



Düşük sıcaklık düşük zaman alkali ön işlemlerinin fındık kabuğunun bileşimi ve enzimatik hidrolizi üzerine etkisinin incelenmesi

Emin Zafer Hoşgün, Berrin Bozan*

Anadolu Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Kimya Mühendisliği Bölümü, Eskişehir, Türkiye

Ö N E Ç I K A N L A R

- En uygun ön işlem koşulu %2,25 NaOH, 60°C, 30 min, 1/10 katı/sıvı olarak belirlenmiştir.
- Bu koşullarda uygulanan ön işlem ile enzimatik hidroliz verimi 2 katına çıkmıştır.
- Bu koşullarda harcanan enerji 60,90 kJ olarak belirlenmiştir.

Makale Bilgileri

Geliş: 18.04.2016

Kabul: 14.10.2016

DOI:

10.17341/gazimmfd.300607

Anahtar Kelimeler:

Fındık kabuğu,
alkali ön işlem,
fermente şeker,
biyoetanol,
enzimatik hidroliz

ÖZET

Bu çalışmada, fındık kabuklarından enzimatik hidroliz ile glikoz üretimi için, düşük sıcaklık kısa zaman alkali ön işlemi uygulanmıştır. Çalışılan alkaliler içinde enzimatik hidroliz verimi ve lignin giderimi açısından sodyum hidroksit etkili olduğu görülmüş ve çalışmalarda NaOH işlem koşullarının glikoz kazanımı ve ön işlem görmüş katı kompozisyonuna etkileri incelenmiştir. Uygulanan farklı alkali ön işlemler ve enzimatik hidroliz sonucunda elde edilen glikoz kazanımı %10,12 ile %43,53 arasında, lignin giderimi ise %19,48 ile %53,84 arasında değişmiştir. 1 gram glikoz üretebilmek için harcanan enerji ise 10,03 kJ ile 219,46 kJ arasında bulunmuştur. Çalışılan koşullarda glikoz verimi ve enerji bakımından en uygun ön işlem koşulunun %2,25 NaOH, 60°C, 30 min, 1/10 katı/sıvı oranında olduğu sonucuna varılmıştır. Bu koşullarda glikoz verimi %37,23 lignin giderimi %44,22 ön işlem için harcanan enerji miktarı ise 60,90 kJ/g dir.

Investigation of the effect of low temperature low time alkali pretreatment on hazelnut shells composition and enzymatic hydrolysis

H I G H L I G H T S

- Optimum pretreatment conditions were determined as 2.25% NaOH, 60 °C, 30 min, 1/10 solid / liquid ratio.
- The enzymatic hydrolysis yield has been doubled with the pre-treatment applied in these conditions.
- Energy requirement was determined as 60,90 kJ at these conditions.

Article Info

Received: 18.04.2016

Accepted: 14.10.2016

DOI:

10.17341/gazimmfd.300607

Keywords:

Hazelnut shell,
alkaline pretreatment,
fermentable sugar,
bioethanol,
enzymatic hydrolysis

ABSTRACT

In this study, effect of low temperature-short time alkali pretreatment of hazelnut shells on glucose recovery after enzymatic hydrolysis was investigated. NaOH pretreatment was found to give the highest glucose recovery. Therefore, pretreatment conditions with NaOH were optimized based on glucose recovery. As a result of different alkali pretreatment, glucose yield was ranged between 10.12-43.53%, lignin removal was 19.48-53.84%. Energy requirements for 1 gram of glucose was between 10.03-219.46 kJ. Considering both glucose recovery and energy requirement, best pretreatment conditions were 2.25% NaOH with a solid to liquid ratio 1/10, and pretreatment temperature of 60°C for 30 min, 1/10 solid to liquid ratio. At these conditions, glucose recovery and lignin removal were 37.23% and 44.22% respectively, and energy requirement for pretreatment was 60.90 kJ/1 g glucose.

*Sorumlu Yazar/Corresponding Author: bbozan@anadolu.edu.tr / Tel: +90 222 321 3550 / 6507

1. GİRİŞ (INTRODUCTION)

Günümüzde enerji darboğazı nedeniyle alternatif enerji kaynaklarına yönelik başlamıştır [1]. Bu yönelik sonucunda, özellikle petrole bağımlı ürünlerin yerini alabilecek ürünlerin geliştirilmesinde lignoselülozik hammaddeler önemli bir yer tutmaktadır [2]. Lignoselüloz yapısı tam olarak belirli olmayan ancak başlıca selüloz, hemiselüloz ve ligninden oluşan karışık bir kimyasal yapıya sahip maddedir. Selüloz ve hemiselülozun hidroliz ürünleri olan monomerik şekerler, özellikle glikoz, kimyasal ve biyolojik ürünlerin üretilmesinde önemli hammadde kaynağıdır [3]. Şekerler selüloz ve hemiselülozun hidroliz ürünleridir. Hidroliz işlemi kimyasallar kullanılarak (asit, baz) yapılabilmesine rağmen çevre dostu uygulamalar olmadığından ve fermantasyon işleminden önce toksik maddelerin uzaklaştırılmaları gerektiğinden bu yöntemler günümüzde tercih edilmemektedirler. Bunun yerine, biyoteknolojideki gelişmeye bağlı olarak yeni mikroorganizmaların geliştirilmesi ve yeni enzimlerin üretilmesi ile birlikte lignoselülozdan şeker üretiminde enzimatik/mikrobiyal hidroliz kullanılmaktadır [4]. Ancak direkt olarak enzimin/mikroorganizmanın kullanıldığı işlemlerde hidroliz süresi çok uzun ve şeker verimi ise düşüktür. Bunun nedeni, lignoselüloz yapısındaki lignin enzimin selüloza erişimine bir engel oluşturmasıdır. Bu nedenle mikrobiyal/enzimatik hidroliz işleminden önce hammaddeye bazı ön işlemlerin uygulanması gerekmektedir. Ön işlemlerin temel amacı lignini ve hemiselülozu uzaklaştırmak (glikoz üretimi için), selülozun kristal yapısını bozmak ve lignoselülozik biyokütlelerin porozitesini artırmaktır [5]. Ancak ön işlem maliyetinin toplam maliyetin yaklaşık %40'ını oluşturması, lignoselülozik biyokütlelerin endüstriyel olarak değerlendirilmesinin önündeki en önemli kısıtlardan birisidir. Bu nedenle, maliyeti artırıcı özellikle yüksek enerji gerektiren ön işlemlerin yerine, düşük sıcaklıklarda ve düşük maliyetli kimyasalların kullanıldığı ön işlemlerin kullanılması önemlidir [6]. Alkali ön işlemi, özellikle yüksek lignin içeren hammaddeden ligninin uzaklaştırılması için yaygın olarak kullanılan işlemlerden birisidir [7]. Bu işlem genellikle düşük sıcaklıkta yüksek alkali derişimlerinde ya da yüksek sıcaklıkta düşük alkali derişimlerinde uygulanmaktadır [8]. Ancak uygulanan tüm ön işlemlerde en düşük enerji sarfiyatı ile monomerik şeker verimini maksimize edecek uygun ön işlem koşullarının belirlenmesi gerekmektedir [9]. Fındık ülkemizin karadeniz bölgesinde yoğunca yetiştirilen bir tarımsal üründür [10]. Ülkemizde yıllık ortalama 600,000 tonluk fındık üretimi yapıldığı ve kabuklu fındığın yaklaşık %50'lik kısmının kabuk olduğu düşünülecek olursa, fındık üretimi sonucunda yıllık yaklaşık olarak 300,000 ton fındık kabuğu açığa çıkmaktadır [11]. Fındık kabuklarının yerel olarak yakılarak ısı elde edilmesinin dışında, bilinen endüstriyel bir uygulaması bulunmamaktadır. Fındık kabuklarını, içermiş oldukları lignin ve karbonhidrat bileşimleri nedeniyle, biyofineri yaklaşımı ile katma değeri yüksek bileşiklerin elde eldesinde hammadde olarak kullanmak mümkündür. Literatürde daha önce kabukların farklı amaçlarla değerlendirilmesine

yönelik çalışmalar mevcuttur. Kabuklar boyar madde olarak [12, 13], bakır [14] gideriminde düşük maliyetli adsorban olarak, hidrojen üretiminde [15], piroliz işleminde [16] ve furfural üretimi [17] araştırmalarında kullanılmıştır. Kabukların asit hidrolizi sonucu elde edilen şekerlerden hemiselüloz eldesi ve etanol eldesine yönelik çalışmalar da [18, 19] mevcuttur. Ayrıca daha önce yaptığımız çalışmada buhar ön işlemin fındık kabuklarının enzimatik hidrolizi üzerine etkileri belirlenmiştir [20]. Yapılan literatür taraması sonucunda uygulanan alkali ön işlemlerin fındık kabuğunun şekerlere enzimatik hidrolizi üzerine etkisinin araştırıldığı bir çalışma bulunmamaktadır. Bu çalışmada, düşük zaman, düşük sıcaklık alkali ön işleminin fındık kabuklarının karbonhidrat ve lignin bileşimi ile şekerlere enzimatik hidrolizi üzerine etkisinin araştırılması amaçlanmıştır. Kullanılan alkali çeşidinin, alkali derişimlerinin, ön işlem zamanının, sıcaklığın ve katı/sıvı oranının hidroliz verimi üzerine etkisi incelenmiş, glikoz verimini maksimize edecek koşullar belirlenmiştir. Ayrıca her bir işlemde kütle ve enerji denklıkları kurularak, birim glikoz başına harcanan enerji üzerinden en uygun koşullar belirlenmiştir.

