

ANKARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

SELÜLOZİK ETANOL ÜRETİMİNE ORGANİK ASİT ÖN İŞLEMİNİN
ETKİSİ

GİZEM BARIŞIK

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

ANKARA

2019

Her hakkı saklıdır

TEZ ONAYI

Gizem BARIŞIK tarafından hazırlanan ‘Selülozik Etanol Üretimine Organik Asit Ön İşleminin Etkisi’ adlı tez çalışması 11/07/2019 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği/~~çokluğu~~ ile Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı’nda YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Danışman : Doç. Dr. Aslı İŐİŐİ YAKAN
Ankara Üniversitesi / Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı



Jüri Üyeleri :

Başkan : Prof. Dr. Behiç MERT
ODTÜ / Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı



Üye : Doç. Dr. Özge ŞAKIYAN DEMİRKOL
Ankara Üniversitesi / Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı



Üye : Doç. Dr. Aslı İŐİŐİ YAKAN
Ankara Üniversitesi / Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı



Yukarıdaki sonucu onaylarım.

Prof. Dr. Özlem YILDIRIM
Enstitü Müdür Vekili

ETİK

Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez içindeki bütün bilgilerin doğru ve tam olduğunu, bilgilerin üretilmesi aşamasında bilimsel etiğe uygun davrandığımı, yararlandığım bütün kaynakları atıf yaparak belirttiğimi beyan ederim.

11/07/2019



Gizem BARIŞIK

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

SELÜLOZİK ETANOL ÜRETİMİNE ORGANİK ASİT ÖN İŞLEMİNİN ETKİSİ

Gizem BARIŞIK

Ankara Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Aslı İŞÇİ YAKAN

Bu çalışmada buğday samanından biyoetanol elde edilmesi için 3 farklı organik asitle (maleik, süksinik, okzalik asit) ön-işlem gerçekleştirilmiş ve bu organik asitlerin saman kompozisyonu, enzimatik hidroliz ve etanol verimliliği üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Ön işlem sıcaklığı (170, 190, 210 °C), asit konsantrasyonu (%1, %3, %5) ve ön-işlem süresi (10, 20, 30 dakika), glikoz ve ksiloz verimlilikleri dikkate alınarak yanıt yüzey yöntemiyle (RSM) optimize edilmiştir. Sonuç olarak örneklerdeki ksilanın ön-işlem boyunca sıvı fazda çözündüğü ve bu durumun örneklerdeki selüloz ve lignin içeriğinde artışa neden olduğu gözlemlenmiştir. Maleik ve okzalik asitin yüksek miktarda şeker verimi (>%90) eldesi sağladığı, ancak süksinik asitin daha az etkili olduğu tespit edilmiştir. Optimizasyon sonuçları incelendiğinde maleik asit için optimum koşullar, 210 °C sıcaklık, %1,08 maleik asit konsantrasyonu ve 19,8 dakika ön-işlem süresi; süksinik asit için optimum koşullar, 210 °C sıcaklık, %5 süksinik asit konsantrasyonu ve 30 dakika ön-işlem süresi; okzalik asit için optimum koşullar ise, 210 °C sıcaklık, %3,6 okzalik asit konsantrasyonu ve 16,3 dakika ön-işlem süresidir. Bu optimum koşullarda gerçekleştirilen fermentasyon deneylerinden elde edilen etanol verimleri ise maleik, süksinik ve okzalik asit için sırasıyla %80, %59 ve %79 olarak tespit edilmiştir.

Temmuz 2019, 102 sayfa

Anahtar kelimeler: Organik asit, biyoetanol, buğday samanı, ön işlem, eşzamanlı sakkarifikasyon ve fermentasyon

ABSTRACT

Master Thesis

EFFECT OF ORGANIC ACID PRETREATMENT ON CELLULOSIC ETHANOL PRODUCTION

Gizem BARIŞIK

Ankara University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Food Engineering

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Aslı İŞÇİ YAKAN

In this study, pretreatment with 3 different organic acids (maleic, succinic and oxalic acid) was applied for producing bioethanol from wheat straw and the effects of this organic acids on the composition of wheat straw, enzymatic hydrolysis and fermentation yields were investigated. It was also aimed to optimize pretreatment temperature (170, 190, 210°C), acid concentration (1%, 3%, 5%) and pretreatment time (10, 20, 30 min) by using response surface methodology (RSM) to maximize glucose and xylose yields. It was found that xylan solubilizes during pretreatment. Therefore, an increase in the lignin and cellulose content of the pretreated samples were observed. Maleic and oxalic acids were much more effective on obtaining high sugar yields (>90%) from wheat straw than succinic acid. The optimum process conditions for maleic acid were, 210 °C, 1.08% acid concentration and 19.8 min; for succinic acid 210 °C, 5% acid concentration and 30 min; for oxalic acid 210 °C, 3.6% acid concentration and 16.3 min. The ethanol yields obtained at optimum conditions were 80%, 59% and 79% for maleic, succinic and oxalic acid pretreatments, respectively.

July 2019, 102 pages

Key Words: Organic acid, bioethanol, wheat straw, pretreatment, simultaneous saccharification and fermentation

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans çalışmalarım boyunca bilgi ve deneyimleriyle her zaman yanımda olan, öneri ve yardımlarını benimle paylaşan değerli danışmanım Doç. Dr. Aslı İŞÇİ YAKAN'a (Ankara Üniversitesi Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Öğretim Üyesi), tez çalışmalarım sırasında önemli katkıları olan değerli hocam Doç. Dr. Özge ŞAKIYAN DEMİRKOL'a (Ankara Üniversitesi Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Öğretim Üyesi), laboratuvar imkanlarını kullanabilmemi sağlayan Prof. Dr. Sedat DÖNMEZ ve Prof. Dr. Filiz ÖZÇELİK'e (Ankara Üniversitesi Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Öğretim Üyesi), laboratuvar çalışmalarımda deneyimleriyle yardımlarını esirgemeyen Arş. Gör. Dr. Simel BAĞDER ELMACI ve Arş. Gör. Naciye KUTLU'ya (Ankara Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü), desteklerini esirgemeyen arkadaşlarıma özellikle Özge TURHAN ve Dr.Yaşar Özlem ALİFAKI'ya, her zaman yanımda olan annem Şayeste BARIŞIK, babam Hürol BARIŞIK, kardeşim Mehmet Mert BARIŞIK'a ve son olarak yüksek lisans yapmam konusunda beni teşvik eden desteğini ve bana olan güvenini her daim hissettiren sevgili eşim Miraç Barış ERZİNCAN'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bu yüksek lisans tezi 'ALTERNATİF BİYO-YAKIT OLARAK LİGNO-SELÜLOZİK ETANOL ÜRETİMİ İÇİN ORGANİK ASİTLER İLE ÖN-İŞLEME YÖNTEMİ' konulu ve 12B4343007 proje numaralı Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Müdürlüğü'nce desteklenen proje kapsamında yürütülmüştür.

Gizem BARIŞIK
Ankara, Temmuz 2019

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI	
ETİK.....	i
ÖZET.....	ii
ABSTRACT	iii
TEŞEKKÜR	iv
İÇİNDEKİLER	v
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ	viii
ÇİZELGELER DİZİNİ	xi
1. GİRİŞ	1
2. KURAMSAL TEMELLER ve KAYNAK ÖZETLERİ	3
2.1 Lignoselülozik Materyaller	3
2.1.1 Selüloz	4
2.1.2 Hemiselüloz	5
2.1.3 Lignin	7
2.2 Buğday Samanı.....	9
2.3 Biyoetanol Üretim Aşamaları.....	10
2.3.1 Ön işlem metotları.....	13
2.3.1.1 Fiziksel ön işlem	14
2.3.1.2 Fizikokimyasal ön işlem.....	14
2.3.1.3 Biyolojik yöntemler	15
2.3.1.4 Kimyasal ön işlem	15
2.3.1.4.1 Alkali ön işlem	15
2.3.1.4.2 Asit ile ön işlem.....	16
2.4 Organik Asitler.....	16
2.4.1 Organik asit ile ön işlem	17
2.5 Kaynak Özetleri	18
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	23
3.1 Materyal	23
3.2 Yöntem	23
3.2.1 Ön işlem	23
3.2.2 Enzimatik hidroliz.....	24
3.2.3 Ön işlem parametrelerinin optimizasyonu	25
3.2.4 Fermentasyon	27
3.2.5 Analizler	27
3.2.5.1 Ön işlem sonrası biyokütlede kompozisyon analizi	27
3.2.5.2 HPLC analizleri.....	28
3.2.5.3 Fermentasyon sonrası gaz kromatografisinde etanol analizi.....	29
3.2.6 İstatistiksel analiz	29
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	30
4.1 Maleik Asit Ön İşlemi	30
4.1.1 Maleik asit ön işleminin samanın kompozisyonu üzerine etkisi	30
4.1.2 Maleik asit ön işleminin samanın enzimatik hidrolizi aşamasındaki glikoz ve ksiloz verimlilikleri üzerine etkisi	37
4.1.3 Maleik asit ön işleminde proses koşullarının optimizasyonu ve fermentasyon aşaması.....	43

4.1.4 Süksinik asit ön işleminin samanın kompozisyonu üzerine etkisi	44
4.1.5 Süksinik asit ön işleminin samanın enzimatik hidrolizi aşamasındaki glikoz ve ksiloz verimlilikleri üzerine etkisi.....	52
4.1.6 Süksinik asit ön işleminde proses koşullarının optimizasyonu ve fermantasyon aşaması	57
4.2 Okzalik Asit Ön İşlemi	58
4.2.1 Okzalik asit ön işleminin samanın kompozisyonu üzerine etkisi	58
4.2.2 Okzalik asit ön işleminin samanın enzimatik hidrolizi aşamasındaki glikoz ve ksiloz verimlilikleri üzerine etkisi	66
4.2.3 Okzalik asit ön işleminde proses koşullarının optimizasyonu ve fermantasyon aşaması.....	72
5. SONUÇ	74
KAYNAKLAR	76
EKLER.....	85
EK 1 Maleik Asit İçin İstatiksel Analiz.....	86
EK 2 Süksinik Asit İçin İstatiksel Analiz.....	91
EK 3 Okzalik Asit İçin İstatiksel Analiz	96
ÖZGEÇMİŞ.....	101

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

°C	Santigrat derece
µL	Mikrolitre
µm	Mikrometre
dak	Dakika
g	Gram
h	Saat
Ka	Asitlik sabiti
L	Litre
mL	Mililitre
mM	Milimolar
mmol	Milimol
MPa	Megapaskal
pH	Hidrojen kuvveti
Psi	Basınç birimi (inç ² 'ye pound cinsinden uygulanan kuvvet)
Rpm	Dakikadaki devir sayısı
v/v	Hacimce
w/w	Ağırlıkça yüzde
β	Beta

Kısaltmalar

ABD	Amerika Birleşik Devletleri
AFEX	Amonyak Lif Patlaması
C ₂ H ₂ O ₄	Okzalik asit
C ₂ H ₅ OH	Etanol
C ₄ H ₄ O ₄	Maleik Asit
C ₄ H ₆ O ₄	Süksinik asit
C ₆ H ₁₂ O ₆	Glikoz
CO ₂	Karbondioksit
-COOH	Karboksil grubu
FPU	Filter paper unit, filtre kağıdı aktivitesi
H ₂ SO ₄	Sülfürik asit
H ₃ O	Hidronyum
HCl	Hidroklorik asit
HMF	5-hidroksimetil-furfural
HPLC	Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi
NaOH	Sodyum hidroksit
RSM	Yanıt yüzey metodu
SHF	Şeker standartları
SRS	Ayrı hidroliz ve fermantasyon
SSF	Eşzamanlı sakkarifikasyon ve fermantasyon
TÜİK	Türkiye İstatistik Kurumu

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1 Bitki hücre duvarlarının temel yapısal bileşenleri (Sorek, 2014)	3
Şekil 2.2 Selülozun yapısı (Anonymous 2019).....	5
Şekil 2.3 Hemiselülozun monomer yapıları (Stöcker 2008).....	6
Şekil 2.4 Buğday samanı lignininin deneysel yapısı (Sun vd. 1997).....	7
Şekil 2.5 Ligninde üç fenilpropan monomerinin yapısı (Boerjan vd. 2003)	8
Şekil 2.6 Biyoetanol üretim prosesi (Anonim 2017)	10
Şekil 2.7 Ön işlemin biyokütle üzerine etkisinin şematik olarak gösterimi (Hsu vd. 1980).....	11
Şekil 2.8 Ön işlem yöntemleri (Talebnia vd. 2010).	13
Şekil 3.1 Parr reaktörü (Model 4525, Parr, ABD)	24
Şekil 4.1 Farklı ön işlem koşullarında maleik asitle işlenmiş saman örneklerinin kompozisyonu.....	31
Şekil 4.2 Farklı ön işlem koşullarında maleik asitle işlenmiş saman örneklerinin selüloz ve lignin içeriklerinin (%) örnekteki ksilan miktarı (%) ile değişimi.....	31
Şekil 4.3 Farklı maleik asit konsantrasyonu (%) ve sıcaklık (°C) değerlerinin samanın selüloz içeriğine (g selüloz/g kuru saman) etkisi.....	33
Şekil 4.4 Farklı ön işlem süresi (dak) ve sıcaklık (°C) değerlerinin samanın selüloz içeriğine (g selüloz/g kuru saman) etkisi	33
Şekil 4.5 Farklı ön işlem süresi (dak) ve maleik asit konsantrasyonu (%) değerlerinin samanın selüloz içeriğine (g selüloz/g kuru saman) etkisi	34
Şekil 4.6 Farklı maleik asit konsantrasyonu (%) ve sıcaklık (°C) değerlerinin samanın ksilan içeriğine (g ksilan/g kuru saman) etkisi	34
Şekil 4.7 Farklı ön işlem süresi (dak) ve sıcaklık (°C) değerlerinin samanın ksilan içeriğine (g ksilan/g kuru saman) etkisi.....	35
Şekil 4.8 Farklı ön işlem süresi (dak) ve maleik asit konsantrasyonu (%) değerlerinin samanın ksilan içeriğine (g ksilan/g kuru saman) etkisi	35
Şekil 4.9 Farklı maleik asit konsantrasyonu (%) ve sıcaklık (°C) değerlerinin samanın lignin içeriğine (g lignin/g kuru saman) etkisi.....	36
Şekil 4.10 Farklı ön işlem süresi (dak) ve sıcaklık (°C) değerlerinin samanın lignin içeriğine (g lignin/g kuru saman) etkisi	36
Şekil 4.11 Farklı ön işlem süresi (dak) ve maleik asit konsantrasyonu (%) değerlerinin samanın lignin içeriğine (g lignin/g kuru saman) etkisi	37
Şekil 4.12 Farklı maleik asit konsantrasyonu (%) ve sıcaklık (°C) değerlerinin glikoz verimine (g/g) etkisi.....	39
Şekil 4.13 Farklı ön işlem süresi (dak) ve sıcaklık (°C) değerlerinin glikoz verimine(g/g) etkisi.....	39
Şekil 4.14 Farklı ön işlem süresi (dak) ve maleik asit konsantrasyonu (%) değerlerinin glikoz verimine (g/g) etkisi.....	40
Şekil 4.15 Farklı maleik asit konsantrasyonu (%) ve sıcaklık (°C) değerlerinin ksiloz verimine (g/g) etkisi.....	41
Şekil 4.16 Farklı ön işlem süresi (dak) ve sıcaklık (°C) değerlerinin ksiloz verimine (g/g) etkisi.....	41
Şekil 4.17 Farklı ön işlem süresi (dak) ve maleik asit konsantrasyonu (%) değerlerinin ksiloz verimine (g/g) etkisi	42
Şekil 4.18 Optimum koşullarda maleik asitle işlenmiş samandan üretilen etanol miktarının (g/L) fermantasyon süresi boyunca değişimi	43

Şekil 4.19 Farklı ön-işlem koşullarında süksinik asitle işlenmiş saman örneklerinin kompozisyonu.....	45
Şekil 4.20 Farklı ön-işlem koşullarında süksinik asitle işlenmiş saman örneklerinin selüloz ve lignin içeriklerinin (%), örnekteki ksilan miktarı (%) ile değişimi	46
Şekil 4.21 Farklı süksinik asit konsantrasyonu (%) ve sıcaklık (°C) değerlerinin samanın selüloz içeriğine (g selüloz/g kuru saman) etkisi.....	47
Şekil 4.22 Farklı ön işlem süresi (dak) ve sıcaklık (°C) değerlerinin samanın selüloz içeriğine (g selüloz/g kuru saman) etkisi	47
Şekil 4.23 Farklı ön işlem süresi (dak) ve süksinik asit konsantrasyonu (%) değerlerinin samanın selüloz içeriğine (g selüloz/g kuru saman) etkisi	48
Şekil 4.24 Farklı süksinik asit konsantrasyonu (%) ve sıcaklık (°C) değerlerinin samanın ksilan içeriğine (g ksilan/g kuru saman) etkisi	49
Şekil 4.25 Farklı ön işlem süresi (dak) ve sıcaklık (°C) değerlerinin samanın ksilan içeriğine (g ksilan/g kuru saman) etkisi.....	49
Şekil 4.26 Farklı ön işlem süresi (dak) ve süksinik asit konsantrasyonu (%) değerlerinin samanın ksilan içeriğine (g ksilan/g kuru saman) etkisi	50
Şekil 4.27 Farklı süksinik asit konsantrasyonu (%) ve sıcaklık (°C) değerlerinin samanın lignin içeriğine (g lignin/g kuru saman) etkisi.....	50
Şekil 4.28 Farklı ön işlem süresi (dak) ve sıcaklık (°C) değerlerinin samanın lignin içeriğine (g lignin/g kuru saman) etkisi	51
Şekil 4.29 Farklı ön işlem süresi (dak) ve süksinik asit konsantrasyonu (%) değerlerinin samanın lignin içeriğine (g lignin/g kuru saman) etkisi	51
Şekil 4.30 Farklı süksinik asit konsantrasyonu (%) ve sıcaklık (°C) değerlerinin glikoz verimine (g/g) etkisi.....	53
Şekil 4.31 Farklı ön işlem süresi (dak) ve sıcaklık (°C) değerlerinin glikoz verimine (g/g) etkisi.....	54
Şekil 4.32 Farklı ön işlem süresi (dak) ve süksinik asit konsantrasyonu (%) değerlerinin glikoz verimine (g/g) etkisi.....	54
Şekil 4.33 Farklı süksinik asit konsantrasyonu (%) ve sıcaklık (°C) değerlerinin ksiloz verimine (g/g) etkisi.....	55
Şekil 4.34 Farklı ön işlem süresi (dak) ve sıcaklık (°C) değerlerinin ksiloz verimine (g/g) etkisi.....	56
Şekil 4.35 Farklı ön işlem süresi (dak) ve süksinik asit konsantrasyonu (%) değerlerinin ksiloz verimine (g/g) etkisi	56
Şekil 4.36 Optimum koşullarda süksinik asitle işlenmiş samandan üretilen etanol miktarının (g/L) fermantasyon süresi boyunca değişimi	58
Şekil 4.37 Farklı ön-işlem koşullarında okzalik asitle işlenmiş saman örneklerinin kompozisyonu.....	59
Şekil 4.38 Farklı ön-işlem koşullarında okzalik asitle işlenmiş saman örneklerinin selüloz ve lignin içeriklerinin (%), örnekteki ksilan miktarı (%) ile değişimi	60
Şekil 4.39 Farklı okzalik asit konsantrasyonu (%) ve sıcaklık (°C) değerlerinin samanın selüloz içeriğine (g selüloz/g kuru saman) etkisi.....	61
Şekil 4.40 Farklı ön işlem süresi (dak) ve sıcaklık (°C) değerlerinin samanın selüloz içeriğine (g selüloz/g kuru saman) etkisi	61
Şekil 4.41 Farklı ön işlem süresi (dak) ve okzalik asit konsantrasyonu (%) değerlerinin samanın selüloz içeriğine (g selüloz/g kuru saman) etkisi	62
Şekil 4.42 Farklı okzalik asit konsantrasyonu (%) ve sıcaklık (°C) değerlerinin samanın ksilan içeriğine (g ksilan/g kuru saman) etkisi	62

Şekil 4.43 Farklı ön işlem süresi (dak) ve sıcaklık (°C) değerlerinin samanın ksilan içeriğine (g ksilan/g kuru saman) etkisi.....	63
Şekil 4.44 Farklı ön işlem süresi (dak) ve okzalik asit konsantrasyonu (%) değerlerinin samanın ksilan içeriğine (g ksilan/g kuru saman) etkisi.....	64
Şekil 4.45 Farklı okzalik asit konsantrasyonu (%) ve sıcaklık (°C) değerlerinin samanın lignin içeriğine (g lignin/g kuru saman) etkisi.....	64
Şekil 4.46 Farklı ön işlem süresi (dak) ve sıcaklık (°C) değerlerinin samanın lignin içeriğine (g lignin/g kuru saman) etkisi	65
Şekil 4.47 Farklı ön işlem süresi (dak) ve okzalik asit konsantrasyonu (%) değerlerinin samanın lignin içeriğine (g lignin/g kuru saman) etkisi	65
Şekil 4.48 Farklı okzalik asit konsantrasyonu (%) ve sıcaklık (°C) değerlerinin glikoz verimine (g/g) etkisi.....	68
Şekil 4.49 Farklı ön işlem süresi (dak) ve sıcaklık (°C) değerlerinin glikoz verimine (g/g) etkisi.....	68
Şekil 4.50 Farklı ön işlem süresi (dak) ve okzalik asit konsantrasyonu (%) değerlerinin glikoz verimine (g/g) etkisi.....	69
Şekil 4.51 Farklı okzalik asit konsantrasyonu (%) ve sıcaklık (°C) değerlerinin ksiloz verimine (g/g) etkisi.....	70
Şekil 4.52 Farklı ön işlem süresi (dak) ve sıcaklık (°C) değerlerinin ksiloz verimine (g/g) etkisi.....	70
Şekil 4.53 Farklı ön işlem süresi (dak) ve okzalik asit konsantrasyonu (%) değerlerinin ksiloz verimine (g/g) etkisi	71
Şekil 4.54 Optimum koşullarda okzalik asitle işlenmiş samandan üretilen etanol miktarının (g/L) fermantasyon süresi boyunca değişimi	73

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1 Farklı lignoselülozik materyallerin selüloz, hemiselüloz ve lignin içerikleri (Dalay vd. 2011)	4
Çizelge 2.2 Bazı Alifatik Dikarboksilli Asitler (Hart, 1995'ten uyarlanmıştır)	17
Çizelge 3.1 Samanın kompozisyonu (kuru madde bazında)	23
Çizelge 3.2 Yanıt Yüzey Yöntemi ile optimizasyonda kullanılan değişkenler	26
Çizelge 4.1 Maleik asit için regresyon eşitlikleri	38
Çizelge 4.2 Ön-işlemden kullanılan organik asitlerin formülleri ve pKa değerleri	45
Çizelge 4.3 Süksinik asit için regresyon eşitlikleri	52
Çizelge 4.4 Okzalik asit için regresyon eşitlikleri	66



1. GİRİŞ

Sürdürülebilir ekonomik gelişmeyi sağlamak, yüzyılımızın en büyük sorunlarından biri haline gelmiştir. Küresel ekonomiyi etkileyen en büyük sektörlerden biri ise enerji sektörüdür. Dünyanın enerji ihtiyacı ekonomik gelişme, endüstrileşme, refah ve nüfus artışına paralel olarak artmaktadır (Deniz vd. 2015). Enerji sektörünü en çok etkileyen yapı taşlarından biri de petrol üretimi ve petrole olan bağımlılıktır. Petrol rezervlerinin hızla azalması petrol fakiri ülkelerin ekonomilerini olumsuz etkilemektedir. Buna ek olarak, petrol ve türevi ürünlerin aşırı kullanımı sonucu oluşan çevre kirlenmesi ve sera etkisi her geçen gün artmaktadır ve dünya için büyük bir tehlike oluşturmaktadır. Petrole ve fosil yakıtlarına olan bağımlılığı ve atmosfere salınan CO₂ miktarını azaltacak daha güvenilir, yenilenebilir, düşük maliyetli, alternatif enerji kaynaklarına ihtiyaç olduğu bilim insanlarınca ve politik çevrelerce kabul edilmektedir (Liu vd. 2008, Staniszewski vd. 2007, Bai vd. 2008, Najafpour vd. 2004, Zerbe 1988).

