Toullec, J., Blandino, A., De Ory, I. ve Caro, I. (2013), "Pretreatment of rice hulls with alkaline peroxide to enhance enzyme hydrolysis for ethanol production," *Chemical Engineering Transactions*, 32.
- Duff, S. J., ve Murray, W. D. (1996), "Bioconversion of forest products industry waste cellulose to fuel ethanol: a review," *Bioresource Technology*, 55(1), 1-33.
- Ek, M., Gellerstedt, G. ve Henriksson, G. (Eds.). (2009), "*Wood chemistry and wood biotechnology*" (Vol. 1). Walter de Gruyter.

- Felder, R. M. ve Rousseau, R. W. (2008), “Elementary Principles of Chemical Processes,” John Wiley & Sons.
- Fogler H.S., *Elements Of Chemical Reaction Engineering*, Fourth Edition, ISBN 0-13-047394-4, 2005.
- Ghose, T.K. (1987), “Measurement of Cellulase Activities,” *Pure & Appl. Chem.*, Vol. **59**, No. 2, pp. 257—268, IUPAC, Great Britain.
- Ghose, T. K., ve Bisaria, V. S. (1987), “Measurement of hemicellulase activities: Part I Xylanases,” *Pure and Applied Chemistry*, **59(12)**, 1739-1751.
- Gonçalves, F. A., Ruiz, H. A., Da Costa Nogueira, C., Dos Santos, E. S., Teixeira, J. A., ve De Macedo, G. R. (2014), “Comparison of delignified coconuts waste and cactus for fuel-ethanol production by the simultaneous and semi-simultaneous saccharification and fermentation strategies,” *Fuel*, 131, 66-76.
- Gonzalez, J. F., Ramiro, A., González-García, C. M., Gañán, J., Encinar, J. M., Sabio, E. ve Rubiales, J. (2005), “Pyrolysis of almond shells. Energy applications of fractions,” *Industrial & engineering chemistry research*, 44(9), 3003-3012.
- Gong, D., Holtman, K. M., Franqui-Espiet, D., Orts, W. J. ve Zhao, R. (2011), “Development of an integrated pretreatment fractionation process for fermentable sugars and lignin: Application to almond (*Prunus dulcis*) Shell,” *Biomass and bioenergy*, 35(10), 4435-4441.
- Goldbeck, R., Ramos, M.M., Pereira, G.A.G. ve Maugeri-Filho, F. (2013), “Cellulase production from a new strain *Acremonium strictum* isolated from the Brazilian Biome using different substrates,” *Bioresource Technology*, **128**, 797–803.
- Goshadroura, A., Karimia, K., Taherzadeh, M.J. (2011), “Bioethanol production from sweet sorghum bagasse by *Mucor hiemalis*,” *Industrial Crops and Products*, **34**, 1219– 1225.
- Hayes, D. J. (2009), “An examination of biorefining processes, catalysts and challenges,” *Catalysis Today*, **145(1)**, 138-151.

- Haykir, N. I., Bahcegul, E., Bicak, N. ve Bakir, U. (2013), "Pretreatment of cotton stalk with ionic liquids including 2-hydroxy ethyl ammonium formate to enhance biomass digestibility," *Industrial Crops and Products*, **41**, 430-436.
- Harmsen, P. F. H., Huijgen, W., Bermudez, L., ve Bakker, R. (2010), "Literature review of physical and chemical pretreatment processes for lignocellulosic biomass,"
- Hendriks, A. T. W. M. ve Zeeman, G. (2009), "Pretreatments to enhance the digestibility of lignocellulosic biomass," *Bioresource technology*, **100(1)**, 10-18.
- Hernández, V., Romero-Garciab, J.M., Dávila, J.A., Castrob, E. ve Cardonaa, C.A. (2014), "Techno-economic and environmental assessment of an olive stonebased biorefinery. Resources," *Conservation and Recycling*, **92**, 145–150.
- Hideno, A., Inoue, H., Tsukahara, K., Yano, S., Fang, X., Endo, T. ve Sawayama, S. (2011), "Production and characterization of cellulases and hemicellulases by *Acremonium cellulolyticus* using rice straw subjected to various pretreatments as the carbon source," *Enzyme and Microbial Technology*, **48**, 162–168
- Howard, R. L., Abotsi, E., Van Rensburg, E. J., ve Howard, S. (2004), "Lignocellulose biotechnology: issues of bioconversion and enzyme production," *African Journal of Biotechnology*, **2(12)**, 602-619.
- Holopainen-Mantila, U., Marjamaa, K., Merali, Z., Käsper, A., de Bot, P., Jääskeläinen, A. S., & Tamminen, T. (2013), "Impact of hydrothermal pretreatment to chemical composition, enzymatic digestibility and spatial distribution of cell wall polymers," *Bioresource technology*, **138**, 156-162.
- Ibrahim, H. A. H. (2012), "Pretreatment of straw for bioethanol production," *Energy Procedia*, **14**, 542-551.
- Jeya, M., Zhang, Y. W., Kim, I. W., & Lee, J. K. (2009). Enhanced saccharification of alkali-treated rice straw by cellulase from *Trametes hirsuta* and statistical