2. DENEYSEL METOT (EXPERIMENTAL METHOD)

Bu çalışmada Trabzon Beşikdüzü ilçesinden sağlanan fındık kabukları kullanılmıştır. Fabrikadan alınan ve %9 nem içeriğine kadar kurutulan fındık kabuğu öğütücüde öğütülüp elenmiştir. Çalışmalarda 0,224-0,850 mm boyutlu elek aralığında kalan kabuklar kullanılmıştır.

2.1. Fındık Kabuklarının Ön İşlemi ve Enzimatik Hidrolizi (Pretreatment and Enzymatic Hydrolysis of Hazelnut Shells)

Ön işlemler ağzı kapaklı şişelerde su banyosunda gerçekleştirilmiştir. Çalışmalarda farklı alkali çözeltilerinin enzimatik hidroliz üzerine etkilerini incelemek amacıyla, fındık kabukları %2,5 (a/h) lık Ca(OH)₂, CaCO₃ ve NaOH çözeltileri ile 60°C'de, 1/10 katı/sıvı oranında ve 30 dak ön işleme tabi tutulmuştur. Çalışmalara daha sonra NaOH ile devam edilmiştir. NaOH derişiminin (%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 gram/mL) ön işlem görmüş hammaddenin kimyasal bileşimine ve enzimatik hidroliz üzerine etkileri incelenmiştir. 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 saklanmış ve hammaddedeki selüloz, hemiselüloz ve lignin miktarları belirlenmiştir. Enzimatik hidroliz deneyleri çalkalamalı inkübatör içerisinde gerçekleştirilmiştir. Ön işlem uygulanmış fındık kabuğunun enzimatik hidroliz işlemlerinde 60 FPU/g (kuru hammadde) selülaz enzimi (Celluclast 1,5L[®], Novozyme) ve 40-CBU/g (kuru hammadde) β-glikozidaz enzimi (Novozyme 188) karışımı kullanılmış ve katı sıvı oranı 1/20 olacak şekilde sabit tutulmuştur. Tüm deneyler 50°C sıcaklıkta, pH 4,8'de, 100 rpm karıştırma hızında, 48 saat boyunca gerçekleştirilmiştir.

2.2. Analitik Metotlar (Analytical Methods)

Lignin tayini için, analizi yapılacak hammaddeden 300 mg şişelere konulmuş, üzerine 3 mL %72' lik sülfürik asit eklenmiş ve 1 dakika karıştırılmıştır. 30°C'de, 60 dak çalkalamalı su banyosunda karıştırılan örneklerdeki H₂SO₄ derişimi daha sonra 84 mL saf su ile %4 oluncaya kadar seyreltilmiş ve 121°C'de otoklavda 60 dak hidroliz işlemine devam edilmiştir. Otoklav işleminden sonra kaba filtre kağıdından geçirilerek süzölmüştür. Filtre kâğıdında kalan katı su ile yıkandıktan sonra 105°C'de etüvde kurutulup ardından tekrar tartılmıştır. Kurutulmuş örnek daha sonra 600°C kül fırınında (Nabertherm, Almanya), 24 saat yakılarak ve krozedde kalan kül tartılıp kaydedilmiştir Lignin miktarı kuru temel üzerinden hesaplanmıştır [21]. Lignin tayininde filtre kâğıdından ayrılan süzöntüde bulunan glikoz ve sellobiyoz miktarlarından biyokütlerde bulunan selüloz; ksiloz, arabinoz, mannoz ve galaktozun miktarlarının toplamı üzerinden ise biyokütlerde bulunan hemiselüloz miktarları hesaplanmıştır [21]. Enzimatik hidroliz sıvılarının içerdiği indirgen şeker miktarları Dinitrosalisilik asit (DNS) yöntemi ile spektrofotometrik olarak [22] monomerik şekerleri ise yüksek basınçlı sıvı kromatografi (YBSK) ile belirlenmiştir. Monomerik şeker bileşiklerinin YBSK yöntemi ile miktarlarının belirlenmesi çalışmalarında dörtlü pompa, refraktif indeks dedektör, otomatik enjeksiyon ünitesi ve kolon fırınından oluşan Agilent 1100 serisi YBSK sistemi kullanılmıştır. Ayrımlar 80°C de Aminex HPX 87P kolonda (Biorad, Hercules/USA) gerçekleştirilmiştir. Hareketli faz olarak 0,6 mL/dak akış hızında saf su kullanılmıştır. Ön işlem sonrasında Eş. 1, 2, 3 kullanılarak yüzde selüloz kazanımı, lignin giderimi ve hemiselüloz giderimi hesaplanmıştır.

$$\text{Selüloz Kazanımı (\%)} = \frac{\text{Katıda kalan selüloz}}{\text{Başlangıçdaki katıda bulunan selüloz miktarı}} \times 100 \quad (1)$$

$$\text{Hemiselüloz Giderimi (\%)} = \frac{\left(\frac{\text{Başlangıçdaki Hemiselüloz}}{\text{Başlangıçdaki katıda bulunan Hemiselüloz miktarı}} \right) - \left(\frac{\text{Katıda kalan Hemiselüloz}}{\text{Katıda bulunan Hemiselüloz miktarı}} \right)}{\left(\frac{\text{Başlangıçdaki Hemiselüloz}}{\text{Başlangıçdaki katıda bulunan Hemiselüloz miktarı}} \right)} \times 100 \quad (2)$$

$$\text{Lignin Giderimi (\%)} = \frac{\left(\frac{\text{Başlangıçdaki Lignin}}{\text{Başlangıçdaki katıda bulunan lignin miktarı}} \right) - \left(\frac{\text{Katıda kalan Lignin}}{\text{Katıda bulunan lignin miktarı}} \right)}{\left(\frac{\text{Başlangıçdaki Lignin}}{\text{Başlangıçdaki katıda bulunan lignin miktarı}} \right)} \times 100 \quad (3)$$

Enzimatik hidroliz sonrasında ise glikoz kazanımı, sakkarifikasyon ve selüloz hidrolizi Eş. 4, 5, 6 daki gibi sırasıyla hesaplanmıştır.

$$\text{Glikoz kazanımı (\%)} = \frac{\text{Elde edilen glikoz}}{\text{Ön işlem uygulanmamış katıdaki selüloz miktarı}} \times 0,90 \times 100 \quad (4)$$

$$\text{Sakkarifikasyon (\%)} = \frac{\text{Elde edilen indirgen şeker}}{\text{substratın içerdiği selüloz ve hemiselüloz miktarı}} \times 0,90 \times 100 \quad (5)$$

$$\text{Selüloz Hidrolizi (\%)} = \frac{\text{Elde edilen glikoz}}{\text{Selüloz}} \times 0,90 \times 100 \quad (6)$$

2.3. Kütle Dengesi (Mass Balance)

Glikoz kazanımı üzerinden en iyi ön işlem koşulu belirlendikten sonra bu noktada ön işlem ve enzimatik hidroliz deneyleri tekrarlanmış ve kütle dengesi kurulmuştur. 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 süreç etkinliği olarak hesap edilmiştir.

2.4. Enerji Dengesi (Energy Balance)

Kapalı sistem için net enerji denkliği yazılacak olursa;

$$\Delta E = Q - W \quad (7)$$

Burada ΔE sistemin iç enerjisindeki değişim, Q sisteme verilen enerji, W ise sistemin yaptığı işittir. Sisteme verilen toplam enerji hem sistemin ısınması, hem de sabit sıcaklıkta ön işlem süresi boyunca tutmak için gerekli olan enerjilerin toplamıdır. Ön işlem süresince meydana gelebilecek reaksiyonların enerjisi ve karıştırma işinin enerjisi çok düşük olduğu için bu çalışmada ihmal edilmiş ve ΔE Eş. 8 elde edilmiştir [23];

$$\Delta E = Q_{\text{ısıtma}} + Q_{\text{kayıp}} \quad (8)$$

Eş. 8'de $Q_{\text{ısıtma}}$ terimini Eş. 9'da ayrıntılı olarak yazabiliriz [23].

$$Q_{\text{ısıtma}} = m_w \int_{T_0}^{T_H} C_{pw} dT + m_b \int_{T_0}^{T_H} C_{pb} dT + m_a C_{pa} (T_H - T_0) \quad (9)$$

Eş. 9'da C_p (Kj/kg °C) özgül ısı, m (kg) kütle, w , b ve a sırasıyla su, biyokütle ve çözücüü temsil etmektedir. T sıcaklık (olup T_H ön işlem sıcaklığı T_0 ise çevre sıcaklığını (25 olarak kabul edilmiştir) °C cinsinden ifade etmektedir [23]. Ön işlem reaktörü yalıtılmış silindirik bir reaktör olarak varsayıldığında, ön işlem süresinde sistemden kaybolacak enerjiyi bir borudan kaybolan enerji gibi düşünebilir ve Eş. 10'daki gibi ifade edilebilir [24];

$$Q_{\text{kayıp}} = UA\Delta T \quad (10)$$

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

$$U = 1 / \left[\left(\frac{R_3}{R_1} h_{ic} \right) + \left(R_2 \ln \left(\frac{R_2}{R_1} \right) k_{\text{boru}} \right) + \left(R_3 \ln \left(\frac{R_3}{R_2} \right) / k_{\text{yalıtım}} \right) + 1/h_{dış} \right] \quad (11)$$

olarak yazılabilir [24].