Günümüzde bu konuda yapılan çalışmaların büyük bir kısmı biyoetanol ve biyodizel üretimi üzerinedir (Akgül vd. 2001). 2016 yılında dünya genelinde 82,3 milyon ton petrole eşdeğer biyoyakıt (biyoetanol+biyodizel) üretilmiştir ve bunda en büyük pay ise % 43,5 ile Amerika Birleşik Devletleri'nindir. A.B.D'yi % 22,5 üretim oranı ile Brezilya izlemektedir. Avrupa'da ise Almanya ve Fransa biyoyakıt üretiminde lider konumdadır (Anonymous 2017).

Biyoetanol, fermente olabilen karbonhidratlar içeren veya nişasta ve selüloz gibi fermente edilebilir karbonhidratlara dönüştürülebilen polimerik karbonhidratlar içeren her türlü biyolojik hammaddeden üretilir (Onurbaş Avcıoğlu vd. 2011). Biyoetanol hammaddeleri; şeker içerikli (şeker kamışı, şeker pancarı, tatlı sorgum), nişasta içerikli (mısır, buğday, tahıl) ve lignoselülozik içerikli (otlar, odunsular, tarımsal atıklar) olabilmektedir. Günümüzde arpa, buğday, mısır vb. tahıl ürünleri, şekerpancarı, şeker kamışı, patates, yer elması, tatlı sorgum gibi ürünler biyoetanol üretiminde kullanılabilmektedir (Onurbaş Avcıoğlu vd. 2011).

Bir tarım ülkesi olan ülkemiz, lignoselülozik etanol üretimi bakımından büyük bir potansiyele sahiptir. Türkiye'de en çok üretimi yapılan tarımsal ürünlerin atıkları dikkate alındığında yılda yaklaşık 21 milyon ton kuru tarımsal atığın oluştuğu tahmin

edilmektedir (Isci 2012). Buna ek olarak, ülkemizde 4,5 milyon dekar alanda "enerji tarımı" yapılması mümkündür ve bu alanın tamamının kullanılması durumunda benzin tüketiminin % 60-70 kadarını karşılayabilecek biyoetanol üretimi olasıdır (Anonim 2006).

Bu tez çalışmasının amacı, yenilenebilir bir biyokütle kaynağı olan buğday samanının organik asitlerle işlenmesi ve enzimatik hidroliz aşamasında en yüksek glikoz ve ksiloz verimini sağlayan optimum ön işlem koşulların tespit edilmesidir. Böylelikle, samandan elde edilecek biyoetanol verimliliğinin artırılması hedeflenmektedir.

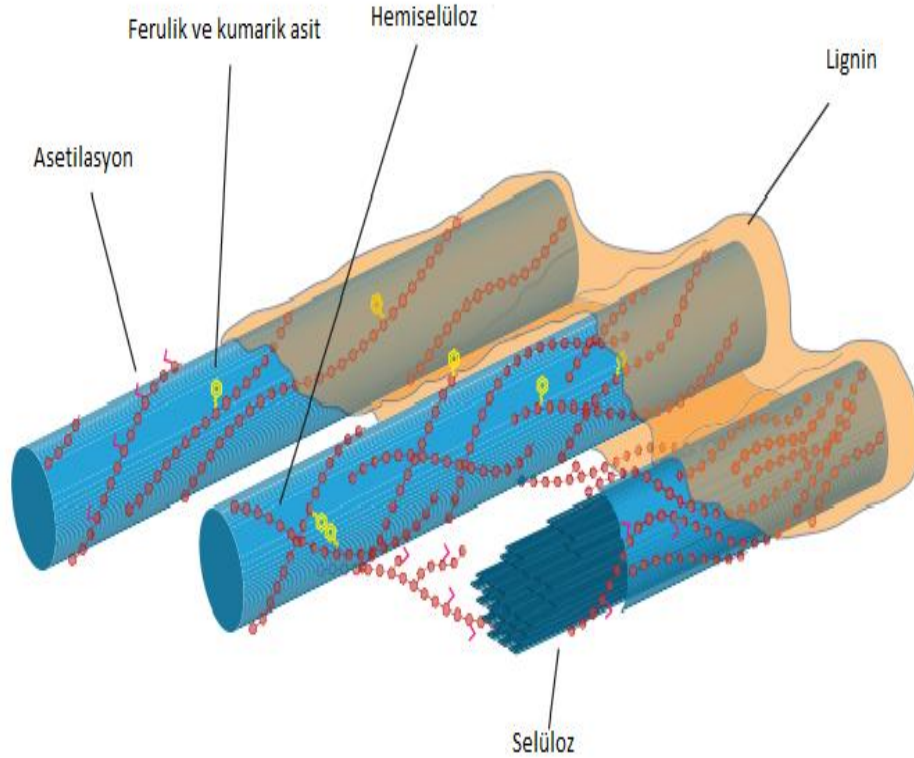


2. KURAMSAL TEMELLER ve KAYNAK ÖZETLERİ

2.1 Lignoselülozik Materyaller

Biyoetanol üretiminde kullanılan lignoselülozik biyokütle genelde gıda olarak tüketilmeye müsait olmayan bitki materyallerinden oluşur. Bunlar; otsu bitkiler (dallı darı otu, fil otu vb.), odunsular (kavak, söğüt vb.) ve atıklardır (orman atıkları, tarımsal atıklar (saman), kağıt atıkları, bazı gıda endüstrisi atıkları vb.).

Lignoselülozik biyokütlenin içeriğinde; temel polisakkarit olarak selüloz, hemiselüloz, fenolik bir polimer olan ve aynı zamanda bitkiye yapısal sağlamlık kazandıran ligninin olduğu bilinmektedir (Sluiter vd. 2010). Bitki hücre duvarlarının temel yapısal bileşenleri Şekil 2.1.'de verilmiştir.



Şekil 2.1 Bitki hücre duvarlarının temel yapısal bileşenleri (Sorek, 2014)

Çizelge 2.1 Farklı lignoselülozik materyallerin selüloz, hemiselüloz ve lignin içerikleri (Dalay vd. 2011)

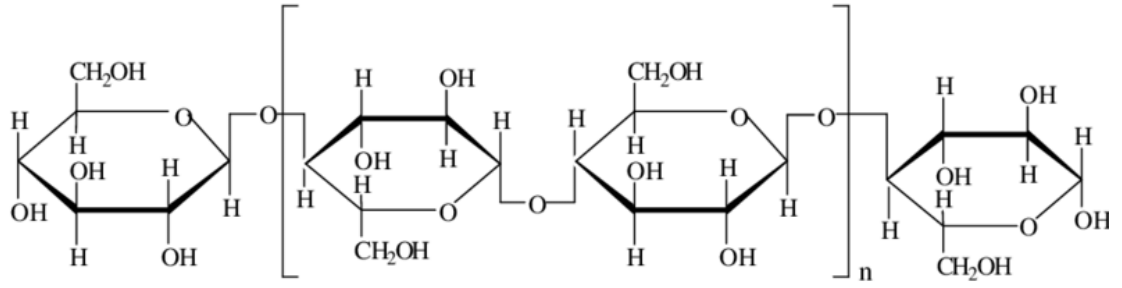
Hammadde	Selüloz (%)	Hemiselüloz (%)	Lignin (%)
Mısır Koçanı	45	35	15
Buğday Sapı	30	50	15
Buğday Samanı	37-41	27-32	13-15
Odunsu Bitkiler	45±2	30±5	20±4
Otsu Bitkiler	42±2	27±2	28±3

Hammaddeye göre değişiklik göstermekle birlikte lignoselülozik biyokütle yaklaşık olarak % 35- 50 selüloz, % 20- 35 hemiselüloz ve % 15-20 ligninden oluşmaktadır (Mood vd. 2013). Farklı lignoselülozik materyallerin selüloz, hemiselüloz ve lignin içerikleri Çizelge 2.1’de verilmiştir.

2.1.1 Selüloz

Selüloz, bitki hücre duvarının yapısal destek sağlayan ana bileşenidir. Ayrıca bakteri, mantar ve alglerde de mevcuttur (Agbor vd. 2011). Selüloz ($C_6H_{10}O_5$)_x lignoselülozik biyokütledeki temel polimerdir (% 35- 50) (Mood vd. 2013). Dünyada en çok bulunan biyopolimer olduğu düşünülmektedir (Somerville 2006).

Selüloz, birbirine β -1,4 glikozidik bağlarla bağlanmış D - glikoz alt birimlerinden oluşmuştur (Fengel ve Wegener1984). Selüloz zincirlerinin birbirine bağlanması; kovalent bağlar, hidrojen bağları ve Van Der Waals etkileşimlerinin varlığı ile gerçekleşmektedir. Selüloz mikrofibrili içindeki hidrojen bağları zincirin düz olmasını belirler, fakat zincirler arası hidrojen bağları selülozun yapısının kristal veya amorf olmasına neden olur (Laureano- Perez 2005). Selülozun rolü sadece yapısaldır. Bitkilerin mekanik baskılara karşı direncinden sorumludur (Kuru 2009). Selülozun yapısı Şekil 2.2’de verilmiştir.

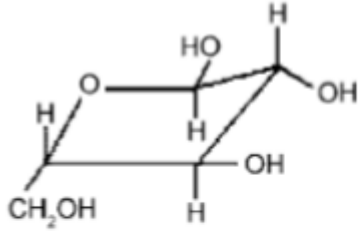


Şekil 2.2 Selülozun yapısı (Anonymous 2019)

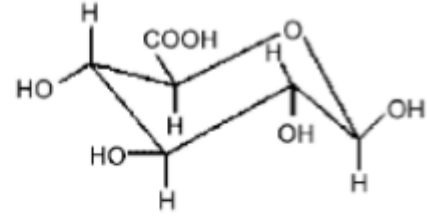
2.1.2 Hemiselüloz

Hemiselüloz, lignoselülozik biyokütlerde en çok bulunan ikinci polimerdir ve selülozdan farkı kimyasal açıdan homojen olmamasıdır. Hemiselüloz; pentoz (ksiloz, arabinoz), heksoz (mannoz, glikoz, galaktoz) ve asetile şekerlerin bileşiminden oluşmuş heterojen bir polimerdir. Hemiselüloz, selüloza kıyasla düşük molekül ağırlıklıdır ve kısa yan zincirleri sayesinde kolayca hidrolize olabirler (Fengel ve Wegener 1984, Saha 2003). Hemiselülozik yapıda, ksilanlar nicelik yönünden önemli yer tutmaktadır. Sert odunların % 20- 25'i, otların %15-20'si ve yumuşak odunların önemli bir kısmını glikomannan ve ksilanlar oluşturmaktadır. Tahıl sapları ise kuru ağırlık olarak % 20-30'u ksilandan oluşur (Aspinal 1970). Ksilanlar, özellikle ksiloz monomerlerinden oluşurlar. Ksilan varyasyonlarının tümü D-ksilopiranoz omurgasına β (1 $\rightarrow$ 4) ile bağlıdır, fakat biyokütle kaynağına bağlı olarak farklı kompozisyonlar içerirler (Ebringerova vd. 2005). Örneğin, buğday arabinoksilanı % 65,8 ksiloz, % 33,5 arabinoz, % 0,1 mannoz, % 0,1 galaktoz ve % 0,3 glikoz içerirken; mısır lifi ksilanı % 48- 54 ksiloz, % 33- 35 arabinoz, % 5-11 galaktoz, % 3-6 glukuronik asit içermektedir (Gruppen vd. 1992, Doner vd. 1997).

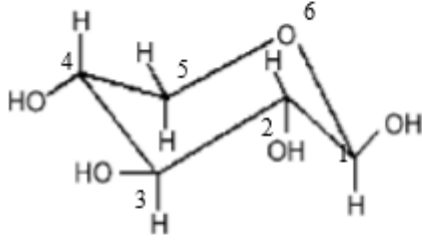
Hemiselülozlarda bulunan ksilan polimeri, asit veya alkali ortamda oldukça iyi ekstrakte edilebilirken; glukomannan asit ortamda çok zor ekstrakte edilebilir ve ksilana göre çok daha güçlü alkali ortama ihtiyaç duyar (Balaban ve Ucar 1999, Fengel ve Wegener 1984, Lawther vd. 1996). Ksilan en kolay ekstrakte edilebilen parça olarak görünmektedir (Hendriks and Zeeman 2009). Şekil 2.3'de hemiselülozun monomer yapıları verilmiştir.



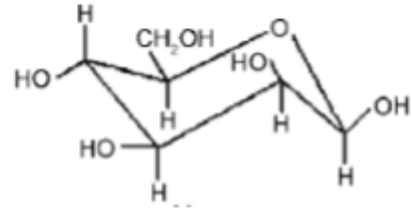
Arabinoz



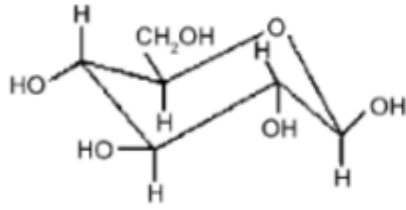
Glukuronik Asit



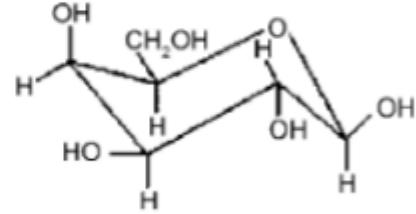
Ksiloz



Mannoz



Glukoz



Galaktoz :

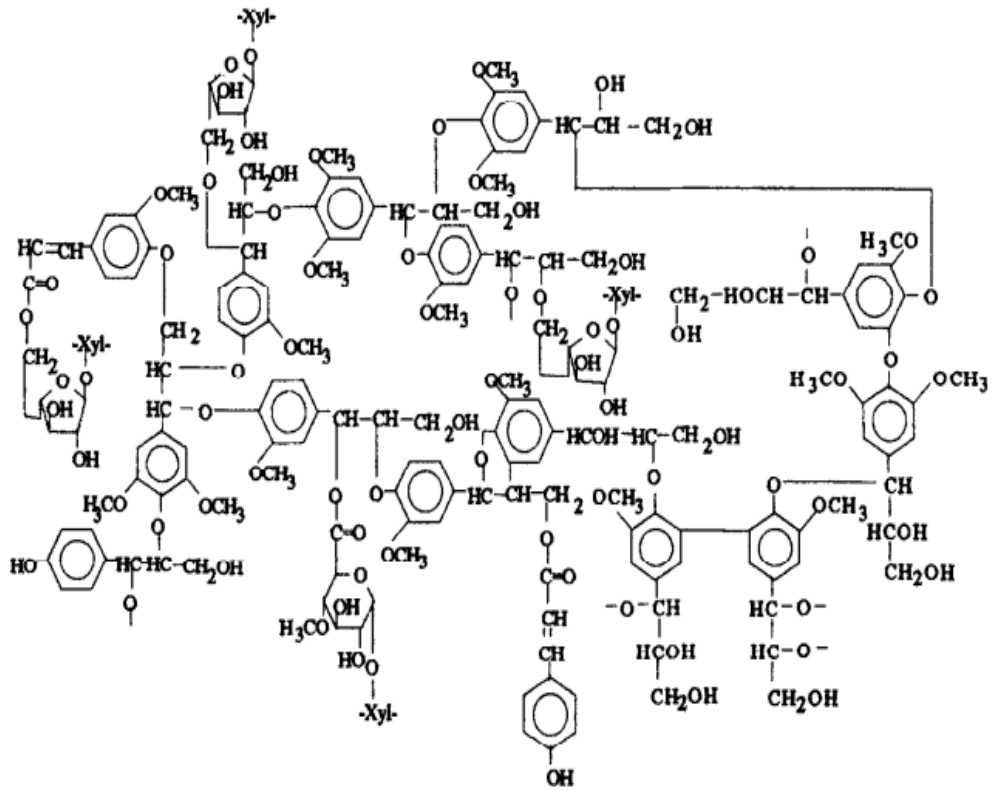
Şekil 2.3 Hemiselülozun monomer yapıları (Stöcker 2008)

Hemiselüloz, lignin ve selüloz lifleri arasında bir bağlantı işlevi görmektedir ve bu da lignoselülozik yapıya daha fazla sertlik kazandırır (Laureano- Perez vd. 2005). Farklı hemiselüloz bileşiklerinin çözünürlüğü azalan sırada; mannoz, ksiloz, glikoz, arabinoz ve galaktozdur. Çözünürlük sıcaklık artışıyla artmaktadır. Erime noktaları bilinmediği için yüksek moleküllü polimerlerin çözünürlükleri tahmin edilememektedir (Gray vd. 2003). Hemiselüloz bileşikleri, suda (nötr koşullar altında) 180 °C civarında çözünmeye başlamaktadır (Bobleter 1994). Garrote vd (1999) ise hemiselüloz bileşiklerinin 150 °C civarında kısmen çözünmeye başladığından bahsetmektedir. Lignoselüloz bileşenlerinin

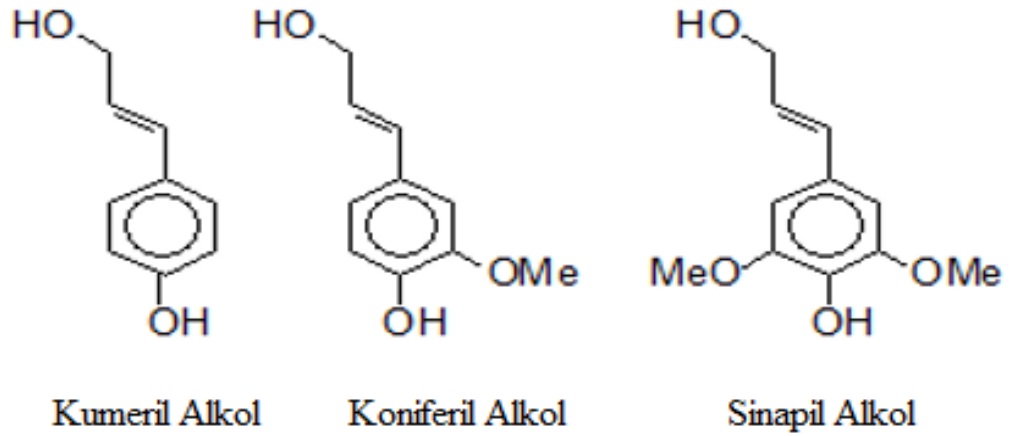
çözünmesi, sıcaklığın yanısıra nem içeriği ve pH değerine de bağlıdır (Fengel ve Wegener 1984).

2.1.3 Lignin

Lignin, selüloz ve hemiselülozdan sonra doğada en çok bulunan polimerlerden biridir ve hücre duvarında bulunmaktadır. Üç değişik sinnamil alkolün polimerleşmesiyle oluşur. Bunlar kumeril alkol, koniferil alkol ve sinapil alkoldür. Lignin, bitkiye yapısal destek sağlar hücre duvarına sertlik verir. Bitki içerisindeki sıvı akışını kontrol eder. Bitkiyi mikrobiyal parçalanmalardan korur (Fengel ve Wegener 1984). Buğday samanının lignin yapısı Şekil 2.4'te ve üç fenilpropan monomerinin yapısı Şekil 2.5'te verilmiştir.



Şekil 2.4 Buğday samanı lignininin deneysel yapısı (Sun vd. 1997)



Şekil 2.5 Ligninde üç fenilpropan monomerinin yapısı (Boerjan vd. 2003)

Lignin, heterojen yapıdadır. Fenilpropanoid ara birimlerinin farklı şekillerde (aril-eter, aril-aril, karbon-karbon gibi) kovalent bağlanması ile oluşan optikçe inaktif bir polimerdir. Ligninin bu kompleks yapısı onun güçlükle degrede olmasına sebep olur (Bronow, 2001).