- optimization of hydrolysis conditions by RSM. *Bioresource technology*, 100(21), 5155-5161.
- Kareemulla, D., Tyagi, S. (2008), "Challenges And Opportunities For Producing Bioethanol From Lignocellulosic Biomass" *Bharat Petroleum Corporation Limited*, Greater Noida
- Kang, K. E., Jeong, G. T., Sunwoo, C., & Park, D. H. (2012), "Pretreatment of rapeseed straw by soaking in aqueous ammonia," *Bioprocess and biosystems engineering*, **35(1-2)**, 77-84.
- Karagöz, P., Rocha, I. V., Özkan, M. ve Angelidaki, I. (2012), "Alkaline peroxide pretreatment of rapeseed straw for enhancing bioethanol production by same vessel saccharification and co-fermentation," *Bioresource technology*, **104**, 349-357.
- Kareemulla, D., Tyagi, S., Rawat, J., Rao P.V.C. ve Choudary N.V. (2008), "Challenges And Opportunities For Producing Bioethanol From Lignocellulosic Biomass," SAE international, 200-28-0105, Greater Noida (201306), India
- Koo, B. W., Park, N., Jeong, H. S., Choi, J. W., Yeo, H., & Choi, I. G. (2011), "Characterization of by-products from organosolv pretreatments of yellow poplar wood (*Liriodendron tulipifera*) in the presence of acid and alkali catalysts," *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, 17(1), 18-24.
- Koppram, R., Tomas-Pejo, E., Xiros, C. ve Olsson, L. (2014), "Lignocellulosic ethanol production at high-gravity: challenges and perspectives," *Trends in Biotechnology*, **32**, 1.
- Kristensen, J. B., (2009), "Enzymatic hydrolysis of lignocellulose: substrate interactions and high solids loadings", Forest & Landscape, University of Copenhagen,
- Kumar, P., Barrett, D. M., Delwiche, M. J. ve Stroeve, P. (2009), "Methods for pretreatment of lignocellulosic biomass for efficient hydrolysis and biofuel production," *Industrial & Engineering Chemistry Research*, **48(8)**, 3713-3729.