Eş. 11'in paydasındaki ilk iki terimin diğeri iki terimden daha düşük olacağından bu iki terimin toplam ısı transfer

katsayısını etkilemesi ihmal edilebilir. Böylece Eş. 11 sadeleştirilerek Eş. 12'ye dönüştürülür [23].

$$U=1/[(R_3 \ln R_3/R_2)/k_{\text{yalıtım}}+1/h_{\text{dış}}] \quad (12)$$

Burada R_3 reaktörün dış yarı çapı (iç yarı çap+et kalınlığı), R_2 ise reaktörün iç yarı çapıdır. $k_{\text{yalıtım}}$ ise reaktörün imal edildiği termal iletkenliğidir. h_{out} ise dış çevrenin ısı transfer sabitidir. Dış transfer sabitini reaktör için hava olarak aldığımızda bu değer çevre koşullarına bağlı olarak 40-50 W/m²°C olarak değişeceğinden ortalama 45 olarak alınmıştır [23].

Tüm bu eşitliklerden ΔE hesaplandıktan sonra elde ürün (glikoz) başına harcanan enerji miktarları Q spesifik Eş.13'e göre hesaplanmıştır.

$$Q_{\text{spesifik}} = \frac{\Delta E}{\text{elde edilen glikoz miktarı}} \quad (13)$$

2.5. İstatistiksel Analiz (Statistical Analysis)

Fındık kabuğuna uygulanan ön işlemlerin her basamağında 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. Buna göre şekillerde kullanılan aynı parametrenin farklı etkilerindeki farklı harfler (a,b,c gibi) ortalama değerler arasında anlamlı bir ($p<0,05$) fark olduğunu göstermektedir.

3. SONUÇLAR VE TARTIŞMALAR (RESULTS AND DISCUSSIONS)

3.1. Fındık Kabuğunun Lignoselülozik İçeriği (Lignocellulosic Composition of Hazelnut Shells)

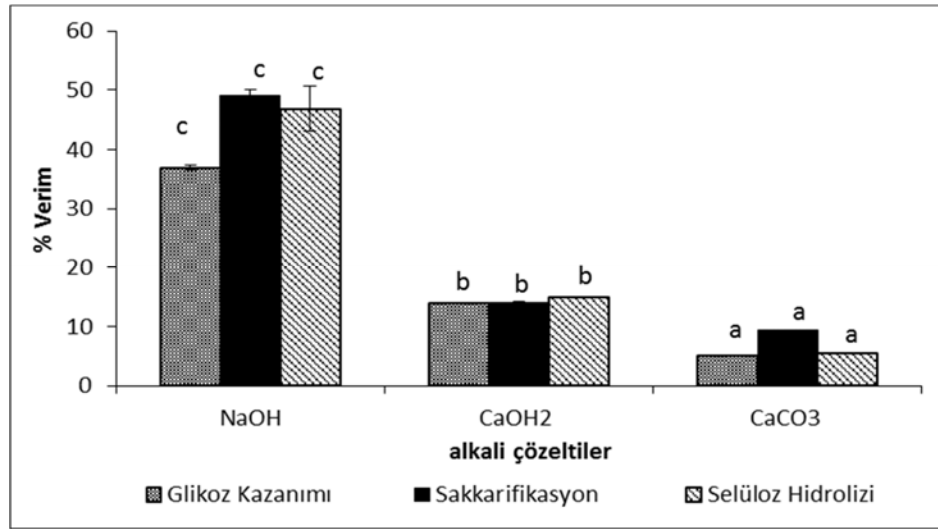
Bu çalışmada kullanılan fındık kabuklarının içeriği kuru kütle üzerinden %16,7 selüloz, %13,3 hemiselüloz olarak bulunmuştur. Lignin %51,1 ile fındık kabuklarını oluşturan ana bileşendir. Fındık kabuğunun hemiselüloz kompozisyonunu ksiloz (%9,8), galaktoz (%2,9) ve arabinoz (%0,6) oluşturmaktadır. Kül ve alkol ekstresi yüzdeleri ise sırasıyla %2,1 ve %5,1 olarak bulunmuştur. Literatürde fındık kabuğundaki selüloz ve hemiselüloz içeriği ise sırasıyla %24-26 ve %28-30 arasında olduğu bildirilmiştir [25]. Demirbaş ve arkadaşları tarafından 1996 yılında yapılan bir çalışmada ise fındık kabuğunun lignin, selüloz ve hemiselüloz içeriği sırasıyla %44, %26 ve %30 olarak rapor edilmiştir [26]. Literatürde bulunan değerler çalışmamızda bulunan değerlerden farklıdır. Bunun nedeninin biyokütlenin yetiştiği çevresel koşullar, biyokütlenin toplandığı tarih ve kullanılan analitik yöntemin farklı olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Ancak fındık kabuklarının

içermiş oldukları lignin yüzdesi diğer zirai kabuklu biyokütlenin kabuklarında bulunan değerler ile benzerlik göstermektedir. Literatürde lignin yüzdesinin, badem kabukları için %20-28 [27], [29, 30], hindistan cevizi kabuğu için %28-34 [30, 28], brezilya fındığı için %59 [31] fıstık kabuğu için %30-33, pekan cevizi kabuğu için %70 ve ceviz için %33-52 arasında olduğu bildirilmiştir [28].

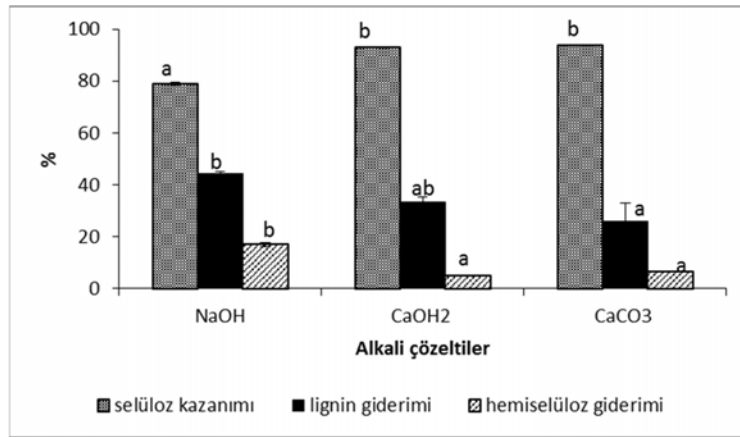
3.2. Farklı Alkaliler ile Yapılan Ön İşlemlerin Fındık Kabuğunun Bileşimi ve Enzimatik Hidrolizi Üzerine Etkisi (Effect of Different Alkali Pretreatment on the Chemical Composition and the Enzymatic Hydrolysis of the Hazelnut Shells)

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, CaOH₂ ve CaCO₃) ile 60°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 1). NaOH, Ca(OH)₂ ve CaCO₃ 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 1). Buna göre Ca(OH)₂ çözeltilisi ile ön işlem sonucunda CaCO₃ çözeltilisine göre yaklaşık olarak %60 daha fazla verim sağlanmıştır. NaOH çözeltilisinden ise Ca(OH)₂ çözeltilisine göre %20 daha fazla verim elde edilmiştir. NaOH ön işleminin diğer alkalilere göre selüloz kazanımının daha düşük olduğu görülmektedir (Şekil 2).

Lignin gideriminin amaçlandığı alkali ön işleminde NaOH aynı koşullarda (60°C sıcaklık, 1/10 katı/sıvı oranında, 30 dak) Ca(OH)₂ ve CaCO₃'e göre daha etkili olmuştur. NaOH ile %44,21 lignin giderimi sağlanırken Ca(OH)₂ ile %33,46, CaCO₃ ile %26,07 lik lignin giderimi elde edilmiştir. Cheng ve arkadaşları 2010 yılında pirinç saplarıyla yaptıkları bir çalışmada Ca(OH)₂ ve NaOH ön işlemlerinin enzimatik hidroliz hızını arttırdığını göstermişlerdir. Aynı çalışmada ön işlem sıcaklığı Ca(OH)₂ için 95°C, NaOH için ise 55°C olarak sabit tutulmuştur. Buna göre etkin bir ön işlem için Ca(OH)₂ kullanılması durumunda göre daha yüksek sıcaklıklara ihtiyaç duyulmaktadır buda enerji verimliliği ve maliyet açısından NaOH kullanılmasının daha uygun olduğunu göstermektedir [32]. Bizim çalışmamızda sabit sıcaklık ve sürede farklı alkalilerin etkinliği araştırıldığı için NaOH ön işlemi daha etkin sonuçlar vermiştir. Geçmiş çalışmalardan bilindiği üzere NaOH daha pahalı olmasına rağmen Ca(OH)₂'in suda çözünürlüğü sınırlıdır. Ayrıca ön işlem sırasında Ca(OH)₂ kullanılması durumunda daha çok suya gereksinim duyulmaktadır. Güçlü bir alkali olan NaOH yüksek çözünürlüğe sahip olduğu için daha düşük sıcaklıklarda etkindir [32]. Sonuç olarak; çalışılan alkaliler içinde NaOH'in glikoz kazanımında en etkili alkali olduğu görülmüştür. Alkali çalışmalarına NaOH ile devam edilmiş, düşük sıcaklık NaOH ön işlem parametrelerinin enzimatik hidroliz üzerine etkileri incelenmiştir.