Ligninin, lignoselülozik biyokütlerdeki farklı bileşenlerini bir zambak gibi bir arada tuttuğu kabul edilmektedir. Böylece lignin, bu yapıyı suda çözünmez hale getirmektedir. Lignin ile selüloz arasındaki bağlar, lignoselülozik biyokütlenin enzimatik ve mikrobiyal hidrolizini engellemektedir (Avgerinos ve Wang 1983). Farklı materyaller, farklı miktarlarda lignin içermektedir ve biyokütlenin biyoyakıtlara dönüştürülebilmesi için ligninin ön işleme parçalanması gerekmektedir. Ön işlem sırasında ligninin çözülmesi, soğuduktan sonra da yapısının bozularak çökelediği görülmüştür (Brownell ve Saddler 1987, Converse 1993, Lynd vd. 2002). Lignin, hemiselüloz gibi suda (nötr koşullar altında) 180 °C civarında çözünmeye başlamaktadır (Bogleter 1994). Asit, alkali veya nötr ortamda ligninin çözünürlüğü öncüsüne (p- kumeril alkol, koniferil alkol, sinapil alkol veya kombinasyonlarına) bağlıdır (Grabber 2005). Lignin düşük molekül ağırlıklı alkoller, aseton, piridin, dioksan ve dimetil sülfoksit ile çözünebilmektedir. Ayrıca yüksek sıcaklıklar ligninin depolimerizasyon reaksiyonlarını hızlandırmaktadır (O'Connor vd. 2007, Harmsen vd. 2010).

2.2 Buğday Samanı

Günümüzde buğday, dünyada en geniş alanda tarımı yapılan, en fazla yetiştirilen ve en fazla tüketilen üründür (Özkaya ve Özkaya 2005). Buğday, Gramineae familyasından bir bitki olduğu için bu familyaya ait bitkilerin yetişebildiği tüm koşullarda yetiştirilebilmektedir. Yani buğday, yeryüzünde değişik koşullara iyi adapte olmuş bir bitkidir ve 100'e yakın ülkenin topraklarında yetiştirilmektedir (Özkaya ve Özkaya 2005).

Buğdayın yeryüzünde yetişebildiği alanlar Finlandiya'nın kuzeyinden, Arjantin'in güneyine kadar yayılmıştır. Fakat yoğun olarak ekildiği alanlar Kuzey Yarımküre'de 30-60 kuzey enlemleri arasındadır. Bu yarımkürede esas ekim alanları Kuzey Amerika Kıtası, Avrupa, Asya ve Kuzey Afrika'dır. Güney Yarımküre'de ise 27-40 güney enlemleri arasında ve daha çok Avustralya, Arjantin, Brezilya ve Güney Afrika'da yetiştirilmektedir (Özkaya ve Özkaya 2005).

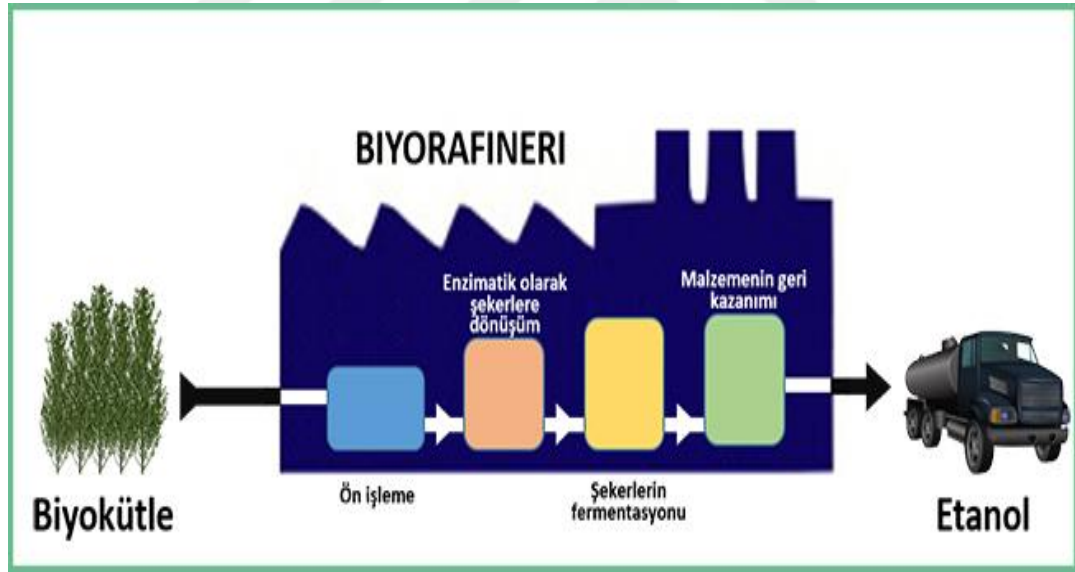
Buğdayın 2016 – 2017 yılları arasında dünyada toplam 760,1 milyon ton üretildiği tahmin edilmektedir. Dünyada elde edilen kuru buğday samanı miktarının ise kalıntı faktörü kullanılarak (buğday samanı için kalıntı faktörü: 1,3 (Brown 2003) 988 milyon ton olduğu tahmin edilmektedir. Türkiye'de ise Türkiye İstatistik Kurumu verilerine göre 2016 yılında 20,6 milyon ton buğday üretilmiştir (TÜİK 2017). Aynı şekilde hesaplama yapıldığında, Türkiye'de elde edilen kuru buğday samanı miktarının 26 milyon ton olduğu düşünülmektedir. Bu da ülkemizin oldukça yüksek miktarlarda hammaddeye sahip olduğunu göstermektedir. Ancak, henüz bu hammaddeyi uygun şekilde işleyip biyo-yakıtı çevirecek bir alt yapı bulunmamaktadır.

Buğday samanı diğer lignoselülozik biyokütleler gibi kompleks yapıdadır. Selüloz, hemiselüloz ve lignin başta olmak üzere az miktarda da çözünebilen substrat ve külden oluşmaktadır. Buğday samanının kimyasal yapısındaki küçük farklılıklar; buğdayın cinsine yetiştiği toprağa ve iklim koşullarına bağlıdır. Buğday samanının; yaklaşık % 33-40 (w/w) oranında selüloz, %20-25 oranında hemiselüloz, ve %15-20 lignin içerdiği rapor edilmiştir (Prasad vd. 2007).

2.3 Biyoetanol Üretim Aşamaları

Lignoselülozik materyallerden biyoetanol üretim prosesi; ön işlem, hidroliz, fermantasyon ve distilasyon aşamalarından oluşmaktadır (Talebnia vd. 2010). Şekil 2.6'de biyoetanol üretim prosesi verilmiştir.

Ön-işlem, lignoselülozik materyallerden biyoetanol üretiminde en önemli aşamalardan biri olarak kabul edilmektedir. Ön işlemdeki genel amaç; lignini parçalamak, kristalleşmiş selülozun yapısını bozmak (Şekil 2.7) ve böylece enzimatik hidroliz verimini ve fermente edilebilir şeker oluşumu miktarını arttırmaktır (Adıgüzel 2013). Bu aşamadaki gelişmeler etanol verimini ve proses ekonomisini doğrudan etkilemektedir. Bu sebeple bu konuda literatürde birçok çalışma bulunmaktadır (bunlarla ilgili bilgiler bölüm 2.3.1'de verilmiştir).



Şekil 2.6 Biyoetanol üretim prosesi (Anonim 2017)



Şekil 2.7 Ön işlemin biyokütle üzerine etkisinin şematik olarak gösterimi (Hsu vd. 1980)

Ön işlemden sonra hidroliz işlemi yapılmaktadır. Hidroliz, bir molekülün su ilave edilerek parçalanmasıdır. Lignoselülozik materyallerde bulunan karbonhidrat polimerleri hidroliz işlemi ile basit şekerlere dönüştürülmektedir. Hidroliz metotları; enzimatik ve kimyasal hidroliz olarak ikiye ayrılabilir. Hidroliz tamamen gerçekleştiğinde selülozdan glikoz elde edilir. Hemiselüloz hidrolizi ile de pentoz ve heksozlar açığa çıkar (Adıgüzel 2013).

Kimyasal hidroliz, asit (derişik veya seyreltik) ile veya alkali hidroliz şeklinde gerçekleşir. Her iki yöntemin de farklı avantaj ve dezavantajları söz konusudur. Derişik asit ile hidrolizde; ekipmanlara korozyon etkisinin olmasının yanısıra kullanılan asitin tekrar kullanılabilmesi için enerji gereksiniminin fazla olması gibi dezavantajları vardır. Seyreltik asit ile hidrolizde ise benzer şekilde yine ekipmanlara korozyon etki etmekte ve işlem sırasında yüksek sıcaklıklara ihtiyaç duyulmaktadır (Adıgüzel 2013). Lignoselülozik materyallerin asit ile hidrolizinde, H_2SO_4 ve HCl gibi asitler kullanılmaktadır (Sun ve Cheng 2002). Enzimatik hidrolizde ise kimyasal yerine selüloz ve hemiselülozu parçalayan enzimler kullanılmaktadır. Asit hidrolizde olduğu gibi korozyon ile karşılaşılmemakta ve daha çevreci bir yöntem olarak sıklıkla tercih edilmektedir (Balat vd. 2008, Bağder Elmacı 2015).

Enzimatik hidroliz sırasında kullanılan enzimler genellikle *Trichoderma ssp.* ve *Aspergillus ssp.* gibi küflerden üretilirler (Canilha vd. 2012). Selülozik enzimler endoglukonaz, ekzoglukanaz ve β -glikozidazlar olmak üzere üç temel bileşenden oluşmaktadır. Endoglukonazlar selüloz zincirinde iç glikozidik bağlara etki eder. Ekzoglukanazlar zincir uçlarını hidrolize eder ve ağırlıklı olarak sellobiyoz üretir. β -glikozidazlar ise sellobiyozdan iki molekül glikoz elde edilmesini sağlar (Eveleigh, 1987).

Biyoetanol üretiminde, hidroliz aşamasından sonra fermentasyon işlemi gelmektedir. Fermentasyon aşamasında ise mikroorganizmalar kullanılarak enzimatik hidroliz aşamasında elde edilen karbonhidratlardan etanol üretilir.

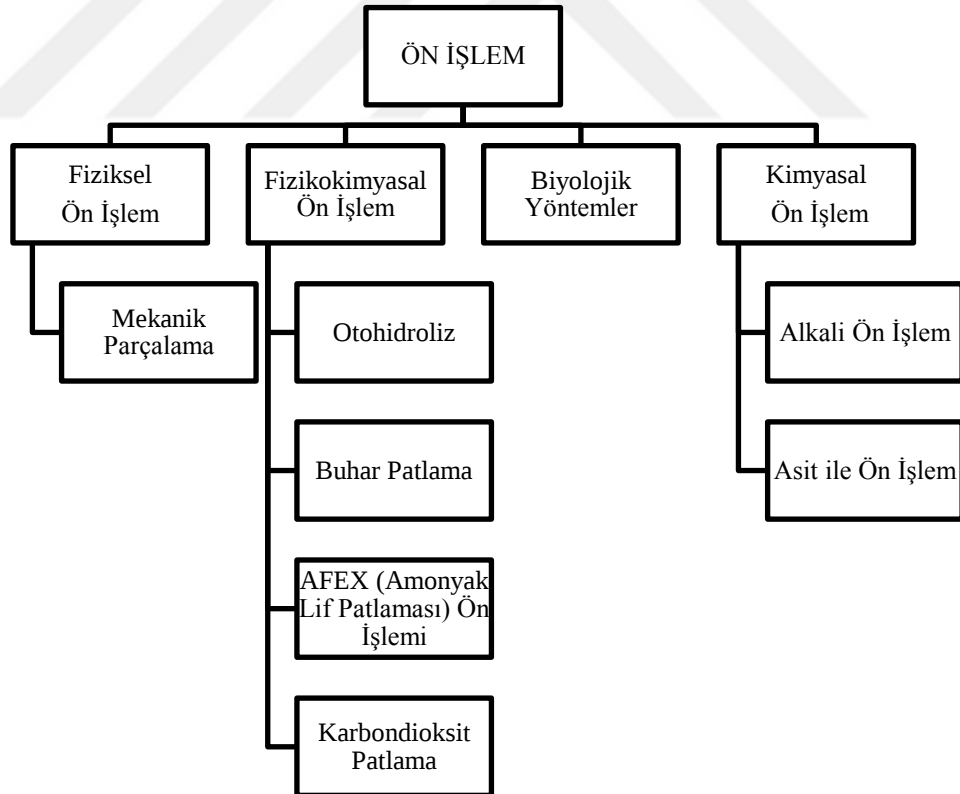
Heksozlardan etanol üretimi için en iyi bilinen mikroorganizmalar *Saccharomyces cerevisiae* ve *Zymomonas mobilis*'dir (Claassen vd. 1999). Bu mikroorganizmalar beş karbonlu şekerleri fermente edememektedir (Rogers vd. 2007). Ksilozu etanole fermente edebilen diğer mikroorganizmalar; *Pichia stipitis*, *Candida shehatae* ve *Pachyolen tannophilus*'dur (Chandel vd. 2007, Lin ve Tanaka 2006). Bunlar ürettikleri etanolü tekrar kullanma eğilimindedirler ve etanol verimleri düşüktür. Bu dezavantajın üstesinden gelebilmek için hem heksozları hem de pentozları fermente edebilme kapasitesinde olan genetik modifiye *Saccharomyces cerevisiae* türleri geliştirilmektedir (Karhumaa vd 2007).

Fermentasyon ve hidroliz aşamaları; ayrı hidroliz ve fermentasyon (Separate Hydrolysis and Fermentation: SHF), eşzamanlı sakkarifikasyon ve fermentasyon (Simultaneous Saccharification and Fermentation: SSF) olmak üzere iki değişik yöntemle yapılabilir. SHF'de hidroliz ve fermentasyon ayrı ayrı kendi optimal koşullarında gerçekleşmektedir. Fakat bu yöntemde son ürün, enzim aktivitesini inhibe etmektedir. SHF yönteminin dezavantajlarını bertaraf edebilmek için SSF yöntemi geliştirilmiştir. SSF'de hidroliz ve fermentasyon aynı kapta gerçekleşmektedir. Bu yöntemle, hidroliz ile şeker oluşurken fermentasyon ile hemen etanole dönüşüm olmaktadır. Böylece şeker birikimi, enzim inhibisyonu ve kontaminasyon gibi problemler önlenmiş olmaktadır (Galbe and Zacchi 2002, Ohgren vd. 2007). SSF yönteminin ana sakıncası, hidroliz ve fermentasyon aşamalarının optimum sıcaklıklarının farklı olmasıdır. Çoğu mayanın

optimum çalışma sıcaklığı 30-35 °C iken hidrolizde kullanılan enzimlerin optimal aktivite sıcaklığı genellikle 50 °C civarındadır (Kadar vd. 2004).

Fermantasyon aşaması sonrasında oluşan etanol solüsyonundan, suyu uzaklaştırarak anhidroz etanol adı verilen saf etanol ürününü oluşturmak için daha ileri aşamalara ihtiyaç vardır. Genelde su komponentinin uzaklaştırılması, solüsyondaki karışımların farklı kaynama noktaları kullanılarak distilasyon prensibiyle yapılır. Karışım etanolün kaynama noktası olan 78,2 °C' ye ısıtıldığında karışım içerisindeki etanol buharlaşır ve karışımdaki diğer komponentlerden ayrılır. Distilasyon yöntemi ile elde edilen etanol konsantrasyonu en fazla %95.63 olabilmektedir. Ancak, anhidroz etanol minimum %99,5 saf etanol içerir ve su komponenti kesin surette %0,5'ten fazla olmamalıdır (Kumar 2010). Bu sebeple, saflığın artırılmasında moleküler eleme gibi farklı yöntemler kullanılmaktadır (Adiyata 2016).

2.3.1 Ön işlem metotları



Şekil 2.8 Ön işlem yöntemleri (Talebniya vd. 2010).

Literatürde bulunan ön işlem yöntemleri, fiziksel, fizikokimyasal, biyolojik ve kimyasal olmak üzere 4 ana başlıkta toplanabilir (Talebnia vd. 2010). Şekil 2.8’ de ön işlem yöntemleri şematik olarak özetlenmiştir.

2.3.1.1 Fiziksel ön işlem

En çok tercih edilen fiziksel ön işlem, mekanik parçalamadır (Adıgüzel 2013). Mekanik parçalamada, farklı şekillerde yapılan öğütme ve parçalama işlemleri ile biyokütle ince toz haline gelmektedir. Bu yöntem materyalin yüzey alanını arttırarak enzimin daha iyi nüfuz etmesini sağlar (Harun vd. 2010).

2.3.1.2 Fizikokimyasal ön işlem

Fizikokimyasal ön işlemler; otohizroliz, buhar patlama, AFEX (Amonyak Lif Patlaması) ön işlemi, karbondioksit patlama ve bunun gibi işlemleri kapsamaktadır.

Otohidrolizde biyokütle basınçlı su ile muamele edilir (Adıgüzel 2013). Bazı durumlarda hidronyum (H_3O) iyonu proses içerisinde katalist olarak kullanılır ve uygulama sıcaklığı ise 150-230 °C arasında değişmektedir (Nitsos 2013). Proses sırasında, hemiselülozlar hidrolize olur. İnhibitör madde oluşumu çok azdır (Adıgüzel 2013).

Buhar patlama ön işlemi, herhangi bir kimyasal kullanmadan, biyokütlenin 160- 240 °C de ve 0,7- 4,8 MPa yüksek basınç altındaki doymuş buharla temas etmesi prensibine dayanır. Basınç birkaç saniyeden birkaç dakikaya kadar uygulanarak hemiselüloz hidrolizinin gerçekleşmesini sağlar. Hemiselüloz ön işlem boyunca sıvı fazda çözülebilen karbonhidratların baskın fraksiyonu iken lignin, yüksek sıcaklık sonucunda parçalanmaktadır (Agbor vd. 2011). Buhar patlama yöntemi daha çok sert odunlar ve tarımsal atıklar üzerinde etkilidir. Yumuşak odunlar üzerindeki etkisi ise daha azdır (Clark 1987).

AFEX (amonyak lif patlatması) ön işleminde, lignoselülozik materyallerin yüksek sıcaklık ve basınçta sıvı amonyağa maruz bırakılıp ardından basıncın hızlıca azaltıldığı bir ön işlemdir. AFEX ile hemiselüloz üzerindeki asetil grupları ayrılır ve lignin lignoselülozdan uzaklaştırılır (Adıgüzel 2013).

Karbondioksit patlama ön işleminde ise karbondioksit ile karboksilik asit oluşumu gerçekleştirilir ve lignoselülozik yapının parçalanabilirliği artırılır. Bu yöntem CO₂'nin süperkritik akışkan olarak kullanımına dayanmaktadır ve temel dezavantajı yüksek basınç gerektirmesidir (Saritha, 2012).

2.3.1.3 Biyolojik yöntemler

Biyolojik ön işlem yöntemlerinde; kahverengi, beyaz ve yumuşak çürükçül mantarlar gibi mikroorganizmalar, lignin ve hemiselülozun parçalanması için kullanılmaktadır (Temp vd. 1998). Biyolojik ön-muamelenin avantajı enerji gereksiniminin az olması ve herhangi bir kimyasal kullanılmadığı için çevre dostu olmalarıdır. Dezavantajı ise hidroliz veriminin düşük olması ve ön işlem süresinin diğer yöntemlere göre çok uzun olmasıdır (Agbor vd. 2011).

2.3.1.4 Kimyasal ön işlem

Kimyasal yöntemler, ön işlem için kullanılan en yaygın metotlardır. Proses maliyeti düşük ve etkili bir uygulama şeklidir. Kimyasal ön işlem genel olarak, alkali ön işlem ve asidik ön işlem olmak üzere iki sınıfa ayrılabilir.

2.3.1.4.1 Alkali ön işlem

Alkali ön işlemde; lignoselülozik hammadde seyreltik baz ile muamele edilmektedir. Sodyum, potasyum, kalsiyum ve amonyum hidroksit gibi bazlar kullanılmakta ise de en çok sodyum hidroksit (NaOH) üzerine çalışmalar mevcuttur (Kumar vd. 2009a,b). Alkali ön işlemde diğer ön işlem teknolojilerine göre daha düşük sıcaklık ve basınç kullanılmaktadır (Moiser vd. 2005a,b). Kimyasal ön işlemler arasında, alkali ön işlem lignin, hemiselüloz ve selüloz arasındaki ester bağlarını kırmada en etkili yöntemdir, selülozun yapısını bozmakla birlikte hemiselüloz polimerlerin degradasyonunu önlemektedir (Gaspar 2007). Bu yöntemin dezavantajı kullanılan çoğu alkalilerin pahalı olmasıdır. Bu problemin çözümü, uçuculuğundan dolayı geri dönüştürülebilir olan

amonyak veya geri kazanılabilir ucuz alkali ajan olan kalsiyum hidroksit (kireç) kullanılmasıdır (Kim and Holtzaple 2006, Wyman vd. 2005).

2.3.1.4.2 Asit ile ön işlem

Asit ile ön işlem, inorganik asitler ve organik asitler ile ön işlem olmak üzere iki kategoride sınıflandırılabilir. İnorganik asit ile ön işlemde biyokütle, konsantre veya seyreltilmiş asit ile muamele edilebilir (Talebnia, 2010). Sülfürik, hidroklorik, nitrik asit gibi asitler kullanılmaktadır. Konsantre asit ile ön işlem yönteminin avantajı prosesin düşük sıcaklıklarda gerçekleşebilmesidir. Bu durum prosesin maliyetini de düşürmektedir. Fakat kuvvetli asitlerin yüksek konsantrasyonda kullanımları toksik, zarar verici ve aşındırıcıdır. Bu da ekipmanların zarar görmesine ve proses maliyetinin artmasına sebep olur (Adıgüzel 2013).

Günümüzde sıkça uygulanan ön-işlem yöntemlerinden birisi seyreltik inorganik asitle yüksek sıcaklıkta uygulanan ön-işlemdir. Bu yöntemde genellikle sülfürik asit kullanılır. Ancak, sülfürik asitin, korozif olmasının yanı sıra hidroksimetilfurfural (HMF) ve furfural gibi fermentasyonu inhibe etme özelliğine sahip bileşiklerin oluşmasına neden olduğu da bilinmektedir (Alvira vd., 2010). Bu nedenlerden dolayı, son zamanlarda, organik asitler kullanılarak yapılan ön-işlemler, inorganik asit ön-işlem yöntemine alternatif olarak araştırılmaya başlanmıştır.