- Kumar, R. ve Wyman, C. E. (2009), "Effect of enzyme supplementation at moderate cellulase loadings on initial glucose and xylose release from corn stover solids pretreated by leading technologies," *Biotechnology and Bioengineering*, 102(2), 457-467.
- Lee, J. (1997), "Biological conversion of lignocellulosic biomass to ethanol," *Journal of biotechnology*, **56(1)**, 1-24.
- Li, Q., He, Y. C., Xian, M., Jun, G., Xu, X., Yang, J. M., & Li, L. Z. (2009), "Improving enzymatic hydrolysis of wheat straw using ionic liquid 1-ethyl-3-methyl imidazolium diethyl phosphate pretreatment," *Bioresource Technology*, **100(14)**, 3570-3575.
- Li, C., Knierim, B., Manisseri, C., Arora, R., Scheller, H. V., Auer, M. ve Singh, S. (2010), "Comparison of dilute acid and ionic liquid pretreatment of switchgrass: biomass recalcitrance, delignification and enzymatic saccharification," *Bioresource technology*, **101(13)**, 4900-4906.
- Li, Z., Fei, B. ve Jiang, Z. (2014), "Comparison of Dilute Organic and Sulfuric Acid Pretreatment for Enzymatic Hydrolysis of Bamboo," *BioResources*, 9(3), 5652-5661.
- Mafe, O. A., Davies, S. M., Hancock, J. ve Du, C. (2015), "Development of an estimation model for the evaluation of the energy requirement of dilute acid pretreatments of biomass," *Biomass and Bioenergy*, 72, 28-38.
- Margeot, A., Hahn-Hagerdal, B., Edlund, M., Slade, R., ve Monot, F. (2009), "New improvements for lignocellulosic ethanol," *Current opinion in biotechnology*, 20(3), 372-380.
- Martin, C., Alriksson, B., Sjöde, A., Nilvebrant, N. O. ve Jönsson, L. J. (2007), "Dilute sulfuric acid pretreatment of agricultural and agro-industrial residues for ethanol production," *Applied biochemistry and biotechnology*, 137(1-12), 339-352.
- Martín, C., & Thomsen, A. B. (2007), "Wet oxidation pretreatment of lignocellulosic residues of sugarcane, rice, cassava and peanuts for ethanol production," *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 82(2), 174-181.

- Martín, C., Galbe, M., Wahlbom, C. F., Hahn-Hägerdal, B., & Jönsson, L. J. (2002), “Ethanol production from enzymatic hydrolysates of sugarcane bagasse using recombinant xylose-utilising *Saccharomyces cerevisiae*,” *Enzyme and Microbial Technology*, 31(3), 274-282.
- Martínez, J. M., Reguant, J., Montero, M. Á., Montané, D., Salvadó, J. ve Farriol, X. (1997), “Hydrolytic pretreatment of softwood and almond shells. Degree of polymerization and enzymatic digestibility of the cellulose fraction,” *Industrial & engineering chemistry research*, 36(3), 688-696.
- Maurelli, L., Ionata, E., La Cara, F., & Morana, A. (2013), “Chestnut shell as unexploited source of fermentable sugars: effect of different pretreatment methods on enzymatic saccharification,” *Applied biochemistry and biotechnology*, 170(5), 1104-1118.
- Mc Cabe, L.W., Smith, J.C. ve Harriot, P. (1993), *Unit Operations of Chemical Engineering*, Mc Graw Hill, New York.
- Mesa, L., González, E., Cara, C., González, M., Castro, E., & Mussatto, S. I. (2011), “The effect of organosolv pretreatment variables on enzymatic hydrolysis of sugarcane bagasse,” *Chemical Engineering Journal*, 168(3), 1157-1162.
- Miller, G.L. (1959), “Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar,” *Anal. Chem.* **31**, 426–428.
- Mosier, N., Wyman, C., Dale, B., Elander, R., Lee, Y. Y., Holtzapple, M. ve Ladisch, M. (2005), “Features of promising technologies for pretreatment of lignocellulosic biomass,” *Bioresource technology*, **96(6)**, 673-686.
- Mtui, G. Y. (2009), “Recent advances in pretreatment of lignocellulosic wastes and production of value added products,” *African Journal of Biotechnology*, **8(8)**.
- Mussatto, S. I., Dragone, G., Fernandes, M., Milagres, A. M. ve Roberto, I. C. (2008), “The effect of agitation speed, enzyme loading and substrate concentration on enzymatic hydrolysis of cellulose from brewer’s spent grain,” *Cellulose*, 15(5), 711-721.
- Oliveira, F. M., Pinheiro, I. O., Souto-Maior, A. M., Martin, C., Gonçalves, A. R., & Rocha, G. J. (2013), “Industrial-scale steam explosion pretreatment of