Şekil 1. Alkali çeşidinin (%2,25, 60°C, 1/10 katı/sıvı, 30 dak) ön işlem uygulanmış fındık kabuklarının enzimatik hidrolizi sonucunda elde edilen glukoz kazanımı, sakkarifikasyon ve selüloz hidroliz verimi üzerine etkisi (Effect of alkali type on the glucose recovery, saccharification, cellulose digestion of enzymatic hydrolysis of pretreated (2.25%, 60°C, 1/10 solid/liq, 30 min) hazelnut shells)

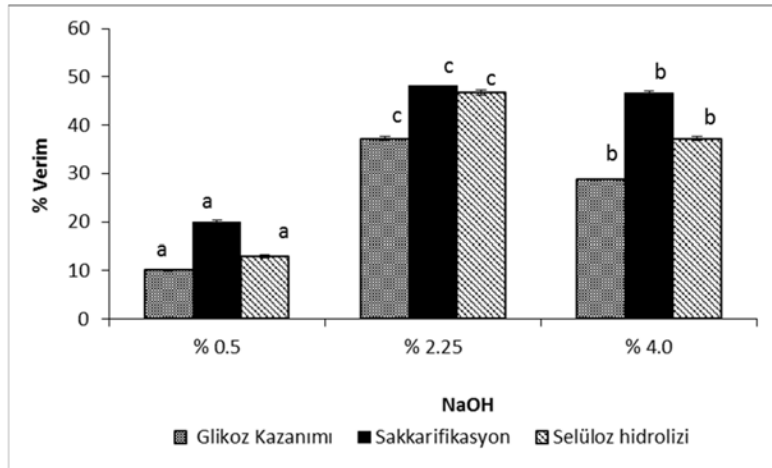


Şekil 2. Alkali çeşidinin (%2,25, 60°C, 1/10 katı/sıvı, 30 dak) ön işlem uygulanmış fındık kabuklarının kimyasal bileşimi üzerine etkisi (Effect of alkali type on the chemical composition of pretreated (2.25%, 60°C, 1/10 solid/liq, 30 min) hazelnut shells)

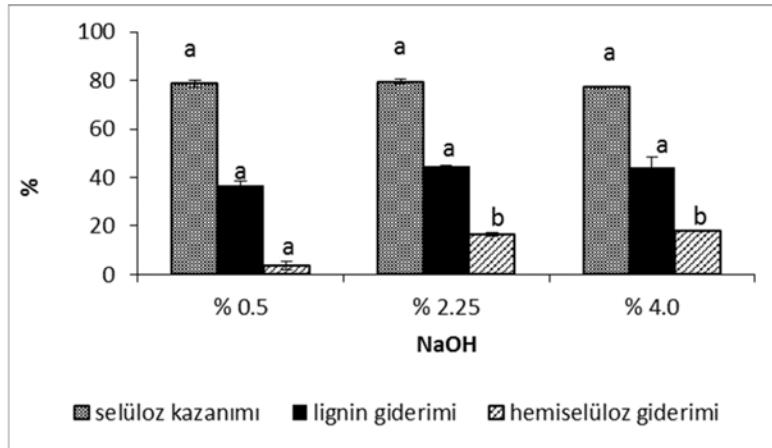
3.3. NaOH Derişiminin Fındık Kabuğunun Bileşimi ve Enzimatik Hidrolizi Üzerine Etkisi (Effect of NaOH Concentration on the Chemical Composition and the Enzymatic Hydrolysis of the Hazelnut Shells)

60°C, 1/10, 30 dak ön işlem koşullarında yapılan deneylerde, NaOH derişiminin lignin giderimi üzerine istatistiksel olarak anlamlı bir etkisinin olmadığı görülmüştür (Şekil 4). Alkali derişiminin lignin giderimini etkilememesi sıcaklığın ve zamanın etkisinden kaynaklanmaktadır. Kang ve arkadaşları kolza atıkları ile yapmış oldukları çalışmada 55°C gibi düşük sıcaklıklarda alkali derişiminin ve ön işlem süresinin etkisi olmadığını, ancak ön işlem süresinin yüksek alkali derişiminde etkili olduğunu ve düşük ön işlem süresinin enzimatik hidroliz üzerine etkin olmadığını bildirmişlerdir [33]. Alkali derişiminin lignin giderimi kadar hemiselüloz giderimi (çözünmesi/hidroliz olması) üzerine de etkili olduğu bilinmektedir [34]. Bu çalışmada, NaOH derişiminin %0,5 olduğu durumda çok düşük olan hemiselüloz

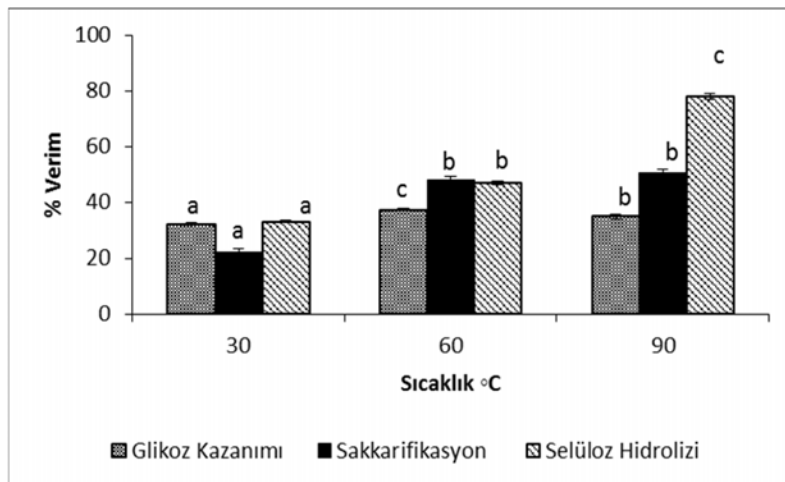
gideriminin, alkali derişiminin %2,25'e yükseltilmesiyle anlamlı bir şekilde arttığı görülmektedir (Şekil 4). Şekil 3'de 60°C'de, 1/10 katı/sıvı oranında, 30 dak şartlarında yapılan ön işlem koşullarında, NaOH derişiminin glukoz kazanımı üzerine etkisi verilmektedir. En yüksek glukoz kazanımına (%37,23) % 2,25 NaOH ile ulaşılmıştır. %0,5 NaOH ile elde edilen glukoz kazanımı ise sadece %10,12'dir. NaOH derişiminin %2,25 den %4'e artırılması ile glukoz kazanımı %28,80'e azalmıştır ($p < 0,05$). Bunun nedeninin ön işlem sırasında alkali derişiminin artması ile biyokütle gözenekliliğindeki artışın olduğu bildirilmiştir [35]. Derişimin artması ile gözeneklilik artarken aynı zamanda selülozun alkali çözelti içerisinde çözünürlüğü artmış ve bu da ön işlem sonrasında elde edilen katının selüloz içeriğini düşürmüştür. Böylece selüloz kayıpları meydana gelmiş ve toplam glukoz kazanım oranı düşmüştür. Sakkarifikasyon ve selüloz hidrolizi aynı koşullarda (60°C sıcaklık, 1/10 katı/sıvı oranında, 30 dak) NaOH derişiminin %0,5 den %2,25'e artırılması ile sırasıyla 2,5 ve 4 kat artmıştır.



Şekil 3. 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 (Effect of NaOH concentration on the glucose recovery, saccharification, cellulose digestion of enzymatic hydrolysis of pretreated (2.25%, 60°C, 1/10, 30 min) hazelnut shells)



Şekil 4. NaOH derişiminin (60°C, 1/10, 30 dak) ön işlem uygulanmış fındık kabuklarının kimyasal bileşimi üzerine etkisi (Effect of NaOH concentration on the chemical composition of pretreated (2.25%, 60°C, 1/10, 30 min) hazelnut shells).



Şekil 5. 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 (Effect of pretreatment temperature on the glucose recovery, saccharification, cellulose digestion of enzymatic hydrolysis of pretreated (2.25%, 60°C, 1/10, 30 min) hazelnut shells)

Derişimin %4 e artırılması ile sakkarifikasyon ve selüloz hidroliz verimi azalmıştır (Şekil 3). Alkali derişiminin artmasıyla lignin gideriminin artmasına rağmen katı kazanımının ve selüloz kazanımının düşmesi, yüksek derişimlerdeki hidroliz veriminin düşüşüne neden olmuştur [36, 37].

3.4. Ön İşlem Sıcaklığının Fındık Kabuğunun Bileşimi ve Enzimatik Hidrolizi Üzerine Etkisi

(Effect of Pretreatment Temperature on the Chemical Composition and the Enzymatic Hydrolysis of the Hazelnut Shells)

Sıcaklık arttıkça selüloz, lignin ve hemiselüloz çözünürlüğünün arttığı bilinmektedir [38]. %2,25 NaOH, 1/10, 30 dak ön işlem koşullarında yapılan alkali ön işlemde sıcaklığın lignin giderimine ve buna bağlı olarak selüloz kazanımına etkisi Şekil 6'da verilmiştir. Sıcaklığın artması ile selüloz kazanımı 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. Sıcaklığın artmasıyla lignin giderimi artar. Ancak yüksek sıcaklıklarda, lignin yoğunlaşma reaksiyonu lignin alt birimleri arasında karbon-karbon bağları oluşturur, buda selüloz dönüşümünü limitler. Buna ilave olarak alkali ön işlemde yüksek sıcaklıklarda karbonhidrat yapısında bulunan zincirlerin kırılması ile karbonhidrat kaybına neden olduğu bildirilmiştir [34], yani selülozun ön işlem sırasında sıcaklıkla çözünürlüğü artar. Buda toplam proseste glikoz kazanımını büyük ölçüde düşürür. Şekil 5'de sıcaklığın %2,25 NaOH ile 1/10 katı/sıvı oranında, 30 dak ön işlemin glikoz kazanımı, sakkarifikasyon ve selüloz hidrolizi üzerine etkisi verilmektedir. Sıcaklığın 30°C'den 60°C'ye artırılması ile glikoz kazanımı %15 artmıştır ($p<0,05$). 60°C'de %37,23 ile en yüksek glikoz kazanımı değerine ulaşılmıştır (Şekil 5). Sıcaklığın 90°C'ye artırılması 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 artırılması ile selüloz hidrolizi ve sakkarifikasyon yüzdelerinde anlamlı ($p<0,05$) bir artış meydana gelmiştir. Sakkarifikasyon miktarı yaklaşık olarak 2,5 kat artarken, selüloz hidrolizi %50 oranında artmıştır (Şekil 5). 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 ($p<0,05$).