2.4 Organik Asitler

Organik asitler, yapısında karboksil grubu (-COOH) içeren bileşiklerdir. Karboksil grubu molekülde bir tane ise monokarboksilli asit, birden fazla ise polikarboksilli asit olarak adlandırılmaktadır. Karboksilli asitler, suda iyonlaşırlar ve zayıf asitler (pKa $\approx$ 4-5) (Hart, 1995).

Karboksilli asitler polar yapıda olup, molekül içi ve moleküller arası hidrojen bağı yaparlar. Alkoller de hidrojen bağı yaparlar, ancak karboksilli asitler dimerik yapıda olabildiğinden kaynama noktaları alkollere göre oldukça yüksektir. Karboksilli asitler

dimer yapıda iki hidrojen bağı yaparlar. Günümüzde genellikle; maleik, süksinik ve okzalik asit gibi özel adları kullanılır (Çizelge 2.2) (Hart, 1995).

Çizelge 2.2 Bazı Alifatik Dikarboksilli Asitler (Hart, 1995'ten uyarlanmıştır)

Formülü	Yaygın Adı	IUPAC Adı
HOOC-COOH	okzalik asit	etandioik asit
HOOC-(CH ₂) ₂ -COOH	süksinik asit	butandioik asit
HOOCCH=CHCOOH	maleik asit	cis- bütendioik asit

2.4.1 Organik asit ile ön işlem

Lignoselülozik materyal ön işleminde mineral asitler yüz yılı aşkın süredir geliştirilmektedir ancak şeker degradasyonu, asit korozyon ve işlem sonucunda yüksek geri kazanım maliyeti gibi dezavantajları bulunmaktadır. Bu sebeple, son yıllarda, organik asitler kullanılarak yapılan ön-işlemler, geleneksel sülfirik asit ön-işlem yöntemine alternatif olarak literatürde yer almıştır (Kootstra vd. 2009a,b, Lee ve Jeffries 2011, Guo vd. 2012).

Organik asitlerle ön işlemlerde, dikarboksilik asitler sağladıkları avantajlarla dikkat çekmektedir. Dikarboksilik asitler daha yüksek ön-muamele etkinliği sergilerler. Aynı koşullar altında mineral asitlerle kıyaslandığında, daha az şeker degradasyon ürünü ve fermentatif mikroplara karşı daha az toksisite oluşumu gözlenir (Jung vd. 2014, Kootstra vd. 2009a, Qian vd. 2005, Lee vd. 2011). Ayrıca organik asitlerin daha az korozyon olduğu da bildirilmiştir (Lu ve Mosier 2007, Kootstra vd. 2009b).

Cis-1,2 etilendikarboksilik asit olarak da adlandırılan maleik asit, ilk olarak 1830'larda sentezlenmiştir ve ticari olarak 1928'de üretilmiştir (Felthouse vd. 2001).

Lignoselüloz ön işlemleri için maleik asit, selülozların aktif bölgesine benzer olan kimyasal yapısı nedeniyle bir biyomimetik katalizör olarak düşünülmüştür (Moiser vd. 2001). Maleik asitin β -(1,4) glikolik bağları seçiciliğinin, sülfirik asitten daha fazla olduğu bulunmuştur (Lu ve Mosier 2007). Ayrıca, maleik asit ile ön işlem uygulandığında şeker degradasyon ürünleri olan HMF ve furfural gibi bileşiklerin çok az miktarda oluştuğu tespit edilmiştir (Qian vd. 2005, Moiser vd. 2001, Antal vd. 1991).

Etandioik asit olarak da adlandırılan okzalik asit, ilk kez on sekizinci yüzyılın sonlarında kimyasal olarak sentezlendi (Jung ve Kim 2014). Okzalik asit bilinen organik asitlerin en güçlülerinden biridir. Okzalik asitin pKa değeri düşük olduğu için selülozu ayırırken hemisülozların hidrolizini katalizleyebilir. Bunun yanı sıra, mikroorganizmalar için asetik asit veya sülfirik asite kıyasla daha az toksiktir çünkü daha düşük pKa değeri, iyonize formların selüler membrana taşınması ya da difüzyonunu kısıtlar (Lee vd. 2009).

Süksinik asit; bitkiler, hayvanlar ve mikroorganizmalar tarafından sıklıkla oluşturulan bir metabolittir. Pek çok anaerobik mikroorganizmalar enerji metabolizmalarının temel son ürünü olarak süksinat üretirler. Süksinik asit, yüksek değerli ticari öneme sahip polimerin, sürfaktanların, solventlerin, deterjanların ve lezzet maddelerinin sentezlenmesinde öncü bileşendir (Zeikus vd. 1999). Günümüzde ticari olarak maleik anhidritin hidrojenasyonu tarafından ve sadece küçük bir miktar olarak da mikrobiyal fermentasyon yoluyla elde edilir (Delhomme vd. 2009).

2.5 Kaynak Özetleri

Literatürde buğday samanı ve diğer lignoselülozik materyallerden biyoetanol üretimi ile ilgili çok farklı çalışmalar bulunmaktadır.

Buğday samanından biyoetanol üretimi ile ilgili yapılan bir çalışmada, saman %2,5 (w/v) NaOH solüsyonunda 1:10 (katı/sıvı) oranında, oda sıcaklığında 1 saat bekletilmiştir. Ön işlemin meydana getirdiği morfolojik ve yapısal değişimler FTIR, XRD ve taramalı elektron mikroskopisiyle belirlenmiştir. Box-Behnken modeli ile enzimatik hidroliz parametreleri (substrat konsantrasyonu (% 2, %2,5, %3), enzim konsantrasyonu (%0,25, %0,5, %0,75) ve reaksiyon süresi (6 sa, 8 sa, 10 sa)) optimize

edilmiştir. Enzimatik hidrolize göre, 50 °C’de maksimum sakkarifikasyon (% 40,12) sonucu % 2 buğday samanı, % 0,5 enzim konsantrasyonu ve 6 saat işlem koşullarında tespit edilmiştir. Fermantasyon aşamasında *Saccharomyces cerevisiae* kullanılarak maksimum etanol verimi (0,497 g/g indirgenmiş şeker) 96 saat fermantasyon işleminden sonra elde edildiği rapor edilmiştir (Irfan vd. 2016).

Kootstra vd. (2009a) ise fumarik, maleik ve sülfürik asitin buğday samanı üzerindeki etkinliklerini incelemiş ve organik asitlerin mineral asitlere alternatif olabileceğini belirtmiştir. Bu çalışmada, ön işlem sıcaklığı ve katı yükleme oranları karşılaştırılmıştır. Çalışma sıcaklıkları 130, 150 ve 170 °C ve katı yükleme oranları % 10- 20- 30 şeklindedir. 170 °C’de maleik asit ve sülfürik asit ön işlemlerinin benzer glikoz verimi (sırasıyla %96 ve %98) sağladığı tespit edilmiştir. Fumarik asitin, maleik asite göre daha az etkili olduğu belirlenmiştir. Fumarik asit ile ön işlemde 170 °C’de selüloz % 85 oranında parçalanmıştır. Ön işlemde % 20 katı yükleme oranı kullanılması, %30 oranına kıyasla (daha az furfural içermesi sebebiyle) daha etkili etanol fermantasyonu gerçekleşmesini sağlamıştır. Ayrıca organik asitle ön işlemde, sülfürik asitle ön işleme göre furfural oluşumunun daha az olduğu tespit edilmiştir.

Yapılan bir çalışmada, Manihot esculenta sapından (cassava sapı) biyoetanol eldesi için katı - sıvı oranı, reaksiyon süresi, okzalik asit konsantrasyonu bağımsız değişkenlerinin indirgen şeker konsantrasyonu üzerine etkisi 121 °C ve 15 psi’da araştırılmıştır. 5 g örnek için optimum indirgen şeker verimi 1,564 g/L olup 0,08 g/mL katı-sıvı oranı, %2,97 okzalik asit konsantrasyonu ve 27 dk reaksiyon süresinde tespit edilmiştir. Ön işlem sonrasında, cassava sapı 0,5 mL selülaz (16,8 FPU/g) kullanılarak hidrolize olmuş ve 1,889 g/L glikoz elde edilmiştir. Maksimum etanol konsantrasyonu ve verimi sırasıyla 1,622 g/L ve 0,32 g etanol/ g cassava sapıdır (Sivamani vd. 2018).

Sahu ve Pramanik (2018), pamuk atığından laktik asit, okzalik asit, sitrik asit ve maleik asit ön işlemi ile etanol üretmiştir. Bütün bu organik asitler içinde maleik asit kullanımı en verimli ön işlem olarak bulunmuş olup, maksimum ksiloz miktarı (126,05 g/g) 150 °C, 150 mM ve 45 dk optimum ön işlem koşullarında elde edilmiştir. Biyokütle maleik asitle ön işleme tabi tutulduğunda, ligninin %88’nin ayrıştırıldığı tespit edilmiştir. Ön işlem verimi konvansiyonel seyreltik sülfürik asit ile karşılaştırılmıştır. Sakkarifikasyon

verimi maleik asit ve sülfirik asit ön işlemiyle sırasıyla 686,13 ve 675,26 g/g olarak bulunmuştur.

Lin vd. (2017), farklı asitlerin (okzalik asit, maleik asit, sitrik asit ve sülfirik asit), asit konsantrasyonunun (1-100 g/mL katı:su), ön işlem sıcaklığının (120, 130, 140 °C) ve süresinin (0-20 dakika), hemiselüloz hidrolizi üzerine etkilerini incelemişlerdir. Yüksek asit konsantrasyonu, yüksek sıcaklık ve uzun reaksiyon süresinin ksilooligosakkaritin monosakkaritlere depolimerizasyonunu hızlandırdığını tespit etmişlerdir. Ksilooligosakkarit üretimi için yanıt yüzey metoduyla optimum ön işlem koşullarını belirlemişlerdir. En yüksek ksilooligosakkarit verimi; kayın ksilanı için %39,31(126,54 °C – 7,95 dk) ve endüstriyel içki atığı pulpu için %30,32 (122,63 °C –15,85 dk) olarak tahmin edilmiş ve deneysel verilere yakın sonuçlar elde edildiği (sırasıyla %39,42 ve %30,89) görülmüştür.

Qing vd. (2015), mısır koçanı ile yaptıkları çalışmalarında yüksek ksiloz verimi elde edebilmek ve yüksek oranda katı materyali parçalayabilmek için okzalik asidi değerlendirmişlerdir. Yanıt yüzeyi metodu kullanılarak ön işlem sıcaklığı (120 °C, 130 °C , 140 °C), reaksiyon süresi (20 dk, 40 dk, 60 dk), asit konsantrasyonu (% 0,5, % 1, % 1,5) ve katı – sıvı oranı oranı (% 5, % 7,5, % 10) optimize edilmiştir. En yüksek ksiloz verimi; 140 °C’de, 40 dk, % 0,5 (ağırlıkça) okzalik asit konsantrasyonu ve %7,5 katı yükleme oranı koşullarında % 94,3 olarak bulunmuştur. Bu koşullar altında, deney sonuçları model tahminine yakın çıkmış, bu sebeple uygulanabilir bir model olduğunu belirtmişlerdir.

Yapılan başka bir çalışmada (Kim vd. 2013), sülfirik, maleik ve oksalik asitle ön işlem uygulanmış sert ağaçtan elde edilen ksilo-oligomerlerin hidrolizi için matematiksel denklemler geliştirilmiştir. Üç farklı sıcaklık (140, 160, 180 °C), farklı asit ve pH’larda deneyler gerçekleştirilmiştir. % 85- 90 ksiloz verimine 140 °C’de 50-83 mM maleik asit ile veya 33-44 mM okzalik asit konsantrasyonu ile ulaşılmıştır (pH 1,9- 2,2). Sülfirik asitin benzer ksiloz verimine ulaşabilmesinin daha düşük pH değerlerinde olduğu gözlemlenmiştir (pH< 1,6).

Lim ve Lee (2013), karma sert ağaç materyalinde (*Quercus mongolica*, *Robinia pseudoacacia* L. ve *Castanea crenata*) maleik asit ve okzalik asit ile ön işlemde, pH

(1,04, 1,34, 1,54), reaksiyon sıcaklığı (160, 170, 180 °C) ve reaksiyon süresinin (30, 60, 90 dk) fermente edilebilen şeker eldesi üzerine etkilerini araştırmışlardır. Dikarboksilik asit ön işlemi ile fermente edilebilen şeker eldesinde en önemli faktörün pH olduğunu belirlemişlerdir. Reaksiyon sıcaklığını takiben de diğer önemli faktörün reaksiyon süresi olduğunu tespit etmişlerdir. Ayrıca, maleik asit ile ön işlemin etkili olduğu bulunmuş ve yaklaşık % 96 glikoz verimi elde edilmiştir. Okzalik asitin ise maleik asite göre daha az etkili olduğu saptanmış, okzalik asitle işlenmiş biyokütlenin glikoz veriminin % 72,70-88,64 arasında olduğu tespit edilmiştir. Dikarboksilik asit ile ön işlem uygulanmış materyalde; enzimatik hidroliz veriminin asit konsantrasyonu ve reaksiyon süresi ile arttığı belirlenmiştir

Akçaağaç odunu üzerine yapılan bir çalışmada, akçaağaç odununa seyreltik okzalik asit ön işlemi uygulanmış, ön işlem ve sonrasında enzimatik hidroliz performansı; hidrotermal, seyreltik hidroklorik ve sülfürik asit ön- işlem sonuçları ile karşılaştırılmıştır. 180 °C ve 200 °C sıcaklıkta hidrotermal ön işlem, % 0,5 ve % 2 asit konsantrasyonlarında (160 °C) seyreltik asit ön işlemi uygulanmıştır. En yüksek toplam ksiloz verimine (% 84) 160 °C'de hem % 0,5' lik okzalik hem de sülfürik asit ön işlemi ile ulaşılmıştır. 200 °C'de hidrotermal ön işlem ve 140 °C'de % 0,5 hidroklorik asit ön işlemi sonrası verim ~81% olarak bulunmuştur. Ön işlem sıcaklıkları ve asit konsantrasyonları farklılık göstermesine rağmen, bu dört ön işlemin de lignoselülozik yapıyı bozmakta etkili olduğu tespit edilmiştir (Zhang vd. 2013).

Qin vd. (2012)'nin yaptığı çalışmada, mısır koçanı, 50 ve 90 mM asit konsantrasyonlarında sülfürik, okzalik, sitrik, tartarik ve asetik asite 130, 150, 170, 190 °C sıcaklıklarda 30 dk ön işleme tabi tutulmuştur. 130 °C' de 50 mM asit uygulamasında, sülfürik asit ön işleminde ksilan geri kazanımı % 83,2 bulunmuş bu değer aynı koşullarda organik asit ile yapılan ön işlem sonucunda ise %90'dan fazla olduğu görülmüştür. 150 °C' de sülfürik asitle ön işlemde ksiloz veriminin %43,4 olduğu tespit edilmiş ve inorganik asitlerin ksilozun degradasyonuna sebep olduğu gösterilmiştir.

Başka bir çalışmada, hızlı büyüyen ve çok yıllık bir bitki olan *Saccharum* (*Saccharum spontaneum* L. ssp. *aegyptiacum*) kullanılmıştır. Okzalik asit ile ön işlem farklı sıcaklık (150-190 °C), süre (10-40 dk) ve okzalik asit konsantrasyonlarında (% 2-8 (w/w)

gerçekleştirilmiştir. Süre ve sıcaklığın kombine edildiği tek bir parametreyi veren şiddet faktörü (Severity Factor, SF)'nden yararlanılmış ve en yüksek toplam şeker verimine, 2,93 SF değeri ve % 6,79 okzalik asit (w/w) ile ulaşıldığı tespit edilmiştir. SF 2,93 değeri 158 °C ve 16 dk'yı ifade etmektedir. Bu koşullarda, 43,0 g/L ksiloz, 5,0 g/L glikoz ve 0,4 g/L arabinoz oluşumu gözlenmiştir (Scordia vd. 2010).

Mısır koçanı üzerinde yapılan bir diğer çalışmada maleik asit ve sülfürik asit varlığında hemiselüloz hidrolizi ve ksilozun bozunma kinetiği araştırılmıştır. Mısır koçanı, 200 mM maleik asit ile 170 °C'de 8, 10, 12 dk süre ile işlenmiş ve en iyi ksilan hidrolizinin ve en az furfural oluşumunun 8. dk' da olduğu görülmüştür. Bu optimal koşullarda yapılan ön işlem sonucunda, ksiloz veriminin % 95, (36,7 g/L ksiloz) ve furfural konsantrasyonunun 1,8 g/L olduğu tespit edilmiştir. Sülfürik asitte ise en iyi ksiloz veriminin % 68 (% 1,16 H₂SO₄, 179 °C 6,2 dk) olduğu tespit edilmiştir (Lu ve Mosier 2007).

3. MATERİYAL VE YÖNTEM

3.1 Materyal

Bu çalışmada, materyal olarak Ankara Üniversitesi, Kenan Evren Araştırma ve Uygulama Çiftliği'nden tedarik edilen buğday samanı kullanılmıştır. Buğday samanı, gözenek büyüklüğü 2 mm olan değirmende (Şimşek Laborteknik TD701, Ankara, Türkiye) öğütülmüştür. Samanın kompozisyon analizi NREL Laboratuvar Prosedürü NREL/TP-510-42618'e (Sluiter vd. 2008) göre belirlenmiş ve Çizelge 3.1'de verilmiştir. Samandaki kuru madde miktarı 105 °C'de 1 gün bekletilerek %89,8 olarak belirlenmiştir.

Çizelge 3.1 Samanın kompozisyonu (kuru madde bazında)

Samanın Kompozisyonu (%)	
Selüloz	34,11 ± 1,47
Ksilan	15,93 ± 1,07
Diğer şekerler	<3,00 ± 0,03
Klason Lignin	20,84 ± 0,05
Kül	7,16 ± 0,04

3.2 Yöntem

3.2.1 Ön işlem

Ön işlemde Merck firmasından temin edilen (>%99 saflıkta) organik asitler (maleik, süksinik, okzalik asit) kullanılmıştır. Öğütülen buğday saman örnekleri, 3 farklı sıcaklık (170, 190, 210 °C), asit konsantrasyonu (%1, %3, %5) ve sürede (10, 20, 30 dakika),



Şekil 3.1 Parr reaktörü (Model 4525, Parr, ABD)

Parr reaktöründe (Şekil 3.1, Model 4525, Parr, ABD) 120 rpm’de ön işleme tabi tutulmuştur. Kuru saman: organik asit oranı 1:10 (g:mL) olarak sabit tutulmuştur. Ön-ışlem sonrasında ise filtre yardımı ile sıvı kısımdan ayrılan biyokütlede kompozisyon analizleri (Sluiter vd. 2008) yapılmıştır.

3.2.2 Enzimatik hidroliz

Belirlenen koşullarda ön işlem uygulanmış buğday samanı örnekleri, enzimatik olarak hidrolize edilmiştir. Enzimatik hidroliz deneyleri NREL laboratuvar prosedürleri temel alınarak yapılmıştır (Selig vd. 2008). Öncelikli olarak, ön işleme tabi tutulan buğday samanının nemi, infrared nem tayini cihazı (HB43-S, Metter Toledo, Amerika) ile tespit edilmiştir. Sonrasında 5 g kuru madde içeren saman bir erlene alınarak, 5 mL sodyum sitrat tamponu (1 M, pH 4,5) eklenmiş, ilave edilecek enzim miktarı da göz önüne alınarak toplam ağırlık su ile 100 g’a tamamlanmıştır. Enzimatik hidroliz için hazırlanan erlenler 121°C’de 20 dk otoklavlanmıştır. Otoklav sonrasında oda sıcaklığına gelen erlenlere dozu 30 FPU/g kuru saman olacak şekilde selüloz enzimi (Accelerase

1500, Genencor Int., Palo Alto, CA (enzim aktivitesi: 44 FPU/ mL)) eklenip, karıştırmalı inkübatöre konulmuştur. 50 °C sıcaklıkta, 150 rpm çalkalama hızında, 72 saat boyunca enzimatik hidroliz işlemi yapılmıştır. 4, 24, 48 ve 72. saatlerde örnekler alınmıştır. Alınan örnekler 4°C’de 6000 devirde 10 dk boyunca santrifüjlenerek, süpernatant kısmı 0,45 µm gözenek çaplı filtreler ile filtre edilmiş ve HPLC analizleri için -18 °C’deki derin dondurucuda saklanmıştır. Enzimatik hidroliz denemeleri, 2 tekerrürlü olarak gerçekleştirilmiştir.

Hidroliz verimliği aşağıdaki Eşitlik 1 ve 2 kullanılarak hesaplanmıştır.

$$\text{Glikoz verimi (\%)} = \frac{\text{Enzimatik hidroliz ile elde edilen glikoz miktarı g} \times 0,9}{\text{Biyokütledeki glukon miktarı g}} \times 100 \quad (1)$$

$$\text{Ksiloz verimi (\%)} = \frac{\text{Enzimatik hidroliz ile elde edilen ksiloz miktarı g} \times 0,88}{\text{Biyokütledeki ksilan miktarı g}} \times 100 \quad (2)$$

(Not: Formüllerdeki 0,9 ve 0,88, glikoz ve ksilozu, glukon ve ksilan eşdeğeri olarak yazabilmek için gerekli olan dönüşüm çarpanlarıdır.)

3.2.3 Ön işlem parametrelerinin optimizasyonu

Her asit için yanıt yüzey metodu (RSM) kullanılarak proses parametreleri optimize edilmiştir. Sıcaklık, asit konsantrasyonu ve ön-işlem süresi bağımsız değişken; glikoz verimi ve ksiloz verimi ise bağımlı değişken olarak seçilmiştir.

Box-Behnken tasarımı ile optimizasyon yapılmış ve deney matrisi Çizelge 3.2 ’de verilmiştir. Bağımlı değişkenler için ikinci dereceden aşağıdaki denklem kullanılarak elde edilen verilerin çoklu regresyon analizi yapılmıştır.

$$Y = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_3 X_3 + \beta_{11} X_1^2 + \beta_{22} X_2^2 + \beta_{33} X_3^2 + \beta_{12} X_1 X_2 + \beta_{13} X_1 X_3 + \beta_{23} X_2 X_3 \quad (3)$$

Eşitlik 3’te X_i ’ler bağımsız değişkenleri (X_1 sıcaklık (°C), X_2 asit konsantrasyonu (%), X_3 süre (dak.), β_i ’ler model sabitlerini, ve Y ’ler bağımlı değişkenleri (glikoz verimi (%) ve ksiloz verimi (%)) göstermektedir.