- sugarcane straw for enzymatic hydrolysis of cellulose for production of second generation ethanol and value-added products,” *Bioresource technology*, **130**, 168-173.
- Oliva, J. M., Sáez, F., Ballesteros, I., González, A., Negro, M. J., Manzanares, P., & Ballesteros, M. (2003), “Effect of lignocellulosic degradation compounds from steam explosion pretreatment on ethanol fermentation by thermotolerant yeast *Kluyveromyces marxianus* in,” *Biotechnology for fuels and chemicals*. (pp. 141-153). Humana Press.
- Pandit, N.P. ve Maheshwari, S.M., (2012), “Optimization of Cellulase Enzyme Production from Sugarcane Pressmud Using Oyster Mushroom - *Pleurotus Sajor-Caju* by Solid State Fermentation”, *J. Bioremed. Biodegrad*, **3(3)**, 1-5.
- Preeti, V. E., Sandhya, S. V., Kuttiraja, M., Sindhu, R., Vani, S., Kumar, S. R., Binod, P. (2012). An evaluation of chemical pretreatment methods for improving enzymatic saccharification of chili postharvest residue. *Applied biochemistry and biotechnology*, **167(6)**, 1489-1500.
- Otajewwo, F.D (2011), “Cultural Conditions Necessary for Optimal Cellulase Yield by Cellulolytic Bacterial Organisms as They Relate to Residual Sugars Released in Broth Medium,” *Modern Applied Science*, **5(3)**, 141-151.
- Qiu, Z. ve Aita, G. M. (2013), “Pretreatment of energy cane bagasse with recycled ionic liquid for enzymatic hydrolysis,” *Bioresource technology*, **129**, 532-537.
- Quintero, J.A. Moncada, J. ve Cardona, C.A. (2013), “Techno-economic analysis of bioethanol production from lignocellulosic residues in Colombia: A process simulation approach,” *Bioresource Technology*, **139**, 300–307.
- Rawat, R., Kumbhar, B. K., & Tewari, L. (2013). Optimization of alkali pretreatment for bioconversion of poplar (*Populus deltoides*) biomass into fermentable sugars using response surface methodology. *Industrial Crops and Products*, **44**, 220-226.
- Saha, B. C., Yoshida, T., Cotta, M. A. ve Sonomoto, K. (2013), “Hydrothermal pretreatment and enzymatic saccharification of corn stover for efficient ethanol production,” *Industrial Crops and Products*, **44**, 367-372.



- Sharada, R., Venkateswarlu, G., Venkateshwar, S. ve Rao Anand, M. (2013) "Production Of Cellulase – A Review," *International Journal Of Pharmaceutical, Chemical And Biological Sciences*, **3(4)**, 1070-1090.
- Saleh, M., Cuevas, M., García, J.F. ve Sanchez, S. (2014), "Valorization of olive stones for xylitol and ethanol production from dilute acid pretreatment via enzymatic hydrolysis and fermentation by *Pachysolen tannophilus*," *Biochemical Engineering Journal*, **90**, 286–293.
- Shao, Q., Chundawat, S. P., Krishnan, C., Bals, B., da Costa Sousa, L., Thelen, K. D. ve Balan, V. (2010), "Research Enzymatic digestibility and ethanol fermentability of AFEX-treated starch-rich lignocellulosics such as corn silage and whole corn plant,"
- Sharma S. K., Kalra, K. L., Grewal, H. S. (2002), "Enzymatic saccharification of pretreated sunflower stalks," *Biomass and Bioenergy*, **23**, 237– 243.
- Sierra, R., Smith, A., Granda, C., & Holtzapple, M. T. (2008), "Producing rueis and Chemicals from Lignocellulosic Biomass," *Chemical engineering progress*, **104(8)**, S10-S18.
- Sindhu, R., Kuttiraja, M., Binod, P., Janu, K. U., Sukumaran, R. K. ve Pandey, A. (2011), "Dilute acid pretreatment and enzymatic saccharification of sugarcane tops for bioethanol production," *Bioresource technology*, **102(23)**, 10915-10921.
- Singh, A., Singh, N. ve Bishnoi, N.R. (2009), "Production of Cellulases by *Aspergillus Heteromorphus* from Wheat Straw under Submerged Fermentation" *International Journal of Civil and Environmental Engineering*, **1(1)**, 23-26.
- Sluiter, A., Hames, B., Ruiz, R., Scarlata, C., Sluiter, J. ve Templeton, D. (2006), "Determination of sugars, byproducts, and degradation products in liquid fraction process samples," National Renewable Energy Laboratory, Golden, CO.