3.5. Ön İşlem Zamanının Fındık Kabuğunun Bileşimi ve Enzimatik Hidrolizi Üzerine Etkisi

(Effect of Pretreatment Time on the Chemical Composition and the Enzymatic Hydrolysis of the Hazelnut Shells)

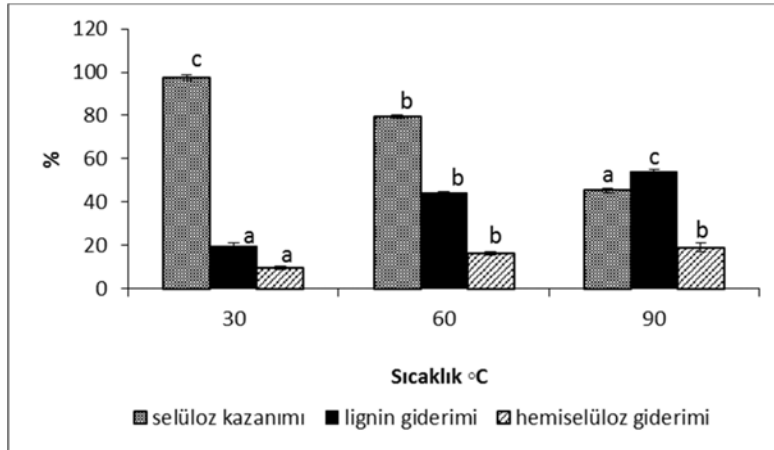
%2,25 NaOH ile 1/10 katı/sıvı oranında, 60°C 'de ön işlem uygulanan fındık kabuklarının enzimatik hidrolizi sonucunda elde edilen glikoz kazanım yüzdesi 30 dakika sonunda %37,23 iken 60 dak sonunda %40,22'ye yükselmiştir (Şekil 7). Ön işlem zamanının 60 dakikadan 120 dakikaya artması ile glikoz kazanımı tekrar düşmüştür

(%34,56). Bunun sebebi ön işlem süresinde zamanın artması ile katı kazanımının düşmesi olarak açıklanabilir. Sakkarifikasyon yüzdeleri ise zamanla doğrusal artmaktadır (Şekil 7). Ön işlem süresinin 30 dakikadan 60 dakikaya yükseltilmesi ile selüloz hidroliz verimi %46,80'den %70,27'ye anlamlı olarak ($p<0,05$) yükselmiştir. 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 artması ve selüloz yapısının bozunmasına bağlı olarak enzimin selüloza ulaşılabilirliğinin artmasıdır [39]. %2,25 NaOH, 1/10, 60°C ön işlem koşullarında zamana bağlı olarak selüloz çözünürlüğünün arttığı ($p<0,05$) görülmektedir (Şekil 8). Lignin giderimi ise ön işlem süresinin 30 dak'dan 60 dak'ya artırılması ile yaklaşık olarak %10 oranında artmış olup, 120 dak ise değişmemiştir ($p<0,05$). Glikoz kazanımının zamanla maksimum noktaya ulaşması ve daha sonra azalması daha önce Diaz ve arkadaşları tarafından rapor edilmiştir. Diaz ve arkadaşları pirinç gövdesi ile yaptıkları çalışmada, ön işlem süresini 15 dak'dan 1 saate arttırdıklarında toplam proses veriminin arttığını, ancak süreyi daha da arttırdıklarında proses veriminin azaldığını bildirmişlerdir [40].

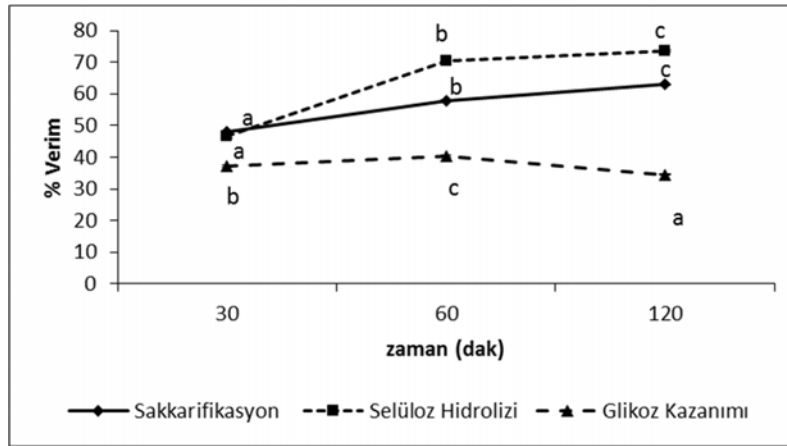
3.6. Katı/Sıvı oranının Fındık Kabuğunun Bileşimi ve Enzimatik Hidrolizi Üzerine Etkisi

(Effect of Pretreatment Solid/Liquid Ratio on the Chemical Composition and the Enzymatic Hydrolysis of the Hazelnut Shells)

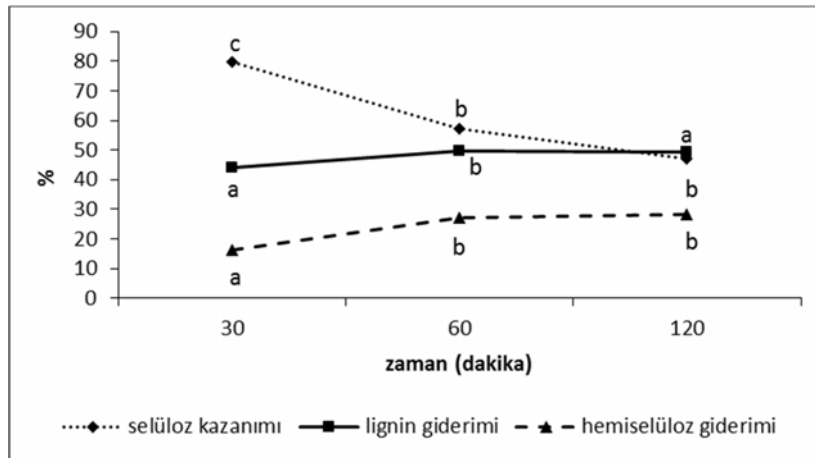
%2,25 NaOH ile 30 dakika, 60°C sıcaklıkta yapılan ön işleminde katı/sıvı oranının 1/10 dan 1/20'ye değişmesi glikoz kazanımına etkilememiştir ($p>0,05$). Ancak katı/sıvı oranının 1/40'a düşmesi ile glikoz verimi %36,36'dan %43,53'e artmıştır (Şekil 9). Şekil 9'da katı/sıvı oranının 1/10 dan 1/20 ye değiştirilmesi ile sakkarifikasyon ve selüloz hidroliz miktarında 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 9). Katı sıvı oranının azalması ile birim biyokütle başına yüklenen NaOH miktarı artmaktadır. Ayrıca ön işlem toplam çözelti miktarı artmaktadır. Buda ön işlem verimini arttırmaktadır. Rawat ve arkadaşları kavak odunları ile yaptıkları çalışmada alkali ön işlemde katı-sıvı oranını 1-4 ile 1-12 arasında değiştirmişler ve enzimatik hidroliz verimi üzerine optimum sonucu 1-8 olarak bulmuşlardır [41]. Benzer sonuçlar Velmurugan ve Muthukumar'ın Ultrasonik destekli alkali ön işlem uyguladıkları kavak atıkları ile elde edilmiştir. Velmurugan ve Muthukumar yaptıkları bir çalışmada katı/sıvı oranının optimizasyonu için seçtikleri alt ve üst limitler 1/10 ile 1/20 iken, optimum katı/sıvı oranını 1/25 olarak belirlemişlerdir. Bu sonuçlar katı sıvı oranının enzimatik hidroliz verimini arttırdığını göstermektedir [42]. Katı/sıvı oranının (%2,25 NaOH, 30 dak, 60°C) lignin giderimi üzerine anlamlı ($p>0,05$) bir etkisi olmadığı görülmektedir (Şekil 10). Ancak, selüloz kazanımı 1/20 katı/sıvı oranında en yüksek değere (%96,51) ulaşmıştır. Hemiselüloz giderimi ise birim katı başına çözelti miktarının 10'dan 20'ye artması ile %100, 40'a artmasıyla da yaklaşık %150 artmıştır.