Çizelge 3.2 Yanıt Yüzey Yöntemi ile optimizasyonda kullanılan değişkenler

Deney No	Kodlar			Değişkenler		
	Sıcaklık	Asit Konsantrasyonu	Süre (dak)	Sıcaklık (°C)	Asit Konsantrasyonu (%)	Süre (dak)
1	0	-1	-1	190	1	10
2	0	1	1	190	5	30
3	0	0	0	190	3	20
4	-1	0	-1	170	3	10
5	1	-1	0	210	1	20
6	1	1	0	210	5	20
7	-1	-1	1	170	1	30
8	1	0	-1	210	3	10
9	0	1	-1	190	5	10
10	-1	-1	0	170	1	20
11	1	0	1	210	3	30
12	-1	1	0	170	5	20
13	0	0	0	190	3	20
14	-1	0	1	170	3	30
15	0	0	0	190	3	20

3.2.4 Fermentasyon

RSM metodu ile enzimatik hidroliz deneylerinde elde edilen sonuçlarda maksimum şeker verimliliği sağlayacak olan proses koşulları belirlenmiştir. Bu koşullarda işlenen saman örnekleri fermentasyon deneylerine tabi tutulmuş ve farklı organik asitlerin (maleik, süksinik, okzalik asit) etanol verimliliği üzerine etkisi incelenmiştir.

Eş zamanlı sakkarifikasyon ve fermantasyon (SSF) deneyleri NREL laboratuvar prosedürleri doğrultusunda yapılmıştır (Dowe vd. 2001). SSF deneylerinde mutant bir maya olan *Saccharomyces cerevisiae* (ATCC 20618) kullanılmıştır. Bu maya ksilozu da fermente ederek etanole çevirebilen mutant bir mayadır. Fermantasyon işlemi % 5 (w/w) kuru madde, 30 FPU/g kuru saman olacak şekilde selüloz enzimi (Accelerase 1500, Genencor Int., Palo Alto, CA (enzim aktivitesi: 44 FPU/ mL)) % 1 (w/v) maya ekstraktı, 0,05 M sitrat tamponu (pH 4.8) ve % 2 (w/v) pepton, içeren besi ortamında gerçekleştirilmiştir. Besiyeri için 10 kat seyreltilmiş YM Broth kullanılmış ve 1.0 M sitrat tamponu (pH 4.8) ile ön işleme tabi tutulmuş biyokütle, ayrı bir şekilde 121 °C’de 30 dakika otoklavda sterilize edilmiştir. α -selüloz ile kontrol denemeleri yapılmıştır. 28 °C’de, YM Broth besiyerinde aktifleştirilen 24 saatlik maya kültürleri (*Saccharomyces cerevisiae* ATCC 20618), Thoma lamı ile sayılarak, fermantasyon besiyerine yaklaşık 10^7 hücre/mL seviyesinde inokule edilmiştir. Fermantasyon deneyleri karıştırılmalı inkübatörde 35 °C’de, 130 rpm’de, 96 saat boyunca devam etmiş ve deney esnasında 4, 24, 48, 72, 96. saatlerde örnekler alınmıştır. Alınan örnekler 4°C’de 6000 devirde 10 dk boyunca santrifüjlenerek süpernatantları ependorf tüplerine aktarılmış ve analizlere kadar -18 °C’de depolanmıştır.

3.2.5 Analizler

3.2.5.1 Ön işlem sonrası biyokütlede kompozisyon analizi

Ön işlem sonrası depolanan saman örneklerinde kompozisyon analizi yapılması amacıyla öncelikle %72’lik H₂SO₄ çözeltisi hazırlanmıştır. Bunun için 34 mL saf su ile 54,3 ml H₂SO₄ (98%) balon jojede karıştırılmıştır. Daha sonra SRS (sugar recovery

standards, şeker standartları) çözeltisi hazırlanmıştır. SRS standartları, kompozisyon analizleri sırasında ne kadar şekerin degrade olduğunu tespit etmek için kullanılmaktadır. Bu amaçla 200 mg glikoz, 500 mg ksiloz, 100 mg arabinoz ve 50 mg mannoz 50 mL'lik balon jojeye aktarılarak hacim saf suyla 50 mL'ye tamamlanmıştır. SRS (sugar recovery standards, şeker standartları) çözeltisinden 10'ar mL basınç tüplerine alınmış ve üzerine 348 µL %72'lik H₂SO₄ ilave edilmiştir. Bu şekilde hazırlanan SRS çözeltileri kapakları sıkıca kapatılarak otoklavlanmak üzere hazır hale getirilmiştir.

SRS standartları ile eş zamanlı olarak, kompozisyonu belirlenecek olan 300 mg saman örneği 2 tekerrürlü olacak şekilde basınç tüplerine aktarılmıştır. Üzerlerine 3 mL %72'lik H₂SO₄ çözeltisi ilave edilmiştir. Tüpler beher içerisinde 30 °C'de su banyosunda 1 saat boyunca teflon karıştırma çubukları ile karıştırılarak bekletilmiştir. Karıştırma işlemi ilk yarım saatte 5 dakikada bir, sonraki yarım saatte 10 dakikada bir yapılmış ve samanın topaklanmamasına dikkat edilmiştir. 1 saat işlem süresi tamamlanınca örnekler su banyosundan çıkarılmış ve üzerlerine 84 mL saf su ilave edilmiştir. Kapakları sıkıca kapatılan örnekler ve hazırlanan SRS çözeltileri 121 °C'de 1 saat otoklavlanmıştır. Otoklavlama işlemi sonrası örnekler ve SRS çözeltileri soğuyana kadar beklenmiş ve su trombu vasıtasıyla süzölmüştür. İlk süzölen kısım 50 mL'lik plastik tüplere alınmış ve daha sonra tüplerin içi, kapakları yıkanarak tüm lignin filtre kağıdının üzerine toplanmıştır. Filtre kağıtları darası alınmış petrilere konularak 105 °C'de etüvde kurutulmuştur. Lignin miktarı aşağıdaki Eşitlik 4'de gösterildiği şekilde hesaplanmıştır:

$$\% \text{ Lignin miktarı} = 100 \times \frac{\text{Etüvden çıkan ligninli filtre kağıdı ağırlığı (g)} - \text{Filtre kağıdı ağırlığı (g)}}{\text{Başlangıçta tartılan örnek miktarı (g)}} \quad (4)$$

İlk süzölen sıvı kısımdan örnekler alınarak içerisindeki glikoz ve ksiloz miktarları HPLC ile belirlenmiş ve NREL prosedüründe (Sluiter vd. 2008) anlatıldığı şekilde, saman örneklerindeki selüloz ve ksilan miktarları hesaplanmıştır.

3.2.5.2 HPLC analizleri

Biyokütlenin kompozisyonunda ve enzimatik hidroliz işlemi sırasında elde edilen örneklerdeki şeker analizleri, Agilent 1260 Infinity HPLC sistemi ile

gerçekleştirilmiştir. HPLC dedektörü RID dedektör olup sıcaklığı 40°C'ye ayarlanmıştır. Glikoz ve ksiloz 80°C'de Bio-Rad Aminex HPX-87P kolon kullanılarak tespit edilmiştir. Mobil faz olarak, 0.6 mL/dk akış hızında su kullanılmıştır. Bio-Rad Aminex HPX-87P kolonda analiz edilecek örnekler eğer asidik ise (kompozisyon analizi örnekleri), CaCO₃ ile pH 5-6'ya nötralize edilmiş ve 1 gece boyunca +4 °C'de bekletildikten sonra, 0.45 µm'lik filtreler kullanılarak filtre edilip HPLC'ye enjekte edilmiştir. Enjeksiyon hacmi 10 µl'dir.

3.2.5.3 Fermentasyon sonrası gaz kromatografisinde etanol analizi

Fermentasyonu sonrası alınan örneklerde etil alkol tayini yapılmıştır (Templeton 1994). Etanol konsantrasyonu alev iyonizasyonu dedektörü ile çalışan gaz kromatografisi (Shimadzu, GC 14B, Japonya) kullanılarak tespit edilmiştir. 1 µL örnek Chromosorb 101 (80/100 mesh) cam kolona (2 mm çapında ve 2 m uzunluğunda) enjekte edilmiştir. Enjeksiyon haznesi ve alev iyonizasyonu dedektörü sıcaklıkları sırasıyla 220 ve 250 °C olarak sabit tutulmuştur. Kolon sıcaklığı 160 °C'dir ve taşıyıcı gaz olarak azot kullanılmıştır.

Etanol verimliliği, işlenmiş örneklerdeki toplam şeker miktarı göz önünde bulundurularak aşağıdaki Eşitlik 5 kullanılarak hesaplanmıştır.

$$\text{Etanol verimi (\%)} = \frac{\text{Üretilen etanol miktarı g}}{\text{Fermentasyondaki toplam şeker miktarı g} \times 0,511} \times 100 \quad (5)$$

(Not: Fermentasyona giren toplam şeker miktarında, işlenmiş biyokütledeki glikoz ve ksiloz miktarları (kullanılan mayanın her ikisini de fermente edebildiğinden) göz önüne alınmıştır. Formüldeki 0,511 değeri, mayanın stokiyometrik biyokimyasına bağlı olan şekerden etanole dönüşüm faktörüdür.)

3.2.6 İstatistiksel analiz

Bulgulara yönelik istatistiksel analizler MINITAB 15.1.1.0 paket programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

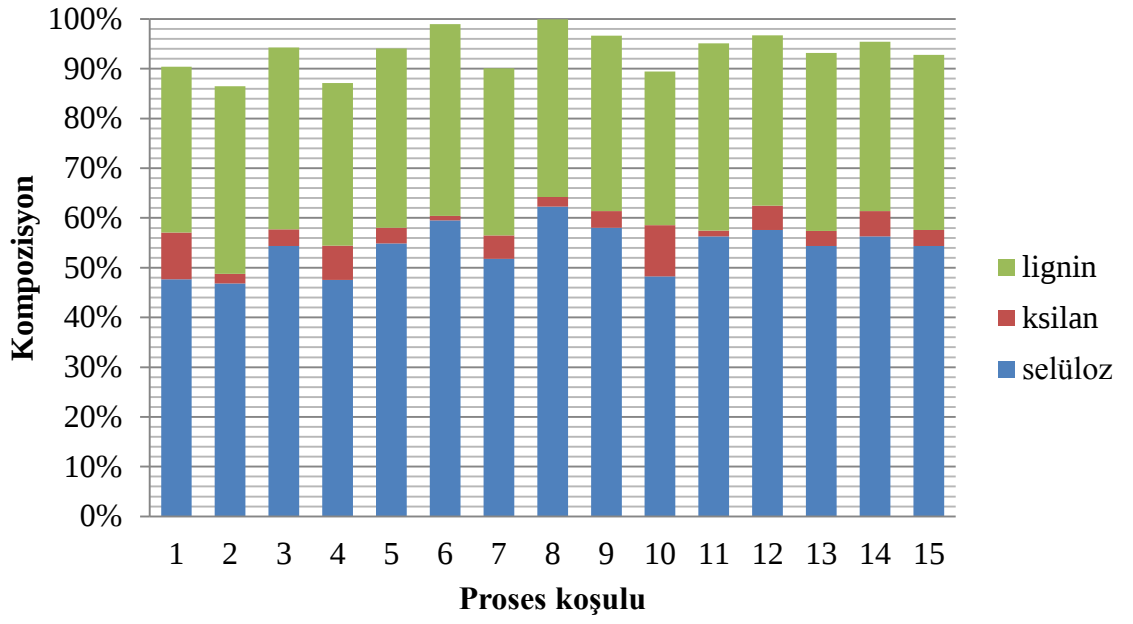
Çalışmamızda saman örnekleri, 3 farklı organik asit ile (maleik asit, süksinik asit ve okzalik asit) farklı sıcaklık (170, 190, 210°C), asit konsantrasyonu (%1, %3, %5) ve sürelerde (10, 20, 30 dakika) ön işleme tabi tutulmuştur. Öncelikli olarak bu ön işlem parametrelerinin samanın kompozisyonuna, glikoz ve ksiloz verimine etkileri incelenmiştir. Daha sonra ön işlem parametreleri optimize edilerek en yüksek glikoz ve ksiloz verimini sağlayan proses koşulları belirlenmiştir. Bu koşullarda işlenmiş saman fermente edilmiş ve farklı asitlerle işlenmiş samanlar etanol verimlilikleri açısından karşılaştırılmıştır.

4.1 Maleik Asit Ön İşlemi

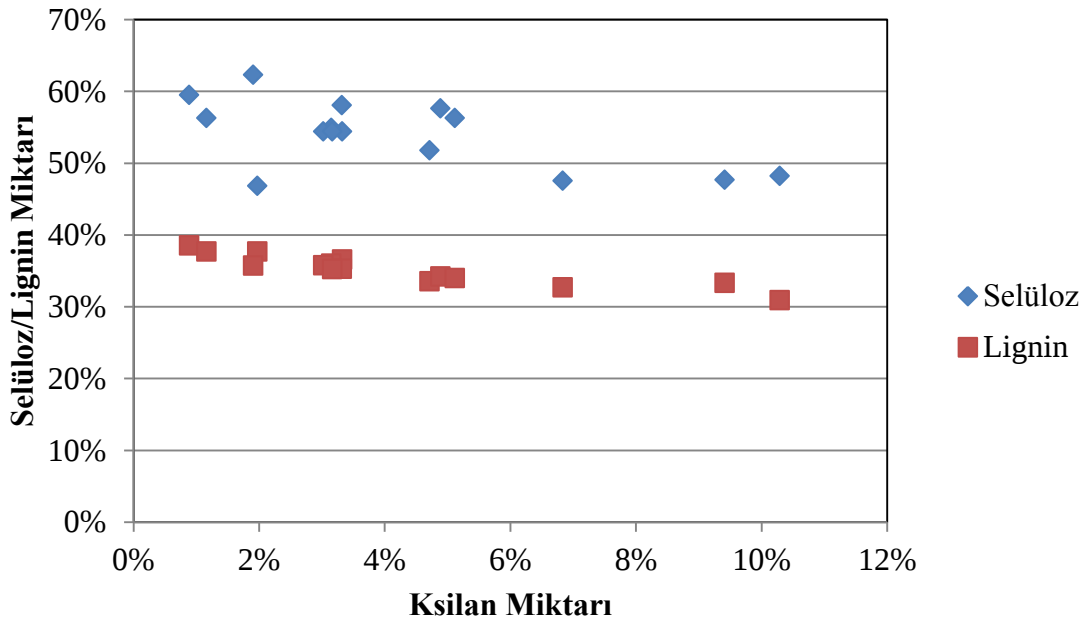
4.1.1 Maleik asit ön işleminin samanın kompozisyonu üzerine etkisi

Saman örnekleri, maleik asit ile farklı sıcaklık (170, 190, 210°C), asit konsantrasyonu (%1, %3, %5) ve sürelerde (10, 20, 30 dakika) ön işleme tabi tutulmuş ve kompozisyonundaki değişimler gözlemlenmiştir (Şekil 4.1). Dikarboksilik asitlerin, selülozu parçalamadığı ve degradasyona uğratmadığı bilinmektedir (Kootstra vd. 2009b, Lee vd. 2010). Bu nedenle, organik asitlerle ön işlemlerde hemiselüloz ve lignin içeriğindeki değişim daha çok önem taşımaktadır.

Ön işlem görmemiş samandaki ksilan miktarı % 15,93 ve lignin miktarı %20,84'tür (Çizelge 3.1). Maleik asit ile farklı koşullarda ön işleme tabi tutulmuş saman örneklerinde ksilan miktarının % 0,88-10,29 arasında olduğu tespit edilmiştir. Bu sonuçlar, ksilanın ön-işlem sırasında hidrolize olarak sıvı fazda çözündüğünü göstermektedir. Ksiloz gibi pentozların, sıcaklık ve asite karşı duyarlı olduğu ve kolaylıkla hidrolize olduğu bilinmektedir (Palmqvist ve Hahn-Hagerdal 2000). Ön işleme tabi tutulmuş saman örneklerinin lignin içeriğinin ise % 31- 39 arasında olduğu bulunmuştur. Hammaddeye oranla lignin içeriğindeki bu artış, örneklerden ksilanın ayrıştırılmasından kaynaklanmaktadır. Bir diğer deyişle, ksilan biyokütleden uzaklaştırıldığı için (hidrolize olarak sıvı faza geçtiği için) lignin miktarı artmış gibi gözükmektedir.



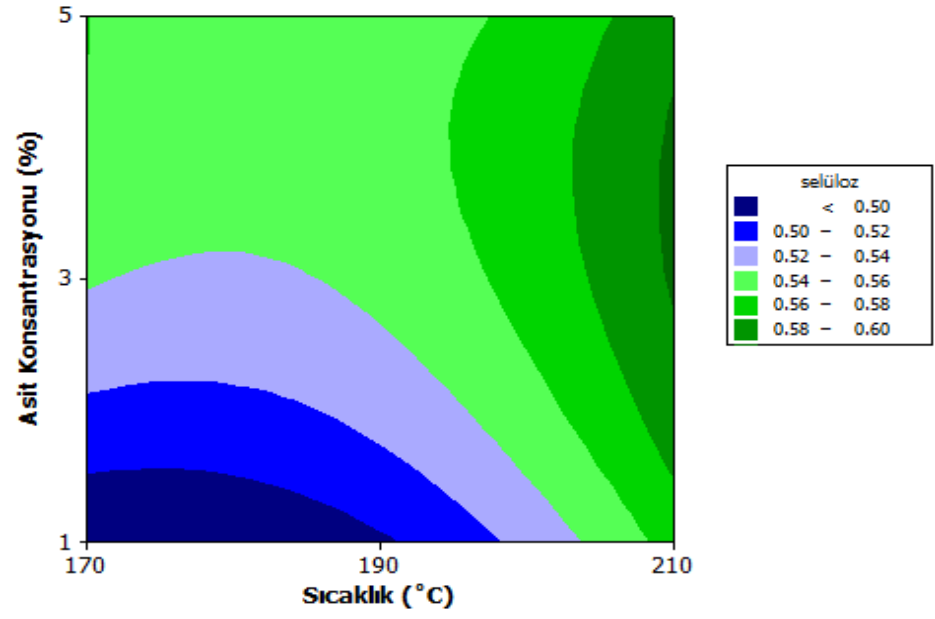
Şekil 4.1 Farklı ön işlem koşullarında maleik asitle işlenmiş saman örneklerinin kompozisyonu (her deney numarası farklı proses koşulunu göstermektedir ve bu koşullar Çizelge 3.2’ de belirtilmiştir)



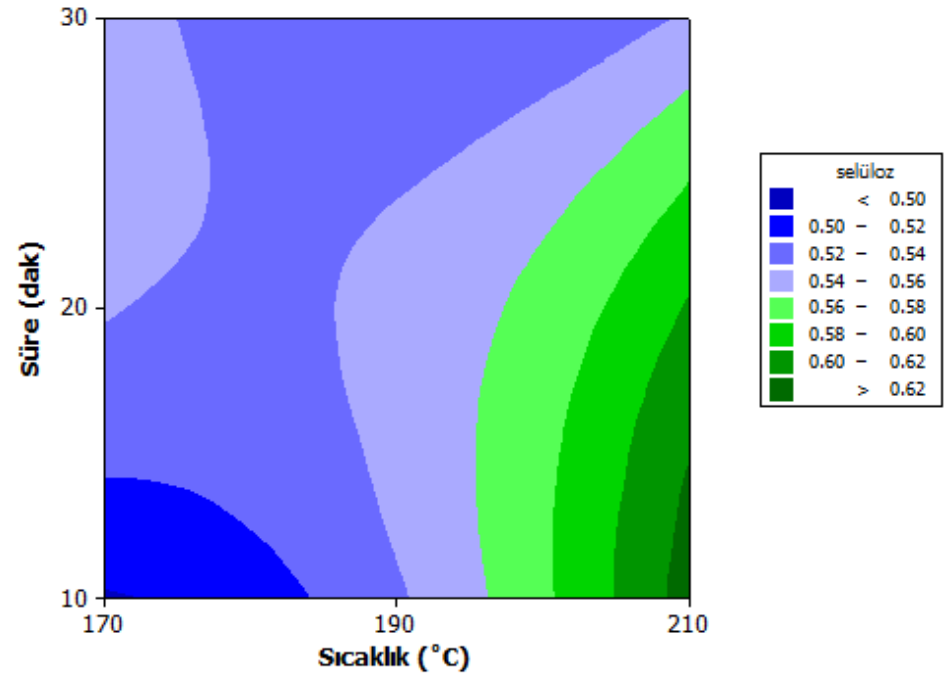
Şekil 4.2 Farklı ön işlem koşullarında maleik asitle işlenmiş saman örneklerinin selüloz ve lignin içeriklerinin (%) örnekteki ksılan miktarı (%) ile değişimi

Ön işleme tabi tutulmuş örneklerdeki ksilan miktarındaki azalışın, selüloz ve lignin miktarında artışa sebep olduğu Şekil 4.2’de de gözükmemektedir. Bu tarz sonuçlar diğer araştırmacılar tarafından da tespit edilmiştir. Yapılan bir çalışmada, yumuşak ağaç örneği organik asitler ile farklı koşullarda ön işleme tabi tutulmuş ve kompozisyonundaki değişim gözlemlenmiştir. Lignin içeriğinin % 32,36’dan % 46,61’e kadar arttığı ve bunun karbonhidrat degradasyonu ile bağlantılı şekilde gerçekleştiği tespit edilmiştir (Lim ve Lee 2013). Bu eğilim, farklı lignoselülozik biyokütlelerin, asit ile ön işlem yapıldığı çalışmalarda da rapor edilmiştir (Ohgren vd. 2007, Qin vd. 2012). Bahsi geçen sebeplerden, örneklerdeki selüloz miktarında da artış olduğu gözlemlenmiştir.