- Sluiter, A., Hames, B., Ruiz, R., Scarlata C., Sluiter, J. ve Templeton, D. (2008a), "Determination of Ash in Biomass", Technical Report NREL/TP-510-42622 January.
- Sluiter, A., Hames, B., Ruiz, R., Scarlata, C., Sluiter, J., Templeton, D. ve Crocker, D., (2008b), "Determination of Structural Carbohydrates and Lignin in Biomass," Technical Report NREL/TP-510-42618 Revised April.
- Sluiter, A., Hames, B., Ruiz, R., Scarlata C., Sluiter, J. ve Templeton, D. (2008c), "Determination of Extractives in Biomass," Technical Report NREL/TP-510-42619 January.
- Sobutay T. (2006), "Fındık sektör araştırması," İTO yayınları, İstanbul.
- Soccol, C. R., Faraco, V., Karp, S., Vandenberghe, L. P. S., Thomaz-Soccol, V., Woiciechowski, A. ve Pandey, A. (2011), "Lignocellulosic bioethanol: current status and future perspectives," *Biofuels: alternative feedstocks and conversion processes. Academic, San Diego*, 101-122.
- Sun, Y. ve Cheng, J. (2002). "Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol production: a review," *Bioresource technology*, **83(1)**, 1-11.
- Sun, N., Liu, H., Sathitsuksanoh, N., Stavila, V., Sawant, M., Bonito, A., ve Holmes, B. M. (2013), "Production and extraction of sugars from switchgrass hydrolyzed in ionic liquids," *Biotechnology for Biofuels*, **6(1)**, 1-15.
- Taherzadeh, M. J., ve Karimi, K. (2008), "Pretreatment of lignocellulosic wastes to improve ethanol and biogas production: a review," *International journal of molecular sciences*, **9(9)**, 1621-1651.
- T.C. Enerji ve Tabii Kaynaklar Bakanlığı Yenilenebilir Enerji Genel Müdürlüğü Biyokütle Enerjisi Potansiyeli Atlası, 2014, <http://bepa.yegm.gov.tr/>
- Teymouri, F., Laureano-Perez, L., Alizadeh, H. ve Dale, B. E. (2005), "Optimization of the ammonia fiber explosion (AFEX) treatment parameters for enzymatic hydrolysis of corn stover," *Bioresource technology*, **96(18)**, 2014-2018.
- Tomás-Pejó, E., Alvira, P., Ballesteros, M. ve Negro, M. J. (2011), "Pretreatment technologies for lignocellulose-to-bioethanol conversion," *Biofuels: alternative feedstocks and conversion processes*, **7**, 149-176.

- Vancov, T. ve McIntosh, S. (2011), "Alkali pretreatment of cereal crop residues for second-generation biofuels," *Energy & Fuels*, **25(7)**, 2754-2763.
- Van Dyk, J. S. ve Pletschke, B. I. (2012), "A review of lignocellulose bioconversion using enzymatic hydrolysis and synergistic cooperation between enzymes—factors affecting enzymes, conversion and synergy," *Biotechnology advances*, **30(6)**, 1458-1480.
- Vani, S., Binod, P., Kuttiraja, M., Sindhu, R., Sandhya, S. V., Preeti, V. E. ve Pandey, A. (2012), "Energy requirement for alkali assisted microwave and high pressure reactor pretreatments of cotton plant residue and its hydrolysis for fermentable sugar production for biofuel application," *Bioresource technology*, **112**, 300-307.
- Viola, E., Cardinale, M., Santarcangelo, R., Villone, A., & Zimbardi, F. (2008), "Ethanol from eel grass via steam explosion and enzymatic hydrolysis," *Biomass and Bioenergy*, **32(7)**, 613-618.
- Visser, E. M., Oliveira Filho, D., Tótola, M. R., Martins, M. A. ve Guimarães, V. M. (2012), "Simultaneous saccharification and fermentation (SSF) of *Jatropha curcas* shells: utilization of co-products from the biodiesel production process," *Bioprocess and biosystems engineering*, **35(5)**, 801-807.
- Vlasenko, E. Y., Ding, H., Labavitch, J. M. ve Shoemaker, S. P. (1997), "Enzymatic hydrolysis of pretreated rice straw," *Bioresource technology*, **59(2)**, 109-119.
- Yavuz, G.G., Polat, K. (2012), "Durum ve Tahmi Fındık 2011/2012," TEPGE yayın No:1918, Ankara.
- White, J. E., Catallo, W. J. ve Legendre, B. L. (2011), "Biomass pyrolysis kinetics: a comparative critical review with relevant agricultural residue case studies," *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, **91(1)**, 1-33.
- Wu, L., Arakane, M., Ike, M., Wada, M., Takai, T., Gau, M., & Tokuyasu, K. (2011a), "Low temperature alkali pretreatment for improving enzymatic digestibility of sweet sorghum bagasse for ethanol production," *Bioresource Technology*, **102(7)**, 4793-4799.