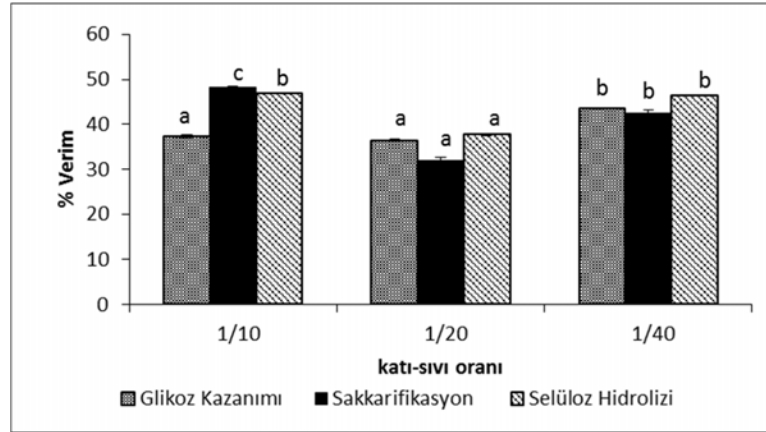
Şekil 6. NaOH ön işleminde (%2,25NaOH, 1/10, 30 dak) sıcaklığın ön işlem uygulanmış fındık kabuklarının kimyasal bileşimi üzerine etkisi (Effect of pretreatment temperature on the chemical composition of pretreated (2.25%, 60°C, 1/10, 30 min) hazelnut shells)



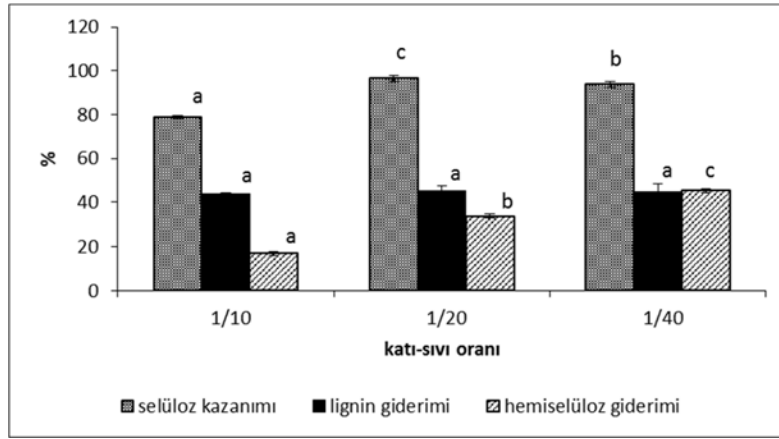
Şekil 7. NaOH ön işleminde zamanının (%2,25 NaOH, 1/10, 60°C) ön işlem uygulanmış fındık kabuklarının enzimatik hidrolizi sonucunda elde edilen glikoz kazanımı, sakkarifikasyon ve selüloz hidroliz verimi üzerine etkisi (Effect of pretreatment time on the glucose recovery, saccharification, cellulose digestion of enzymatic hydrolysis of pretreated (2.25%, 60°C, 1/10, 30 min) hazelnut shells).



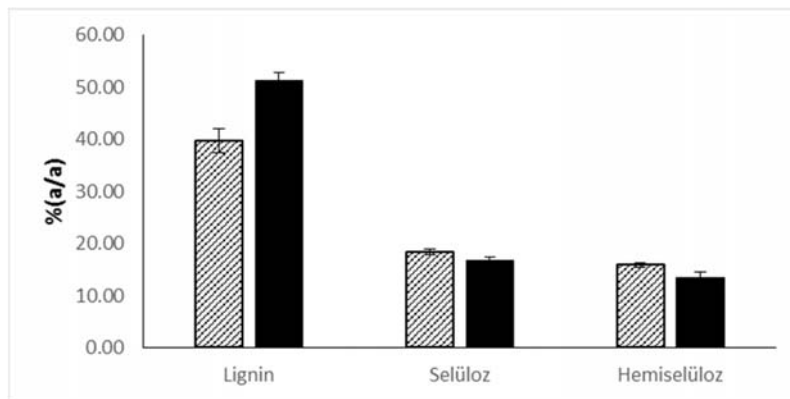
Şekil 8. NaOH ön işleminde (%2,25 NaOH, 1/10, 60°C) zamanın ön işlem uygulanmış fındık kabuklarının kimyasal bileşimi üzerine etkisi (Effect of pretreatment time on the chemical composition of pretreated (2.25%, 60°C, 1/10, 30 min) hazelnut shells).



Şekil 9. 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 (Effect of pretreatment solid/liq ratio on the glucose recovery, saccharification, cellulose digestion of enzymatic hydrolysis of pretreated (2.25%, 60°C, 1/10, 30 min) hazelnut shells)



Şekil 10. NaOH ön işleminde (%2,25NaOH, 60°C, 30 dak) katı/sıvı oranının ön işlem uygulanmış fındık kabuklarının kimyasal bileşimi üzerine etkisi (Effect of pretreatment solid/liq ratio on the chemical composition of pretreated (2.25%, 60°C, 1/10, 30 min) hazelnut shells)



Şekil 11. 60°C, 1/10 katı/sıvı, 30 dak %2,25 NaOH ön işlem uygulanmış fındık kabuklarının kimyasal bileşimi (Ön işlem uygulanmış fındık kabuğu, Ham fındık kabuğu) (Chemical composition of pretreated (60 °C, 1/10 sol/liq, 30 min 2.25% NaOH) hazelnut shells (pretreated hazelnut shells, raw hazelnut shells))

3.7. Düşük Sıcaklıklarda NaOH ile Yapılan Ön İşlem

Prosesinde Enerji Denkliği

(Energy Balance for Low Temperature NaOH Pretreatment Process)

Her bir ön işlem koşulu için harcanan toplam enerji miktarları ve elde edilen glikoz başına harcanan enerji miktarları Tablo 1'de verilmektedir. Alkali derişimi harcanan toplam enerji değişimini fazla etkilemezken elde edilen glikoz miktarı alkali derişimi ile arttığı için, birim glikoz başına harcanan enerji miktarı %2,25 NaOH derişimi için en düşüktür (60,90 kJ/g). Sıcaklık özellikle çözeltinin ısıtılması ve sabit sıcaklıkta tutulması için enerji bakımından çok önemlidir. Sıcaklıkla birlikte elde edilen glikoz miktarı artmasına rağmen harcanan enerji de artmaktadır. 30°C sıcaklık oda sıcaklığına oldukça yakın olduğu için enerji miktarı oldukça düşüktür, ancak bu ön işlem sıcaklığında elde edilen glikoz miktarı da düşüktür. Sıcaklığın 60°C'den 90°C'ye artırılması ile harcanan enerji ve birim glikoz başına düşen enerji miktarı yaklaşık olarak 2 kat artmıştır.

Ön işlem süresi çözeltinin sıcaklığının sabit tutulması için kayıp enerji miktarında etkin olmuştur, bu da sırasıyla toplam harcanan enerji ve birim glikoz başına düşen enerji miktarını arttırmıştır. Katı sıvı oranı ise birim biyokütle başına ısıtılması gereken çözelti miktarının artması sebebiyle harcanan enerji miktarı da artmıştır. Buna göre maliyet açısından en düşük enerji gereksinimi 30°C, 1/10 katı/sıvı, 30 dak % 2,25 NaOH ile uygulanan ön işlem ile sağlanabilir (10,03 kJ/g). Ko ve arkadaşları 2013 yılında bambu ile yaptıkları çalışmada asit ve alkali ön işlemleri ile elde edilen birim etanol miktarına başına harcanan enerji miktarını sırasıyla 30,01 ve 43,69 kJ/g etanol olarak bulmuşlardır [43]. Yapılan bu çalışmada alkali ön işlem sonucu harcanan enerji miktarı sıcaklık ve ön işlem süresine bağlı olarak bu değerin altında ve üstünde bulunmuştur. Vani ve arkadaşları 2012 yılında pamuk saplarına uyguladıkları alkali ön işlemin hem mikrodalga ile hemde yüksek basınç reaktörü ile uygulamalarında 1 gram biyokütleden 0,79 g glikoz elde edildiği koşulda paslanmaz çelik reaktörde 540 kJ,

mikrodalga reaktörde ise 108 kJ enerji harcamışlardır. Birim glikoz miktarı başına harcanan enerji olarak hesaplandığında ise paslanmaz çelik reaktör ve mikrodalga için sırasıyla 45,56 kJ/g 7,82 kJ/g enerji harcanmıştır [44]. Yapılan bu çalışma sonucu elde edilen değerler bizim elde etmiş olduğumuz değerlerin arasındadır. Fındık kabukların diğer biyokütlelere göre daha sert yapısının ve yüksek lignin içeriği göz önüne alınırsa bu çalışmada harcanan enerji miktarlarının uygun olduğu görülmektedir.