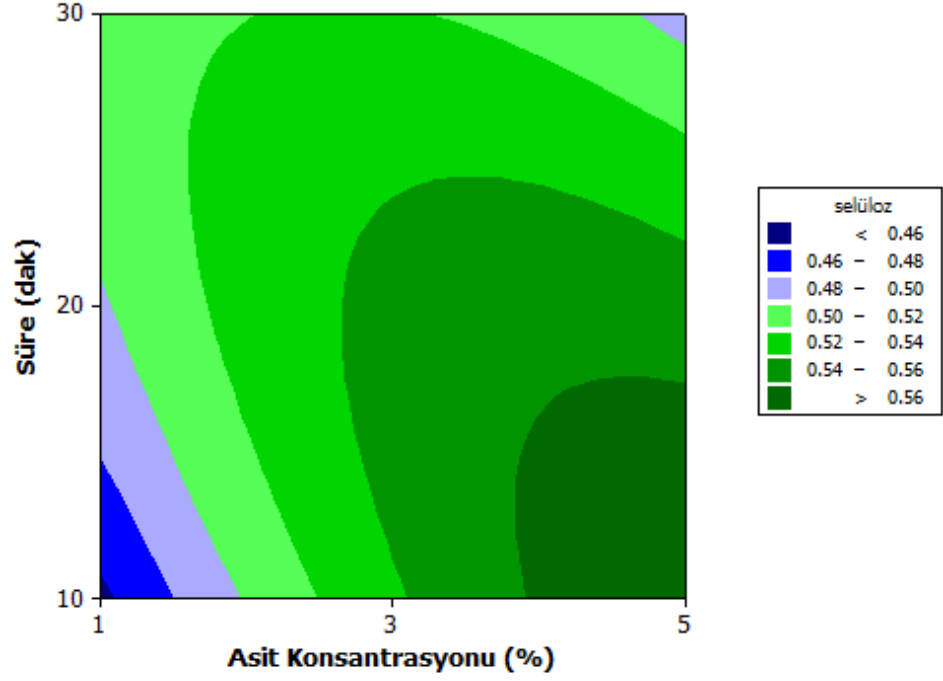
Sonuçlar istatistiksel olarak incelendiğinde, ön işlem sıcaklığının ve asit konsantrasyonunun samanın selüloz içeriğinde önemli değişimlere sebep olduğu ($p < 0,05$) bulunmuştur. Ön işlem süresi ise istatistiksel açıdan anlamlı değişimlere sebep olmamıştır. Tüm proses parametrelerinin, örneklerdeki ksilan ve lignin miktarları açısından istatistiksel olarak önemli olduğu tespit edilmiştir. Bağımsız proses parametreleri olarak seçilen ön-işlem süresi, sıcaklığı ve asit konsantrasyonunun, samanın selüloz, ksilan ve lignin içeriğine etkileri kontur grafikleri şeklinde Şekil 4.3 - 4.11’de gösterilmiştir. Şekil 4.3 ve 4.4 incelendiğinde sıcaklık artışının her koşulda, örneklerde daha yüksek selüloz miktarına neden olduğu anlaşılmaktadır. Bu da ksilanın örneklerden yüksek sıcaklıklarda daha çok ayrıştırıldığı bir göstergesidir. Sabit sıcaklık ve ön-işlem süresinde, maleik asit konsantrasyonunun %1’den %3’e çıkarılması selüloz miktarında %4,5 artışa neden olurken, %3’den %5’e çıkarılması önemli bir fark yaratmamıştır. Ksilan konsantrasyonları incelendiğinde ise sıcaklık, asit konsantrasyonu ve ön-işlem süresindeki artışın örneklerdeki ksilanı önemli ölçüde azalttığı tespit edilmiştir. Ekstrem ön-işlem koşullarında ksilanın neredeyse tamamının sıvı fazda çözündüğü belirlenmiştir. Bu sonuca paralel olarak, ön-işlem koşullarının şiddetinin artması lignin konsantrasyonunun artmasına neden olmuştur.



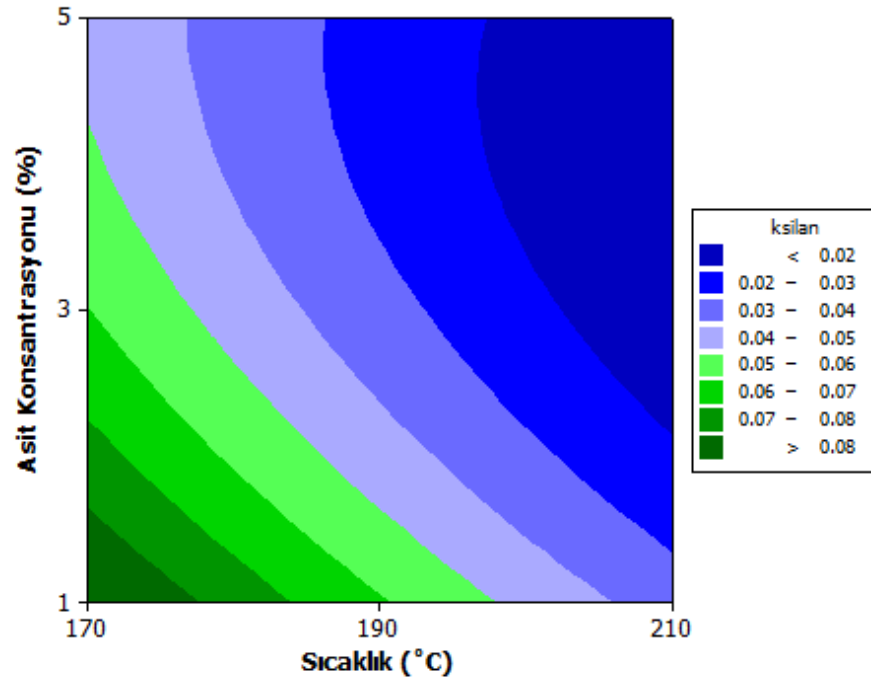
Şekil 4.3 Farklı maleik asit konsantrasyonu (%) ve sıcaklık (°C) değerlerinin samanın selüloz içeriğine (g selüloz/g kuru saman) etkisi



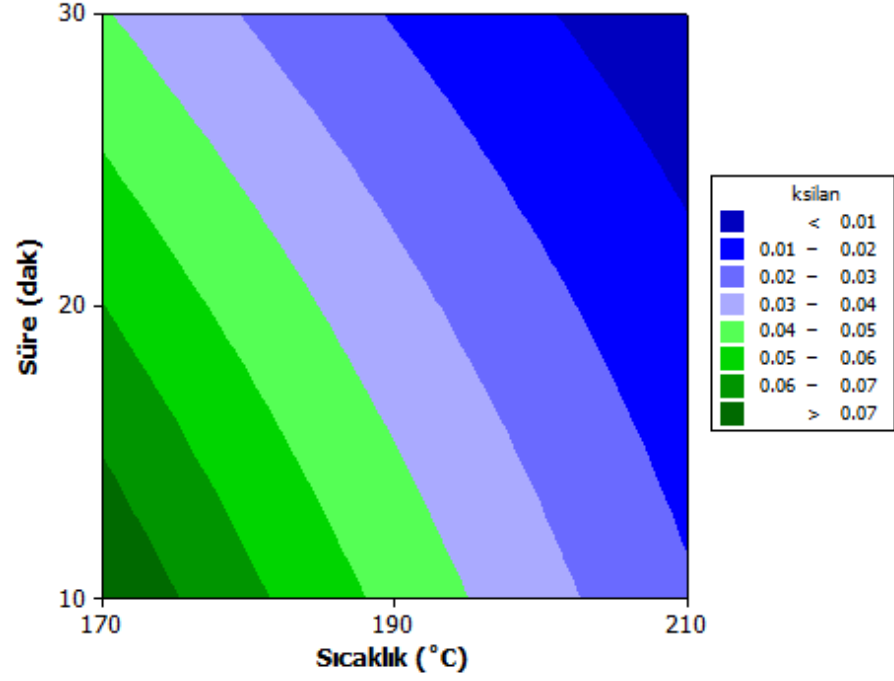
Şekil 4.4 Farklı ön işlem süresi (dak) ve sıcaklık (°C) değerlerinin samanın selüloz içeriğine (g selüloz/g kuru saman) etkisi



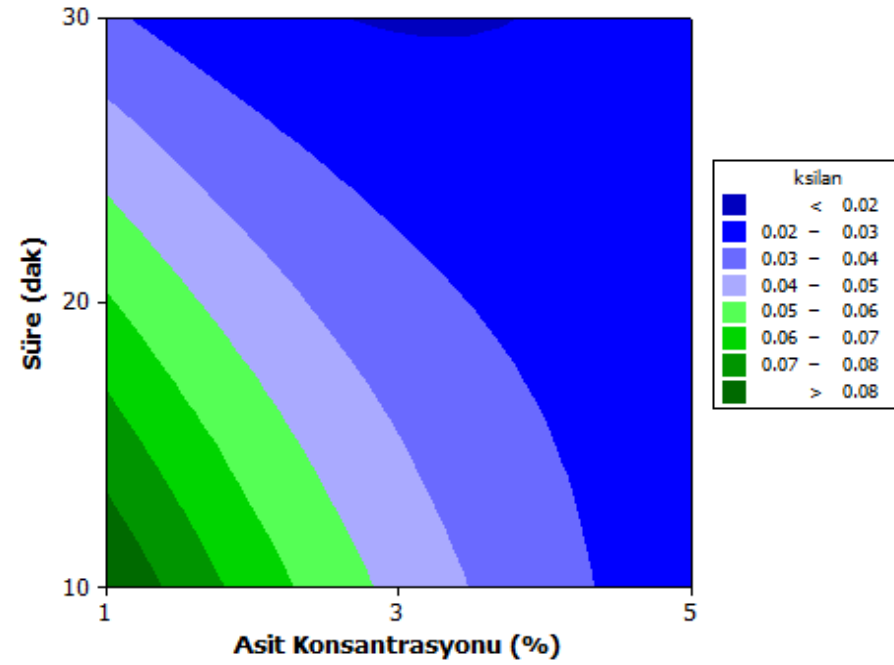
Şekil 4.5 Farklı ön işlem süresi (dak) ve maleik asit konsantrasyonu (%) değerlerinin samanın selüloz içeriğine (g selüloz/g kuru saman) etkisi



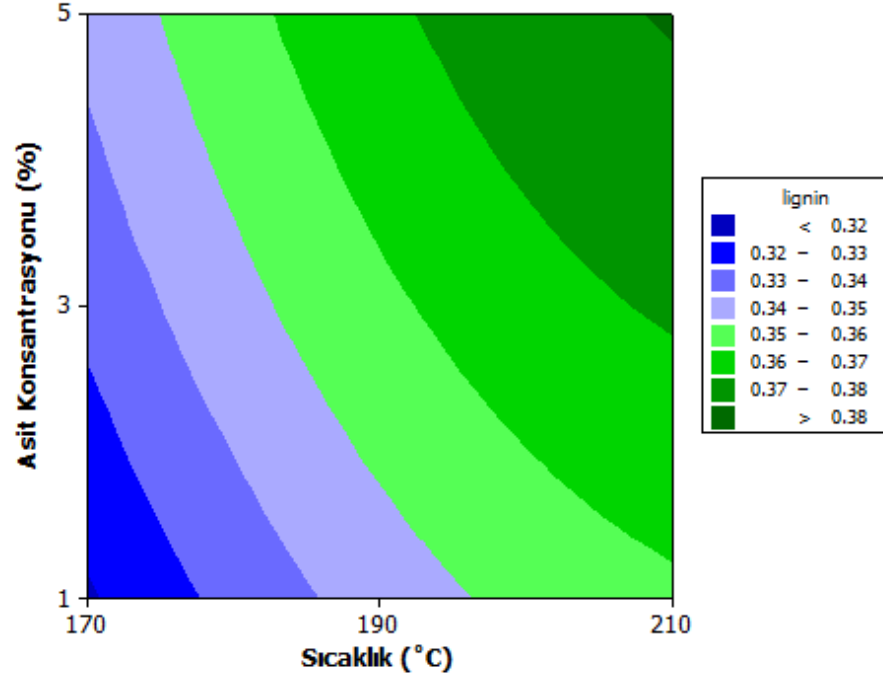
Şekil 4.6 Farklı maleik asit konsantrasyonu (%) ve sıcaklık (°C) değerlerinin samanın ksilan içeriğine (g ksilan/g kuru saman) etkisi



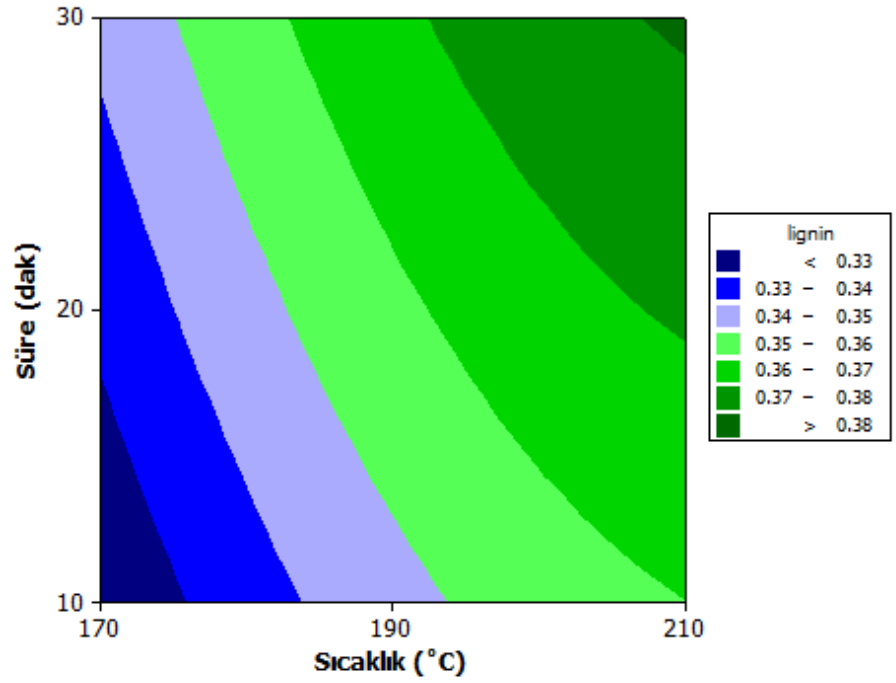
Şekil 4.7 Farklı ön işlem süresi (dak) ve sıcaklık (°C) değerlerinin samanın ksilan içeriğine (g ksilan/g kuru saman) etkisi



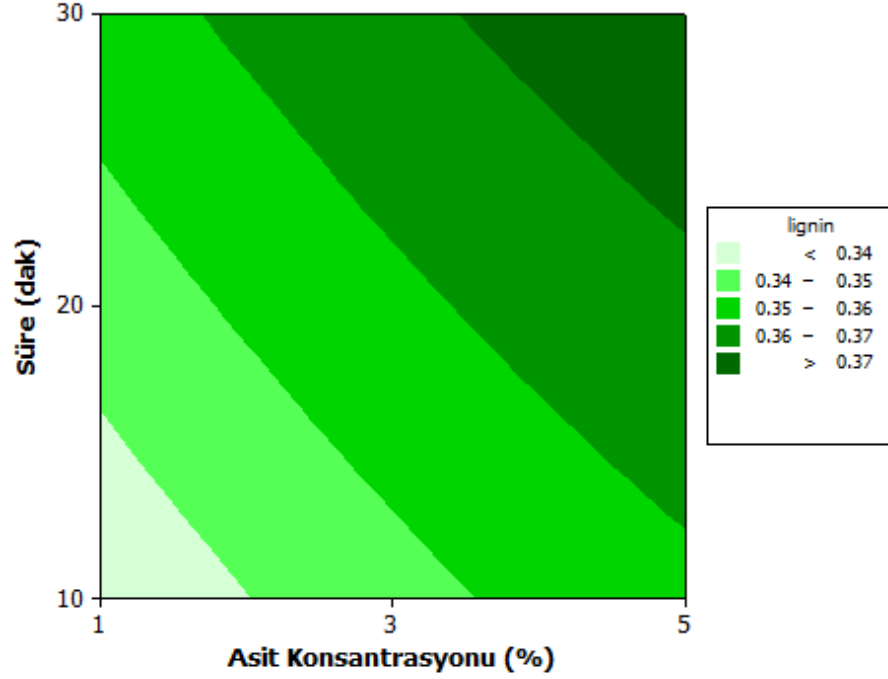
Şekil 4.8 Farklı ön işlem süresi (dak) ve maleik asit konsantrasyonu (%) değerlerinin samanın ksilan içeriğine (g ksilan/g kuru saman) etkisi



Şekil 4.9 Farklı maleik asit konsantrasyonu (%) ve sıcaklık (°C) değerlerinin samanın lignin içeriğine (g lignin/g kuru saman) etkisi



Şekil 4.10 Farklı ön işlem süresi (dak) ve sıcaklık (°C) değerlerinin samanın lignin içeriğine (g lignin/g kuru saman) etkisi



Şekil 4.11 Farklı ön işlem süresi (dak) ve maleik asit konsantrasyonu (%) değerlerinin samanın lignin içeriğine (g lignin/g kuru saman) etkisi

4.1.2 Maleik asit ön işleminin samanın enzimatik hidrolizi aşamasındaki glikoz ve ksiloz verimlilikleri üzerine etkisi

Ön-işlemden sonra, saman örneklerinde enzimatik hidroliz deneyleri yapılmış ve yanıt yüzey metodu kullanılarak; proses parametreleri olarak seçilen, ön-işlem sıcaklığının, süresinin ve asit konsantrasyonunun samanın glikoz ve ksiloz verimlilikleri üzerine etkisi tespit edilmiştir. Minitab programı ile regresyon analizi yapılarak ikinci derece denklemler elde edilip Çizelge 4.1’de verilmiştir. X_1 sıcaklık ($^{\circ}\text{C}$), X_2 asit konsantrasyonu (%) ve X_3 ön-işlem süresi (dak) olup bağımsız değişkenleri ifade eder. Y_1 glikoz verimi (%) ve Y_2 ksiloz verimi (%) olup bağımlı değişkenlerdir. Bulunan denklemlerin belirleme katsayıları (r^2) da aynı çizelgede gösterilmiştir. RSM modellerinde r^2 ’nin en az %80 olması beklenir. Bu durum göz önüne alındığında yanıt değişkenleri için bulunan modellerin deneysel verilerle uyum sağladığı söylenebilir (Çizelge 4.1).

Çizelge 4.1 Maleik asit için regresyon eşitlikleri

Bağımlı Değişkenler	Regresyon Denklemleri	r^2
Glikoz verimi (%)	$Y_1 = 0,95 + 0,20 \cdot X_1 + 0,051X_2 + 0,15 \cdot X_3 - 0,19 \cdot X_1^2 - 0,0028X_2^2 - 0,057X_3^2 - 0,097 \cdot X_1X_2 - 0,12 \cdot X_1X_3 - 0,12 \cdot X_2X_3$	0,97
Ksiloz verimi (%)	$Y_2 = 0,84 + 0,17 \cdot X_1 + 0,056X_2 + 0,13 \cdot X_3 - 0,17 \cdot X_1^2 + 0,018X_2^2 - 0,097X_3^2 - 0,15 \cdot X_1X_2 - 0,25 \cdot X_1X_3 - 0,17 \cdot X_2X_3$	0,96

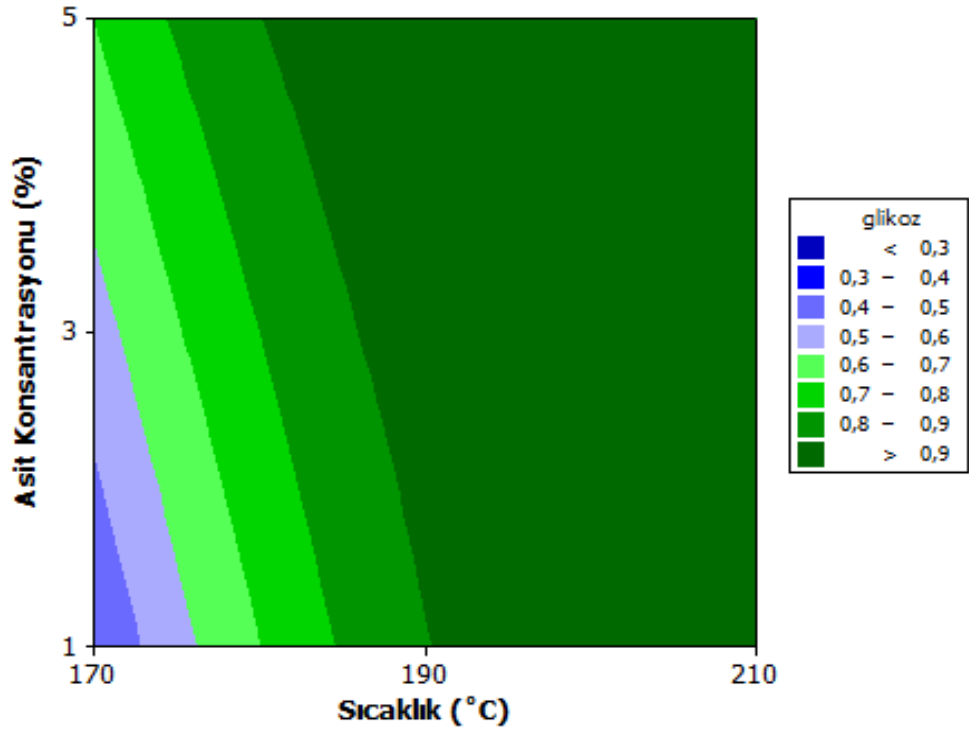
Üzerinde işaret bulunmayan bağımsız değişkenler istatistiksel olarak önemsizdir.