- Wu, L., Li, Y., Arakane, M., Ike, M., Wada, M., Terajima, Y., & Tokuyasu, K. (2011b), "Efficient conversion of sugarcane stalks into ethanol employing low temperature alkali pretreatment method," *Bioresource technology*, **102(24)**, 11183-11188.
- Yamashita, Y., Shono, M., Sasaki, C. ve Nakamura, Y. (2010), "Alkaline peroxide pretreatment for efficient enzymatic saccharification of bamboo," *Carbohydrate Polymers*, **79(4)**, 914-920.
- Yang, H., Wang, K., Song, X., Xu, F., & Sun, R. C. (2012). Enhanced enzymatic hydrolysis of triploid poplar following stepwise acidic pretreatment and alkaline fractionation. *Process Biochemistry*, **47(4)**, 619-625.
- Yang, M., Li, W., Liu, B., Li, Q., & Xing, J. (2010), "High-concentration sugars production from corn stover based on combined pretreatments and fed-batch process," *Bioresource technology*, **101(13)**, 4884-4888.
- Yu, G., Afzal, W., Yang, F., Padmanabhan, S., Liu, Z., Xie, H. ve Prausnitz, J. M. (2014), "Pretreatment of *Miscanthus giganteus* using aqueous ammonia with hydrogen peroxide to increase enzymatic hydrolysis to sugars," *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, **89(5)**, 698-706.
- Yousuf, A. (2012), "Biodiesel from lignocellulosic biomass—Prospects and challenges," *Waste management*, **32(11)**, 2061-2067.
- Zhao, L., Cao, G. L., Wang, A. J., Ren, H. Y., Dong, D., Liu, Z. N. ve Ren, N. Q. (2012), "Fungal pretreatment of cornstalk with *Phanerochaete chrysosporium* for enhancing enzymatic saccharification and hydrogen production," *Bioresource technology*, **114**, 365-369.
- Zhang, B., Shahbazi, A., Wang, L., Diallo, O. ve Whitmore, A. (2010), "Alkali pretreatment and enzymatic hydrolysis of cattails from constructed wetlands," *American Journal of Engineering and Applied Sciences*, **3(2)**, 328-332.

- Zhang, C., Pang, F., Li, B., Xue, S. ve Kang, Y. (2013), "Recycled aqueous ammonia expansion (RAAE) pretreatment to improve enzymatic digestibility of corn stalks," *Bioresource technology*, 138, 314-320
- Zhang, Q., Cai, W. (2008), "Enzymatic hydrolysis of alkali-pretreated rice straw by *Trichoderma reesei* ZM4-F3," *Biomass and Bioenergy*, **32**, 1130–1135.
- Zheng, Y., Lin, H. M. ve Tsao, G. T. (1998), "Pretreatment for cellulose hydrolysis by carbon dioxide explosion," *Biotechnology progress*, **14(6)**, 890-896.
- Zhu, J., Zhu, Y., Jiang, F., Xu, Y., Ouyang, J. & Yu, S. (2013), "An integrated process to produce ethanol, vanillin, and xylooligosaccharides from *Camellia oleifera* Shell," *Carbohydrate Research*, **382**, 52–57.