3.8. Düşük Sıcaklıklarda NaOH ile Yapılan Ön İşlem

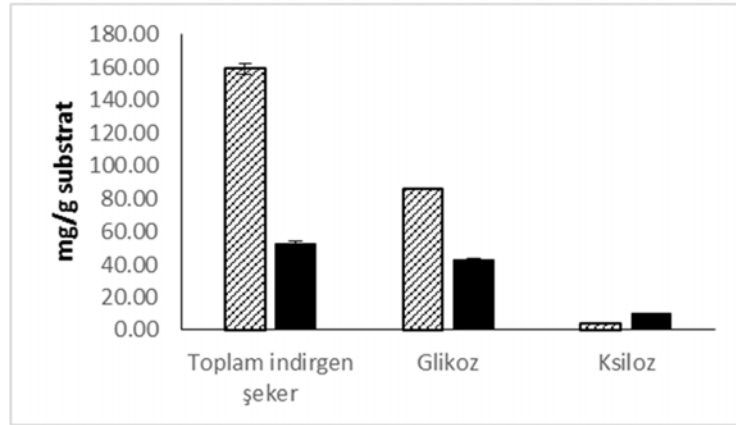
Prosesinde Kütle Denkliği

(Mass Balance for Low Temperature NaOH Pretreatment Process)

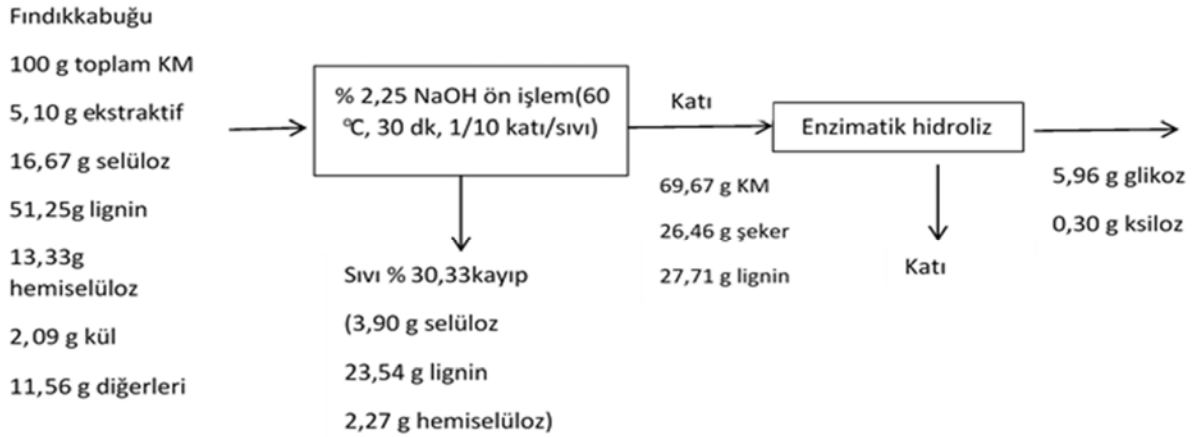
Lignin gideriminin gerçekleştirilip selülozca zengin ve enzimin selüloza kolayca ulaşabildiği gözenekli bir yapı elde etmek amacıyla uygulanan düşük sıcaklık NaOH ön işleminde 60°C, 1/40 katı/ sıvı, 30 dak ve %2,25 NaOH proses koşullarında maksimum glikoz verimi elde edilmiştir. Ancak bu koşullarda harcanan enerji miktarı katı/sıvı oranının 1/10 olduğu koşullara göre yaklaşık olarak %80 daha fazladır. Bu nedenle 60°C, 1/10 katı/ sıvı, 30 dak ve %2,25 NaOH koşulunun hem glikoz verimi hem de enerji maliyeti bakımından daha uygun olduğu 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 denkliğinin kurulmasında kullanılmıştır. 60°C, 1/10 katı/sıvı, 30 dak. ve %2,25 NaOH ön işlem şartlarında fındık kabuklarının lignin içeriği %39,77'ye azaltılırken, selüloz içeriği % 18,33'e artırılmıştır (Şekil 11). 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 159,45 mg, glikoz miktarı 85,48 mg, ksiloz miktarı ise 4,20 mg'dır (Şekil 12). 60°C, 1/40 katı/sıvı, 30 dak ve % 2,25 NaOH ön işlemi prosesinin kütle denkliği Şekil 13'de gösterilmiştir. Bu proses sonucunda 100 g fındık kabuğundan 4,96 g glikoz, 0,30 g da ksiloz elde edilmiştir.

Tablo 1 Ön işlemler için harcanan enerji miktarları (Energy requirements for pretreatments)

Parametre	Q _{ısıtma} (kJ)	Q _{kayıp} (kJ)	Q _{toplam} (kJ)	Q/glikoz (kJ/g)
NaOH (%)				
0,5	10,41	8,38	18,80	219,46
2,25	10,38	8,38	18,78	60,90
4	10,36	8,38	18,75	75,83
Sıcaklık (°C)				
30	1,48	1,20	2,68	10,03
60	10,38	8,38	18,78	60,90
90	19,29	15,57	34,87	120,30
Zaman (dak)				
30	10,38	8,38	18,78	60,90
60	10,38	16,77	27,17	81,00
120	10,38	33,54	43,94	152,49
Katı/Sıvı oranı (gram/mL)				
1/10	10,38	8,38	18,78	60,90
1/20	17,70	8,38	26,09	85,66
1/40	32,33	8,38	40,72	109,94



Şekil 12. 60°C, 1/10 katı/sıvı, 30 dak %2,25 NaOH ön işlem uygulanmış fındık kabuklarının enzimatik hidrolizi sonucunda elde edilen şeker miktarları (Ön işlem uygulanmış fındık kabuğu, Ham fındık kabuğu) (Sugar amounts obtained from enzymatic hydrolysis of pretreated (60 °C, 1/10 sol/liq, 30 min 2.25% NaOH) hazelnut shells (pretreated hazelnut shells, raw hazelnut shells))



Şekil 13. 60°C, 1/10 katı/sıvı, 30 dak ve %2,25 NaOH şartlarında işlem uygulanmış fındık kabuklarının enzimatik hidroliz sonrasındaki kütle denkliliği (Mass balance for pretreated (60°C, 1/10 sol/liq, 30 min 2.25% NaOH) hazelnut shells)

4. SONUÇLAR (CONCLUSIONS)

Bu çalışma sonucunda düşük sıcaklık ve zamanda gerçekleştirilen NaOH ön işleminin fındık kabuklarının enzimatik hidroliz verimini arttırdığı ve lignin içeriğini düşürdüğü gözlemlenmiştir. Düşük sıcaklık kısa zaman alkali ön işlemi sonucunda lignin içeriği %39,77'ye düşürülmüş ve selüloz miktarı %18,33'e arttırılmıştır (%2,25 NaOH, 60°C, 1/10 katı/sıvı, 30 dak). NaOH ön işlemi ile glikoz kazanımı %37,53 olarak elde edilmiştir. Kütle denkliliği sonucunda 100 gram fındık kabuğu başına 5,96 g glikoz ve 0,30 g ksiloz elde edilmiştir. 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 biyokütleler için farklı araştırmacılar tarafından da elde

edilmiştir. Kavak atıkları ile yapılan bir çalışmada [41] 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 [45] ve pirinç atıkları [46] ile yapılmış olan çalışmalarda, optimum ön işlem koşulları sırasıyla %2 NaOH, 80°C, 6 saat ve %2 NaOH, 85°C, 1 saat olarak belirlenmiştir. Alkali ön işlem, glikoz kazanımı ve enzimatik hidroliz verimini tatlı sorgum [47], ayçiçek sapı [48] pirinç sapı [49], pamuk sapı [35] gibi birçok biyokütle için arttırmıştır. Yüksek lignin içerikli fındık kabuklarının enzimatik hidroliz verimi düşük sıcaklık kısa zaman NaOH ön işlemi ile arttırılmıştır

5. SEMBOLLER (SYMBOLS)

NaOH	: Sodyum Hidroksit
Ca(OH) ₂	: Kalsiyum Hidroksit
CaCO ₃	: Kalsiyum Karbonat
FPU	: Filtre Kağıdı Birimi

CBU	: Sellobiyoz Birimi
H ₂ SO ₄	: Sülfürik Asit
DNS	: Dinitro Salisik Asit
YBSK	: Yüksek Basınç Sıvı Kromatografisi
ΔE	: Sistemin İç Enerji Değişimi, KJ
Q	: Sisteme Verilen yada Sistemden Alınan Enerji, KJ
W	: İş, KJ
M	: Kütle, kg
T	: Sıcaklık, °C
C _p	: Isı Kapasitesi, KJ/kg °C
U	: Tüm Isı Transfer Katsayısı, KJ/m ² °C
A	: Alan, m ²
R	: Reaktör Yarıçapı, m
K	: Termal İletkenlik, W/ m °C
H	: Isı Transfer Sabiti, W/ m ² °C

TEŞEKKÜR (ACKNOWLEDGEMENT)

Bu çalışma Anadolu Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu tarafından kabul edilen 1203F050 nolu proje kapsamında desteklenmiştir

KAYNAKLAR (REFERENCES)