* istatistiksel olarak önemi belirtir ($p \leq 0,05$)

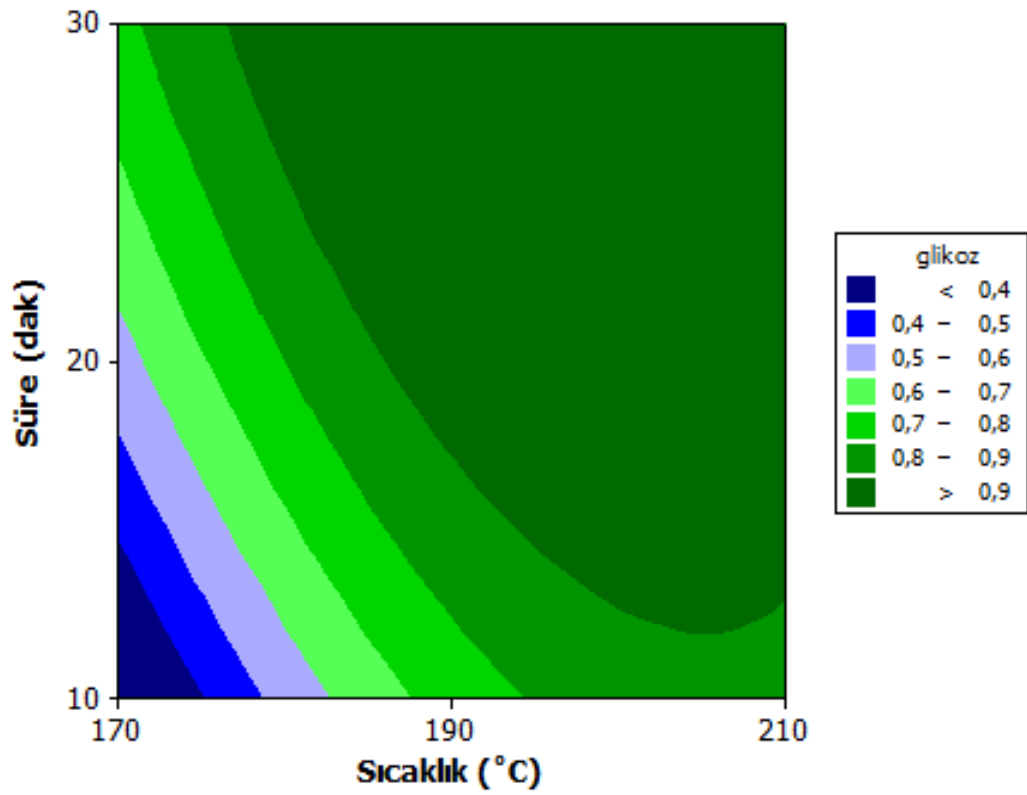
X_1 (°C): ön işlem sıcaklığı, X_2 (%): asit konsantrasyonu, X_3 (dak): ön-işlem süresi

Y_1 (%): glikoz verimi, Y_2 (%): ksiloz verimi

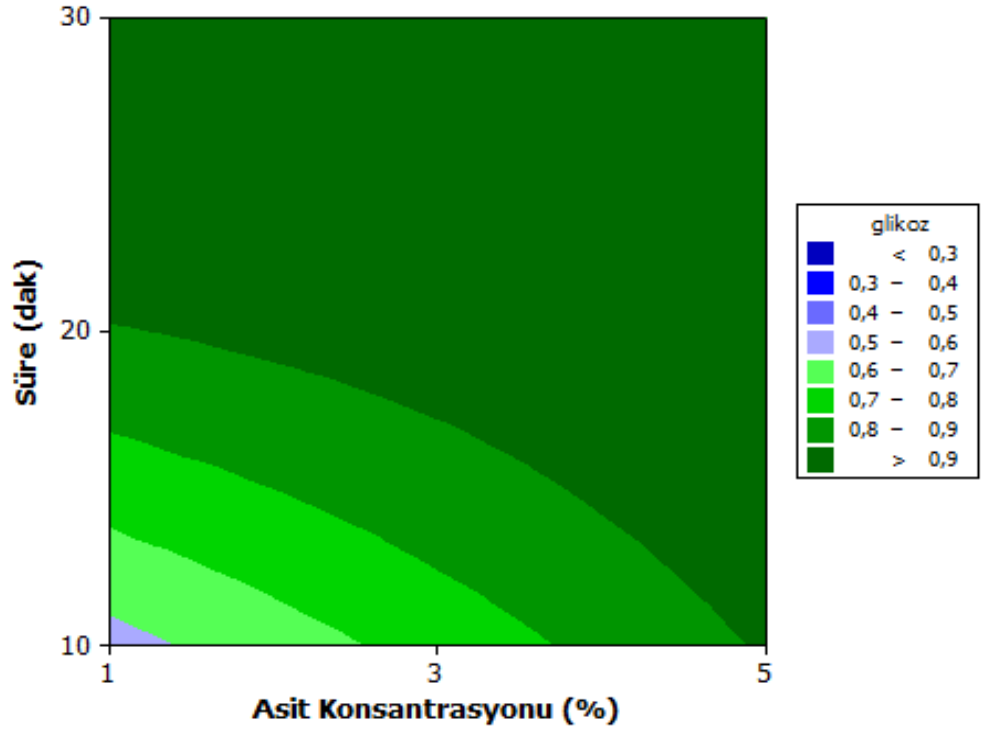
Samanın enzimatik hidrolizle elde edilen glikoz ve ksiloz verimi üzerine; maleik asit konsantrasyonu, sıcaklık, ve ön-işlem süresinin etkileri Şekil 4.12-4.17’de verilmiştir. Glikoz verimi üzerine istatistiksel olarak en önemli parametrelerin ön-işlem süresi ve sıcaklığı olduğu regresyon eşitlikleri incelenerek görülmüştür (Çizelge 4.1). Maleik asit konsantrasyonunun ise glikoz verimi üzerine istatistiksel açıdan önemli bir etkisi olmadığı belirlenmiştir. Regresyon denkleminde, ön işlem sıcaklığının ve süresinin glikoz verimine etkisinin pozitif olduğu görülmektedir. Bu da ön-işlem sıcaklığının ve ön-işlem süresinin artması ile glikoz veriminin artacağını göstermektedir. Şekil 4.12 ve 4.14’de görüldüğü gibi maleik asit konsantrasyonu sabit tutulduğunda, ön-işlem sıcaklığı veya süresindeki artış glikoz veriminde artışı sağlamıştır. Örneğin, reaktörde 20 dakika süre ile %1 maleik asitle işlenen samanın ön-işlem sıcaklığı 170 °C’den 210 °C’ye getirilmesi glikoz veriminde 2,4 kat artışa neden olmuştur. 190 °C ve 20 dakika üzerindeki koşullarda işlenmiş saman örneklerinde, en yüksek glikoz verimleri (> %90) elde edilmiştir. Bulguların, literatürdeki çalışmalarla benzer olduğu görülmüştür. Koostra vd. (2009b), samanı maleik asit ile 170 °C’de 30 dakika süresince ön işleme tabi tutmuşlar ve glikoz verimini %96 olarak elde etmişlerdir. Koostra vd. (2009b)’nin çalışmasındaki verimin, bu çalışmadan yüksek olduğu görülmüştür. Bu durumun daha yüksek dozda (46 FPU/ g saman) enzim kullanılmasından kaynaklandığı tahmin edilmektedir.



Şekil 4.12 Farklı maleik asit konsantrasyonu (%) ve sıcaklık (°C) değerlerinin glikoz verimine (g/g) etkisi

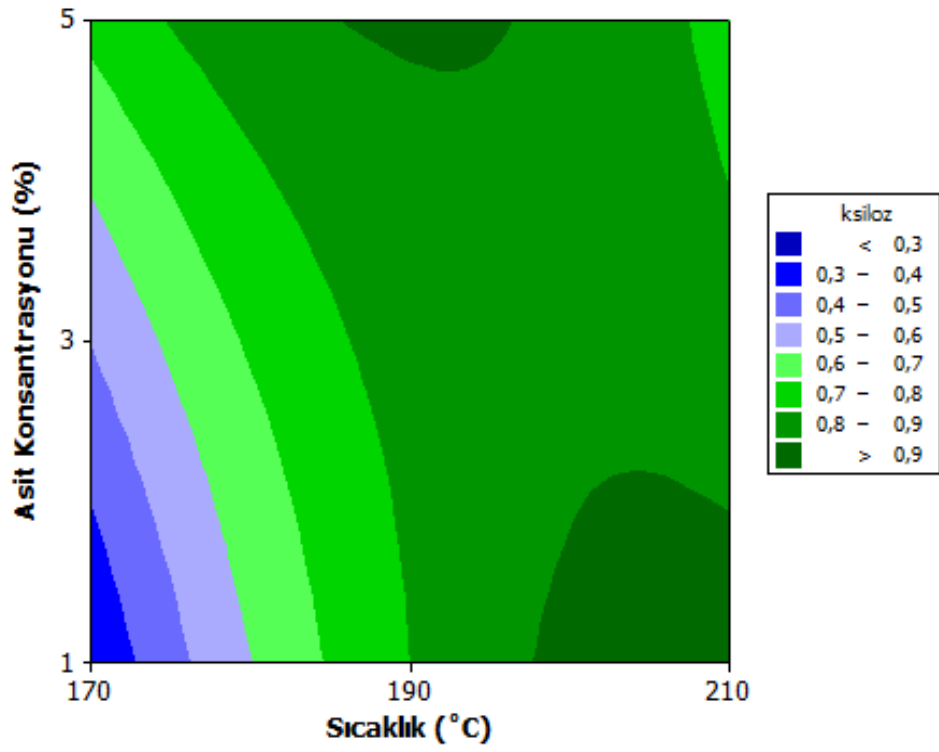


Şekil 4.13 Farklı ön işlem süresi (dak) ve sıcaklık (°C) değerlerinin glikoz verimine(g/g) etkisi

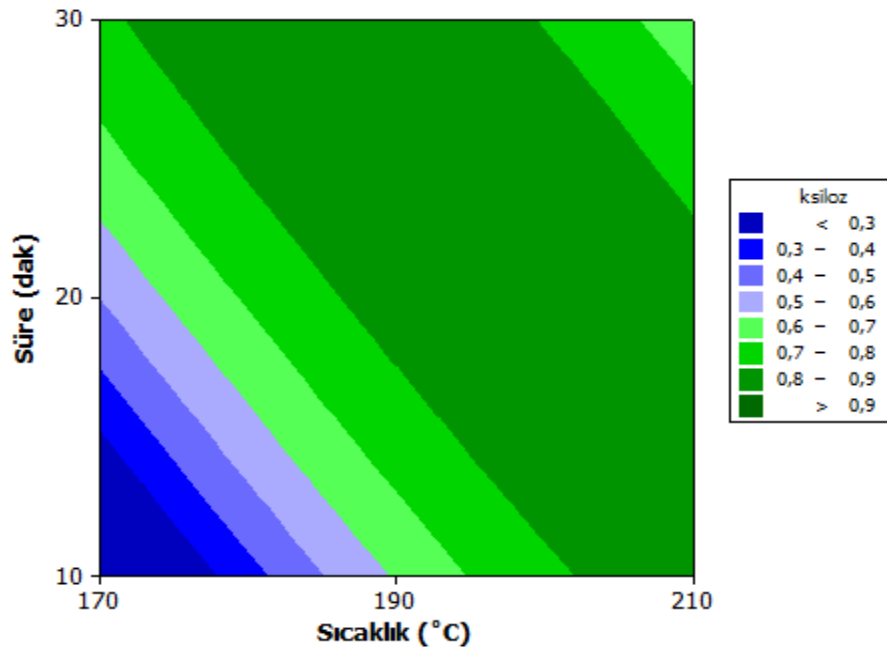


Şekil 4.14 Farklı ön işlem süresi (dak) ve maleik asit konsantrasyonu (%) değerlerinin glikoz verimine (g/g) etkisi

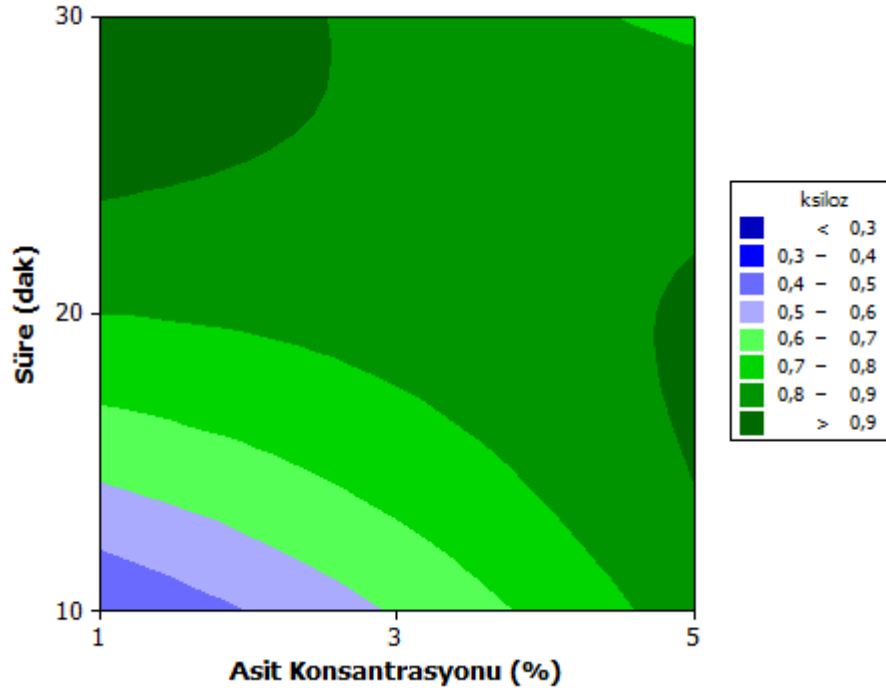
İstatistiksel analizler doğrultusunda ksiloz verimi üzerine en önemli parametrelerin, glikoz verimindeki sonuçlara benzer olarak ön-işlem süresi ve sıcaklığı olduğu görülmüştür (Çizelge 4.1). Ksiloz verimi üzerine maleik asit konsantrasyonunun istatistiksel açıdan önemli bir etkisi olmadığı tespit edilmiştir. Ön-işlem süresi ve sıcaklığının ksiloz verimine etkisinin pozitif olduğu regresyon denkleminde görülmektedir. Buna göre ön-işlem süresi ve sıcaklığının artması ile ksiloz veriminin artacağı anlaşılmaktadır. Grafiklerde de bu sonuçlara ulaşılmaktadır. Ön-işlem süresi ve asit konsantrasyonu sabit tutularak ön-işlem sıcaklığının arttırılması ksiloz veriminin artmasını sağlamıştır. Koostra vd. (2009b) tarafından da benzer sonuçlar elde edilmiştir.



Şekil 4.15 Farklı maleik asit konsantrasyonu (%) ve sıcaklık (°C) değerlerinin ksiloz verimine (g/g) etkisi



Şekil 4.16 Farklı ön işlem süresi (dak) ve sıcaklık (°C) değerlerinin ksiloz verimine (g/g) etkisi



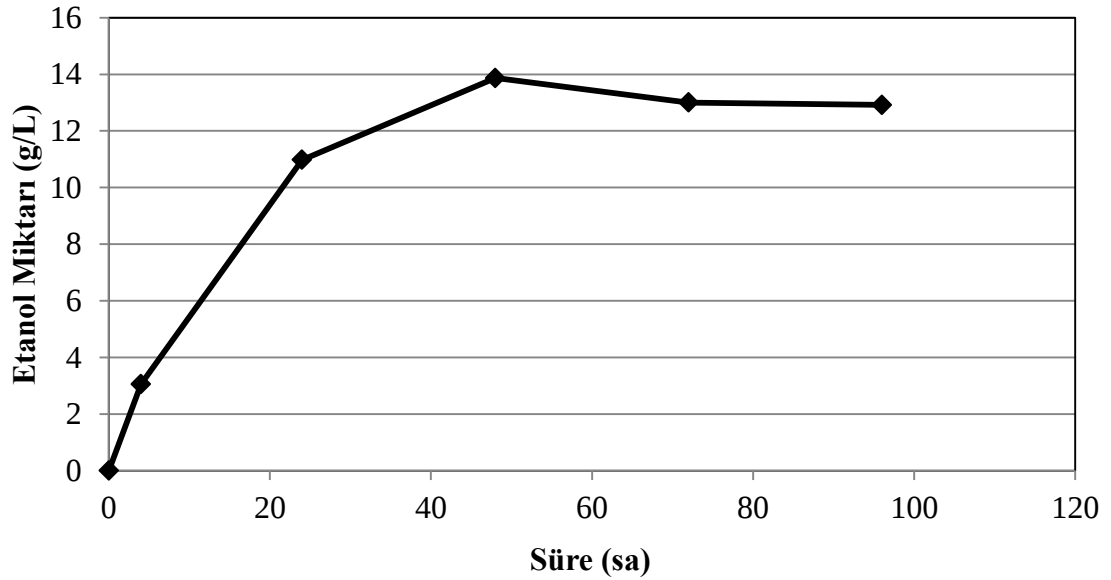
Şekil 4.17 Farklı ön işlem süresi (dak) ve maleik asit konsantrasyonu (%) değerlerinin ksiloz verimine (g/g) etkisi

170 ve 190 °C sıcaklıklar arasında verim artışının önemli derecede belirgin olduğu (Şekil 4.15) söylenebilir. 170-190 °C gibi düşük sıcaklıklarda, ksiloz verimine ön-işlem süresindeki çok küçük artışlar bile olumlu etki etmiştir. Bununla beraber yüksek sıcaklıklarda ön işlem süresinin önemli bir fark yaratmadığı belirlenmiştir (Şekil 4.16). Fakat, sabit maleik asit konsantrasyonunda 210 °C’de uzun ön-işlem sürelerinin verimde düşüşe sebep olduğu görülmüştür. Bunun, ekstrem ön-işlem koşullarında, ksilozun bozunmasından kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir. İlaveten; düşük ön-işlem sürelerinde (< 20 dak) ve sabit sıcaklıkta, istatistiksel olarak önemli olmasa da grafiklerde, asit konsantrasyonundaki artışın ksiloz verimine olumlu etkide bulunduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.17). Regresyon denkleminde de bu olumlu etki açıkça görülmektedir (Çizelge 4.1). Bununla birlikte, bağımsız değişkenler arasında istatistiksel açıdan önemli interaksiyon olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.1). Bu sonuç; ön işlem süresi, ön işlem sıcaklığı ve asit konsantrasyonu arasında etkileşimin olduğunu göstermektedir. Bir diğer ifade ile glikoz ve ksiloz verimi üzerindeki her bir ön-işlem parametresinin etkisi, kendisi dışındaki diğer parametrelere de bağımlıdır.

Genel anlamda bakıldığında samandan yüksek miktarda şeker verimi (>%90) elde etmede maleik asit ile ön işlemin etkili bir yöntem olduğu görülmüştür. 210°C’de, %1 maleik asit konsantrasyonu ve 20 dakika ön işlem süresi uygulandığında ksiloz verimi %95 olarak elde edilmiştir. Literatürde Kootstra vd. (2009a) buğday samanında yaptıkları çalışmalarında 10 dakika işlem süresi, 170°C ve 89 mM maleik asit konsantrasyonunda ön işlem uygulandığında sıvı fazda ksiloz verimi %85 tespit edilmiştir.

4.1.3 Maleik asit ön işleminde proses koşullarının optimizasyonu ve fermentasyon aşaması

RSM ile ksiloz ve glikoz verimlilikleri maksimize edilerek maleik asit ile ön işlem deneyleri için optimum proses koşulları tespit edilmiştir. Optimum noktalar 210 °C sıcaklık, %1,08 maleik asit konsantrasyonu, ve 19,8 dakika ön-işlem süresi olarak bulunmuştur. Bu noktalardan yola çıkılarak verimlilikler elde edilmiştir. RSM ile glikoz verimi %99 ve ksiloz verimi ise %95 olarak bulunmuştur. Deneyler ile de bu verilerin doğruluğu desteklenmiştir.



Şekil 4.18 Optimum koşullarda maleik asitle işlenmiş samandan üretilen etanol miktarının (g/L) fermentasyon süresi boyunca değişimi

Optimum koşullarda işlenmiş saman, fermente edilmiş ve fermentasyon esnasında etanol konsantrasyonunun zamanla değişimi Şekil 4.18'de gösterilmiştir. Grafikte de görüldüğü gibi etanol konsantrasyonu fermentasyon aşamasının ilk 24 saati içerisinde hızlıca artarak yaklaşık 12,9 g/L'de sabit kalmıştır. Etanol verimi ise % 80 olarak materyal ve metot bölümünde bahsi geçtiği şekilde hesaplanmıştır.

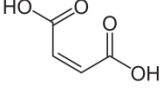
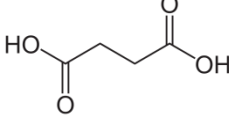
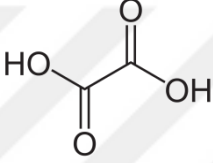
Yapılan bir çalışmada, mısır koçanı % 0,91 maleik asit içeren solüsyonda 170 °C sıcaklıkta 18 dakika bekletilmiş ve *Scheffersomyces (Pichia) sitipitis* CBS 6054 kullanılarak fermente edilmiştir. Sonuç olarak yaklaşık %58 etanol verimi elde edilmiştir (Lee ve Jeffries 2011). Ön-işlem koşullarındaki farklılıkların, biyokütlenin ve kullanılan mayanın farklı olmasının etanol veriminin düşük olmasında etkili olduğu düşünülmektedir.

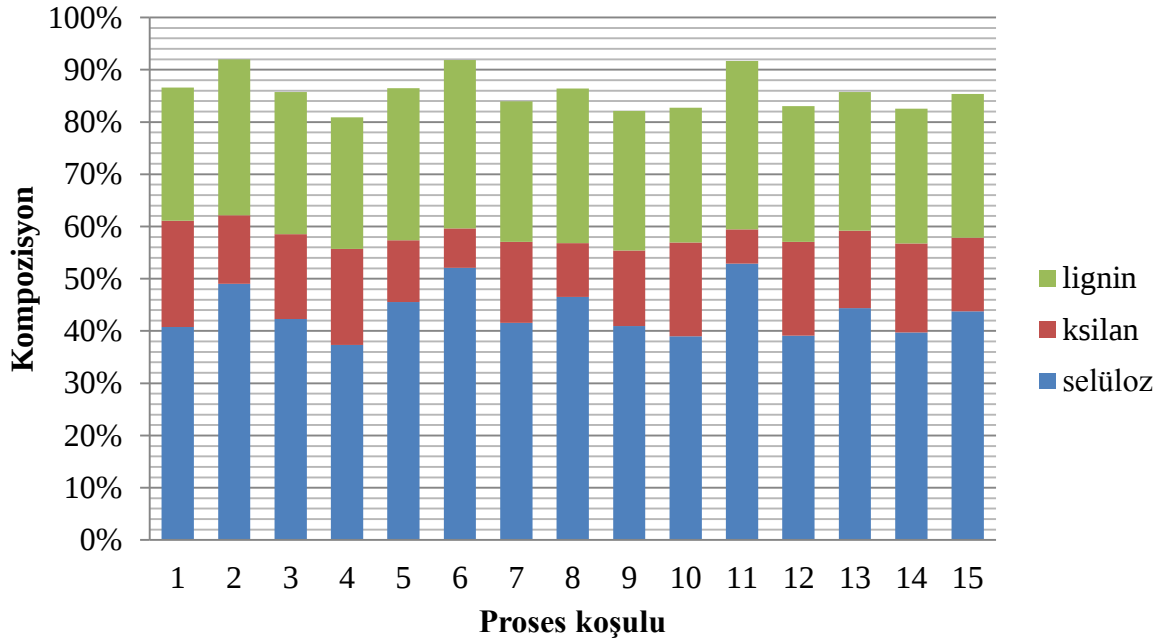
Jung vd. (2015), pirinç samanında maleik asit ile ön işlem (ön işlem sıcaklığı 190 °C, maleik asit konsantrasyonu %0,2, işlem süresi 20 dak.) uygulayarak etanol elde ettikleri çalışmalarında *S. cerevesiae* D₅A kullanmış ve örnekte etanol verimini % 62,8 olarak bulmuşlardır. Yukarıdaki örneğe benzer şekilde proses parametrelerindeki farklılıkların etanol verimini etkilediği görülmektedir.