- Özçifçi A., Özbay G., Bio-Oil Production From Catalytic Pyrolysis Method of Furniture Industry Sawdust, Journal of the Faculty of Engineering and Architecture of Gazi University, 28 (3), 473-479, 2013.
- Sezer İ., Therotical investigation of the effects of diesel fuel, biodiesel fuel and their blends on internal combustion engines, Journal of the Faculty of Engineering and Architecture of Gazi University 31 (4), 799-812, 2016.
- Alvira P., Tomás-Pejó E., Ballesteros M., Negro M.J., Pretreatment technologies for an efficient bioethanol production process based on enzymatic hydrolysis: a review, Bioresour. Technol., 101 (13), 4851-4861, 2010.
- Wyman C.E. ve Yang B., Cellulose biomass could help meet California's transportation fuel needs, California Agriculture, 63 (4), 185-190, 2009.
- Ravindran R., Jaiswal, A.K., A comprehensive review on pre-treatment strategy for lignocellulosic food industry waste: challenges and opportunities. Bioresour. Technol., 199, 92-102, 2016.
- Hendriks A.T.W.M. ve Zeeman G., Pretreatments to enhance the digestibility of lignocellulosic biomass, Bioresour. Technol., 100 (1), 10-18, 2009.
- Gupta R., ve Lee Y.Y., Pretreatment of corn stover and hybrid poplar by sodium hydroxide and hydrogen peroxide, Biotechnology Progress, 26 (4), 1180-1186, 2010.
- Xu J., Cheng J.J., Sharma-Shivappa R.R., Burns J.C., Sodium hydroxide pretreatment of switchgrass for ethanol production, Energy Fuels, 24, 2113- 2119, 2010.
- Vancov T. ve McIntosh S., Alkali pretreatment of cereal crop residues for second-generation biofuels, Energy Fuels, 25 (7), 2754-2763, 2011.
- Ceylan İ. ve Aktaş M., Hazelnut Drying in a Dryer Assisted Heat Pump, Journal of the Faculty of Engineering and Architecture of Gazi University, 23 (1), 215-222, 2008.
- Hoşgün E.Z., Berikten D., Kıvanç M., Bozan B., Ethanol production from hazelnut shells through enzymatic saccharification and fermentation by low-temperature alkali pretreatment, Fuel, 196, 280-287, 2017.
- Doğan M., Abak H., Alkan M., Adsorption of methylene blue on to hazelnut shell: Kinetics, mechanism and activation parameters, J.Hazard. Mater., 164, 172-181, 2009.
- Kaya N., Yücel A.T., Konkan A., Mocur D., Gültekin, M. Removal of Disperse Azo Dyes from Aqueous Solutions by Using Walnut Shell and Hazelnut Shell, Journal of the Faculty of Engineering and Architecture of Gazi University, 26 (3), 509-514, 2011.
- Demirbas O., Karadag A., Alkan M., Dogan M., Removal of copper ions from aqueous solutions by hazelnut shell, J.Hazard. Mater., 153, 677-684, 2008.
- Midilli A., Dogru M., Howarth C.R., Ayhan T., Hydrogen production from hazelnut shell by applying air-blown downdraft gasification technique, Int. J. Hydrogen Energy, 26, 29-37, 2001.
- Cağlar A. ve Aydınli B., Isothermal co-pyrolysis of hazelnut shell and ultra-high molecular weight polyethylene: The effect of temperature and composition on the amount of pyrolysis products, J. Anal. Appl. Pyrolysis, 86, 304-309, 2009.
- Mutlu S.F., Determination of the Optimum Conditions with Statistical Method for the Production of Furfural From Hazelnut Shells with Using Two Step Reactions and Liquid Extraction Method, Journal of the Faculty of Engineering and Architecture of Gazi University, 25 (1), 2010.
- Arslan Y., Saraçoğlu N.E., Effects of pretreatment methods for hazelnut shell hydrolysate fermentation with Pichia Stipitisto ethanol, Bioresour. Technol., 101, 8664-8670, 2010.
- Arslan Y., Takac S., Saracoglu N.E., Kinetic study of hemicellulosic sugar production from hazelnut shells, Chem. Eng. J., 185- 186, 23- 28, 2012.
- Hosgun E.Z., Bozan B., Effect of Temperature and Time on the Steam Pretreatment of Hazelnut Shells for the Enzymatic Saccharification, Chem. Eng. Transactions, 37, 379-384, 2014.
- Sluiter A, Hames B, Ruiz R, Scarlata C, Sluiter J, Templeton D, Crocker D., Determination of structural carbohydrates and lignin in biomass, Laboratory Analytical Procedures (LAPs). Golden, CO: National Renewable Energy Laboratory, 2008.
- Miller G.L., Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar, Anal. Chem., 31, 426-428, 1959.

23. Mafe O.A., Davies S.M., Hancock J., Du C., Development of an estimation model for the evaluation of the energy requirement of dilute acid pretreatments of biomass, *Biomass Bioenergy*, 72, 28-38, 2015.
24. McCabe W.L., Smith J.C., Harriott P., *Unit Operations of Chemical Engineering*, New York: McGraw-Hill, 1993.
25. White J.E., Catallo W.J., Legendre B.L., Biomass pyrolysis kinetics: a comparative critical review with relevant agricultural residue case studies, *J. Anal. Appl. Pyrolysis*, 91 (1), 1-33, 2011.
26. Demirbaş A., Akdeniz F., Erdogan Y., Pamuk V., Kinetics for fast pyrolysis of hazelnut shell, *Fuel Sci. Technol. Int.*, 14 (3), 405-415, 1996.
27. Caballero J.A., Conesa J.A., Font R., Marcilla A., Pyrolysis kinetics of almond Shells and olive Stones considering the inorganic fractions, *J. Anal. Appl. Pyrolysis*, 42 (2), 159-175, 1997.
28. Antal M.J., Allen S.G., Dai X., Shimizu B., Tam M.S., Grønli M., Attainment of the theoretical yield of carbon from biomass, *Ind. Eng. Chem. Res.*, 39 (11), 4024-4031, 2000.
29. Gonzalez J.F., Ramiro A., González-García C. M., Gañán J., Encinar J.M., Sabio E., Rubiales J., Pyrolysis of almond shells. Energy applications of fractions, *Ind. Eng. Chem. Res.*, 44(9), 3003-3012, 2005.
30. Bhushan B., *Agricultural residues and their utilization in some countries of South and South East Asia, Residue utilization, management of agricultural and agro-industrial residues*, Rome, January 18-21, 1977. Vol. 1. Papers and documents. 2. Presentations by participants, UNEP/FAO, 255-314, 1978.
31. Bonelli P.R., DellaRocca P.A., Cerrella E.G., Cukierman A.L., Effect of pyrolysis temperature on composition, surface properties and thermal degradation rates of Brazil Nutshells, *Bioresour. Technol.*, 76 (1), 15-22, 2001.
32. Cheng Y.S., Zheng Y., Yu C.W., Dooley T.M., Jenkins B.M., VanderGheynst J.S., Evaluation of high solids alkaline pretreatment of rice straw, *Appl. Biochem. Biotechnol.*, 162 (6), 1768-1784, 2010.
33. Kang K.E., Jeong G.T., Park D.H., Pretreatment of rapeseed straw by sodium hydroxide, *Bioprocess. Biosyst. Eng.*, 35 (5), 705-713, 2012.
34. Chen Y., Stevens M.A., Zhu Y., Holmes J., Xu H., Understanding of alkaline pretreatment parameters for corn stover enzymatic saccharification, *Biotechnol. Biofuels*, 6 (1), 1, 2013.
35. 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*, 92 (1), 340-345, 2012.
36. Wang Z., Keshwani D.R., Redding A.P., Cheng J.J., Sodium hydroxide pretreatment and enzymatic hydrolysis of coastal Bermuda grass, *Bioresour. Technol.*, 101 (10), 3583-3585, 2010.
37. Han L., Feng J., Zhang S., Ma Z., Wang Y., Zhang X., Alkali pretreated of wheat straw and its enzymatic hydrolysis, *Braz. J. Microbiology*, 43(1), 53-61, 2012.
38. Zhu Z., Zhu M., Wu Z., Pretreatment of sugarcane bagasse with $\text{NH}_4\text{OH-H}_2\text{O}_2$ and ionic liquid for efficient hydrolysis and bioethanol production, *Bioresour. Technol.*, 119, 199-207, 2012.
39. Sahare P., Singh R., Laxman R.S., Rao M., Effect of alkali pretreatment on the structural properties and enzymatic hydrolysis of corn cob, *Appl. Biochem. Biotechnol.*, 168 (7), 1806-1819, 2012.
40. Diaz A., Le Toullec J., Blandino A., De Ory I., Caro I., Pretreatment of rice hulls with alkaline peroxide to enhance enzyme hydrolysis for ethanol production, *Chem. Eng. Trans*, 32, 949-954, 2013.
41. Rawat R., Kumbhar B.K., Tewari L., Optimization of alkali pretreatment for bioconversion of poplar (*Populus deltoides*) biomass into fermentable sugars using response surface methodology, *Ind. Crops Prod.*, 44, 220-226, 2013.
42. Velmurugan R., Muthukumar K., Ultrasound-assisted alkaline pretreatment of sugarcane bagasse for fermentable sugar production: optimization through response surface methodology, *Bioresour. Technol.*, 112, 293-299, 2012.
43. Ko C.H., Wang Y.N., Chang F.C., Lee C.Y., Chen W.H., Hwang W.S., Energy Analysis of Bioethanols Produced from *Dendrocalamus latiflorus*, *Chemical Eng Transactions*, 34, 109-114, 2013.
44. Vani S., Binod P., Kuttiraja M., Sindhu R., Sandhya S.V., Preeti V.E., Pandey A., 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, *Bioresour. Technol.*, 112, 300-307, 2012.
45. Carrillo F., Lis M.J., Colom X., López-Mesas M., Valdeperas J., Effect of alkali pretreatment on cellulase hydrolysis of wheat straw: Kinetic study, *Process biochem*, 40 (10), 3360-3364, 2005.
46. Jeya M., Zhang Y.W., Kim I.W., Lee J.K., Enhanced saccharification of alkali-treated rice straw by cellulase from *Trametes hirsuta* and statistical optimization of hydrolysis conditions by RSM, *Bioresour. Technol.*, 100 (21), 5155-5161, 2009.
47. Li P., Cai D., Zhang C., Li S., Qin P., Chen C., Wang Z., Comparison of two-stage acid-alkali and alkali-acid pretreatments on enzymatic saccharification ability of the sweet sorghum fiber and their physicochemical characterizations. *Bioresour. Technol.*, 221, 636-644, 2016.
48. Sharma S.K., Kalra K.L., Grewal H.S., Enzymatic saccharification of pretreated sunflower stalks, *Biomass Bioenergy*, 23, 237-243, 2002.
49. Sun S., Chen W., Tang J., Wang B., Cao X., Sun S., Sun R.C. Synergetic effect of dilute acid and alkali treatments on fractional application of rice straw. *Biotechnol. Biofuels*, 9 (1), 217, 2016.