4.1.4 Süksinik asit ön işleminin samanın kompozisyonu üzerine etkisi

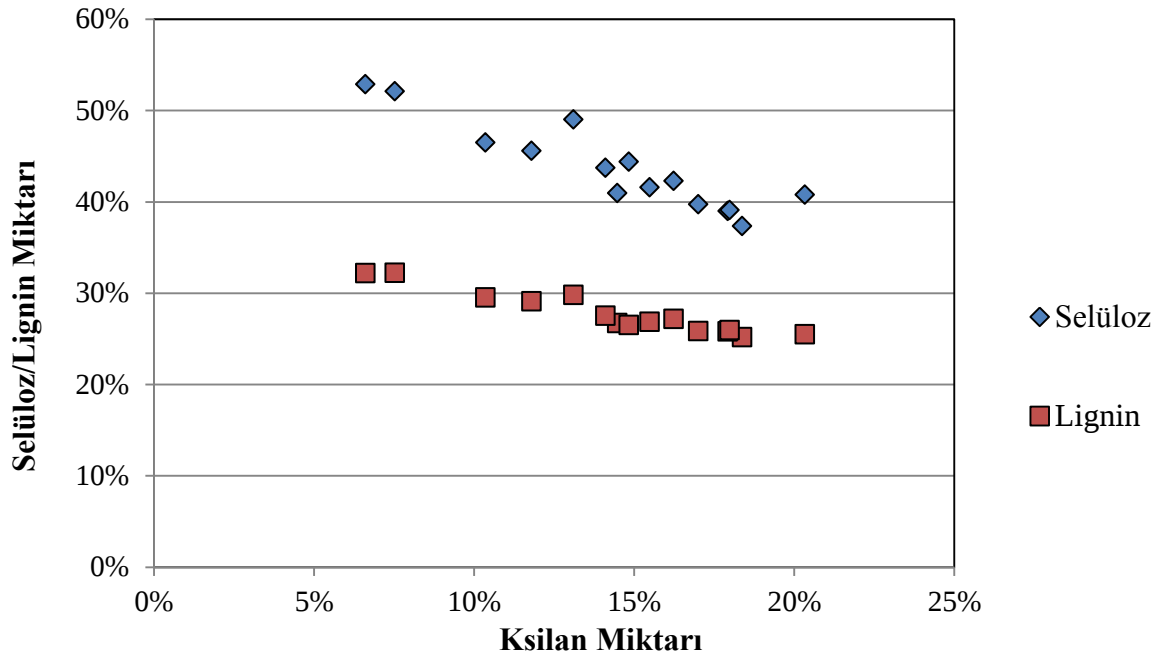
Saman örnekleri, süksinik asit ile de farklı sıcaklık (170, 190, 210 °C), asit konsantrasyonu (%1, %3, %5) ve farklı sürelerde (10, 20, 30 dakika) ön işleme tabi tutulmuş ve kompozisyonundaki değişimler gözlemlenmiştir (Şekil 4.19). Süksinik asit ile farklı koşullarda ön işleme tabi tutulmuş saman örneklerindeki ksilan miktarı %6,60-20,33 arasında olduğu tespit edilmiştir. Bu sonuçlar değerlendirildiğinde, süksinik asitle ön-işlem sırasında ksilanın hidrolize olarak sıvı fazda çözündüğü anlaşılmaktadır. Maleik asit ile ön işleme oranla, ksilan kayıplarının daha az olduğu görülmektedir. Bu iki asitin pK_{a1} değerlerine bakıldığında, maleik asitin pK_{a1} değerinin daha düşük olduğu görülmektedir (Çizelge 4.2) ve bu nedenle süksinik asite kıyasla daha kuvvetli bir dikarboksilik asit olduğu söylenebilir. Buna ilaveten, iki karboksil grubunun ortasında bulunan çift bağ, maleik asitin daha reaktif olmasını sağlamaktadır.

Çizelge 4.2 Ön-işlemede kullanılan organik asitlerin formülleri ve pKa değerleri

Asit Adı	Kapalı Formül	Açık Formül	pKa1	pKa2
Maleik Asit	C ₄ H ₄ O ₄		1,84	6,07
Süksinik Asit	C ₄ H ₆ O ₄		4,21	5,64
Okzalik Asit	C ₂ H ₂ O ₄		1,23	4,19



Şekil 4.19 Farklı ön-işlem koşullarında süksinik asitle işlenmiş saman örneklerinin kompozisyonu (her deney numarası farklı proses koşulunu göstermektedir ve bu koşullar Çizelge 3.2’ de belirtilmiştir)

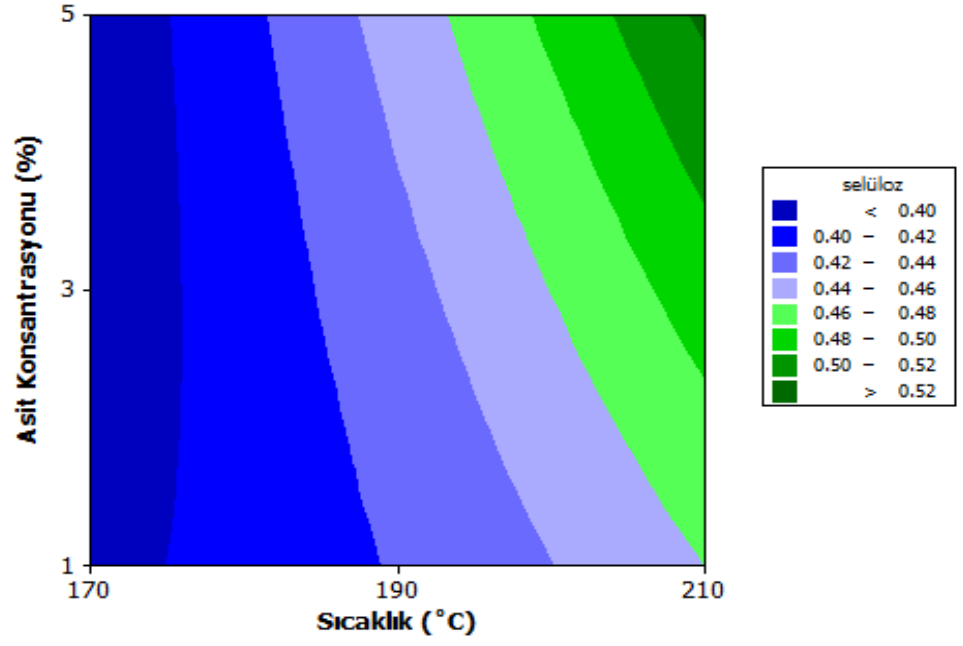


Şekil 4.20 Farklı ön-işlem koşullarında süksinik asitle işlenmiş saman örneklerinin selüloz ve lignin içeriklerinin (%), örneklerdeki ksılan miktarı (%) ile değişimi

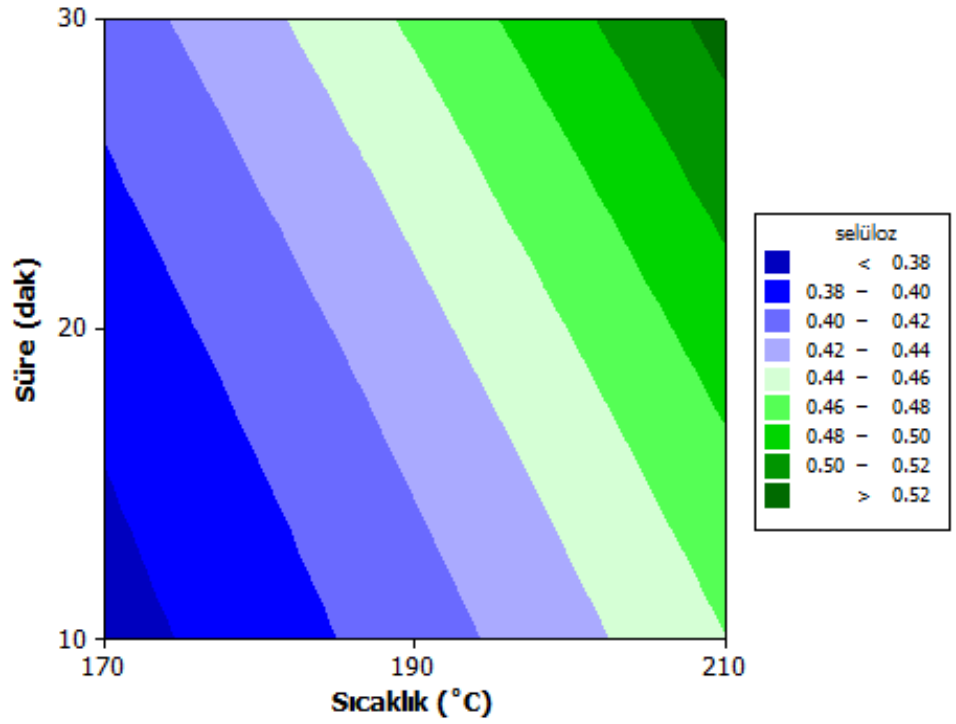
Örneklerdeki selüloz ve lignin miktarındaki artışın, maleik asit sonuçlarına benzer olarak ksılan miktarındaki azalış ile ilgili olduğu görülmüştür (Şekil 4.20). Maleik asitle işlenmiş örneklere kıyasla lignin konsantrasyonundaki artışın (%25'den %32'ye) daha düşük olması, süksinik asitle işlemde ksılanın sıvı fazda daha az çözüldüğünün bir ispatıdır.

Sonuçlar istatistiksel olarak değerlendirildiğinde, tüm ön-işlem parametelerinin (süksinik asit konsantrasyonu, sıcaklık ve süre) samanın selüloz, ksılan ve lignin içeriğinde önemli değişimlere neden olduğu ($p < 0,05$) belirlenmiştir. Ön-işlem parametelerinin (süksinik asit konsantrasyonu, sıcaklık ve süre), samanın selüloz, ksılan ve lignin içeriğine etkileri Şekil 4.21- 4.29'da verilmiştir.

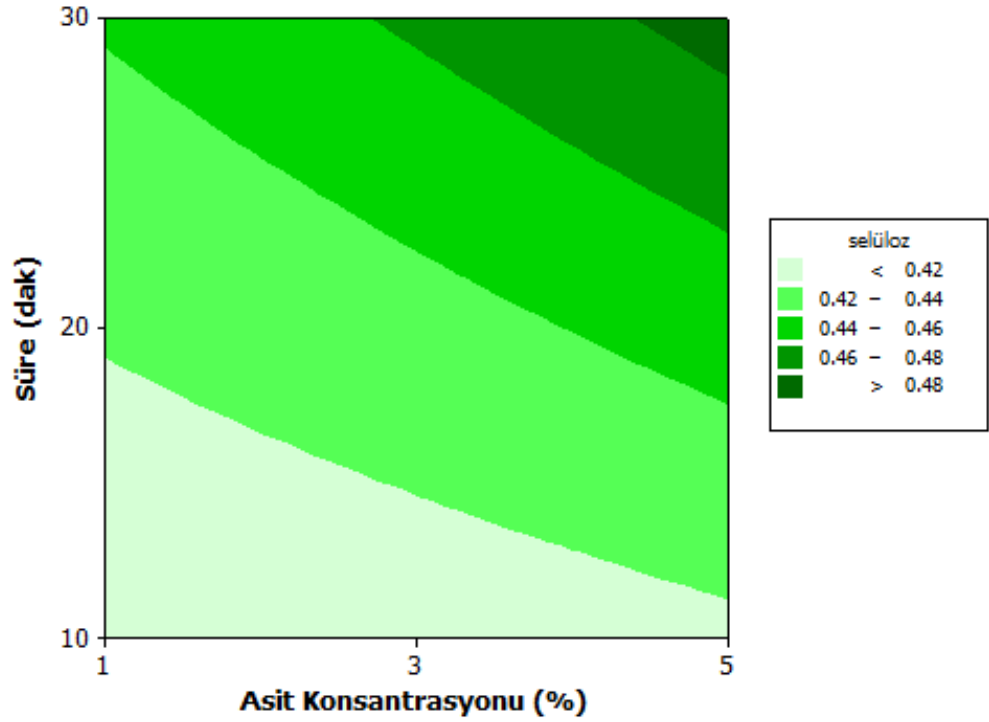
Örneklerdeki selüloz miktarları %37 ile %53 arasındadır. Şekil 4.21 ve 4.22 göz önüne alındığında maleik asitte olduğu gibi sıcaklık artışının her koşulda, örneklerde daha yüksek selüloz miktarına neden olduğu görülmektedir. Sabit sıcaklık ve ön-işlem süresinde, süksinik asit konsantrasyonunu arttırmak, selüloz miktarında anlamlı bir artışa sebep olmuştur ($p < 0,05$). Ön-işlem süresi de, sıcaklığın etkisine benzer olarak selüloz miktarında ciddi bir artışa neden olmuştur.



Şekil 4.21 Farklı süksinik asit konsantrasyonu (%) ve sıcaklık (°C) değerlerinin samanın selüloz içeriğine (g selüloz/g kuru saman) etkisi

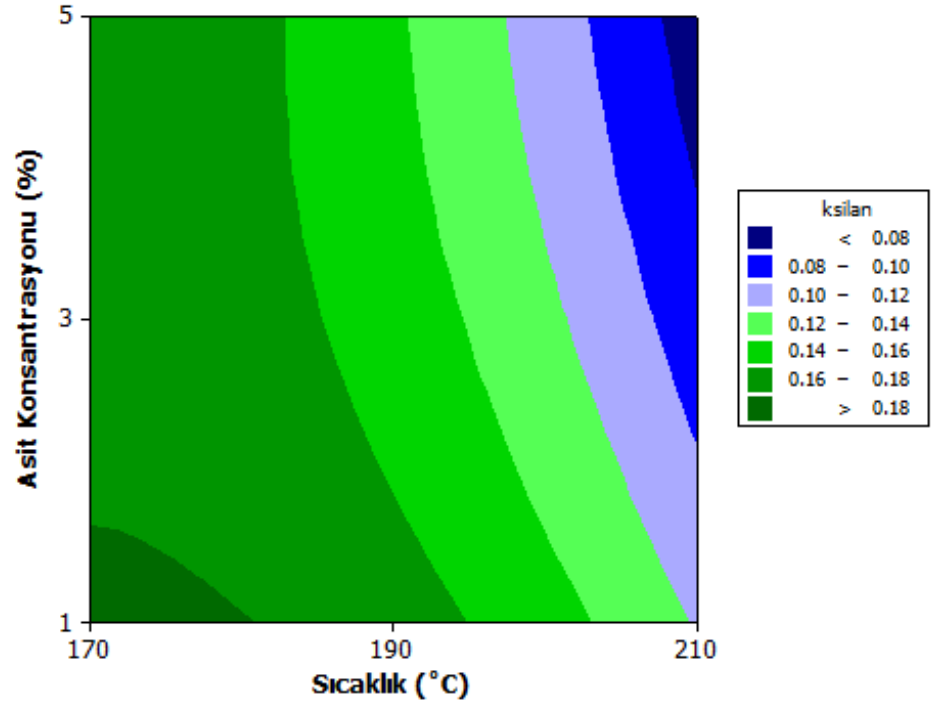


Şekil 4.22 Farklı ön işlem süresi (dak) ve sıcaklık (°C) değerlerinin samanın selüloz içeriğine (g selüloz/g kuru saman) etkisi

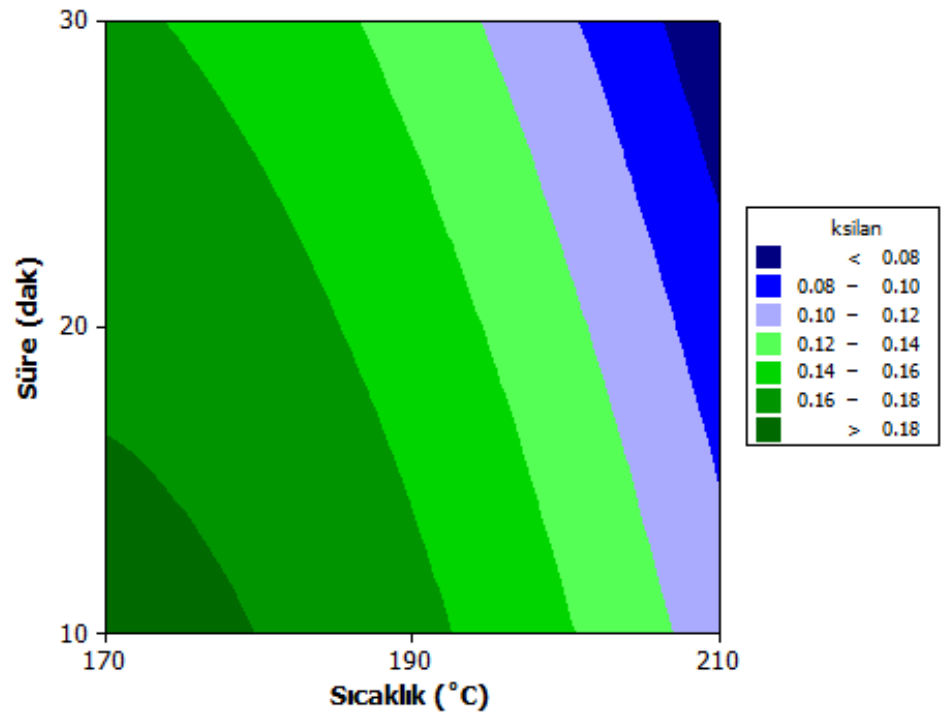


Şekil 4.23 Farklı ön işlem süresi (dak) ve süksinik asit konsantrasyonu (%) değerlerinin samanın selüloz içeriğine (g selüloz/g kuru saman) etkisi

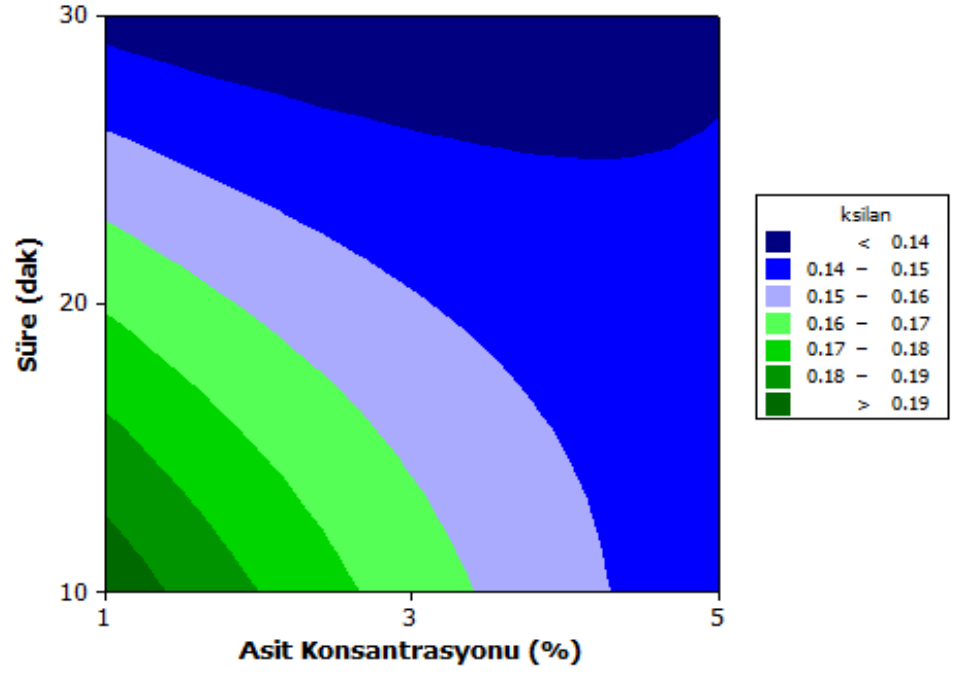
Ksilan konsantrasyonlarına bakıldığında, sabit ön-işlem süresinde ve süksinik asit konsantrasyonunda, sıcaklık artışı örnekteki ksilan miktarını ciddi şekilde azaltmıştır (Şekil 4.24 ve 4.25). 170 ile 190 °C arasındaki sıcaklık değerlerinde, ön-işlem süresi sabit tutulduğunda, asit konsantrasyonunun artırılmasının ksilan miktarı üzerinde ciddi bir etkisinin olmadığı anlaşılmaktadır. Ön-işlem süresinin de benzer şekilde etkisi olduğu belirlenmiştir. Yüksek asit konsantrasyonunda (%5), ön-işlem sıcaklığı sabit tutulduğunda, ön-işlem süresinin ksilan miktarı üzerinde çok önemli değişimlere neden olmadığı görülmüştür. Tüm proses parametrelerinden (süksinik asit konsantrasyonu, sıcaklık ve süre) örneklerdeki lignin miktarı etkilenmiştir (Şekil 4.27, 4.28, 4.29). Bu parametrelerin artması lignin içeriğini artırmıştır. Bu parametreler içerisinde en etkili olanı ise sıcaklıktır.



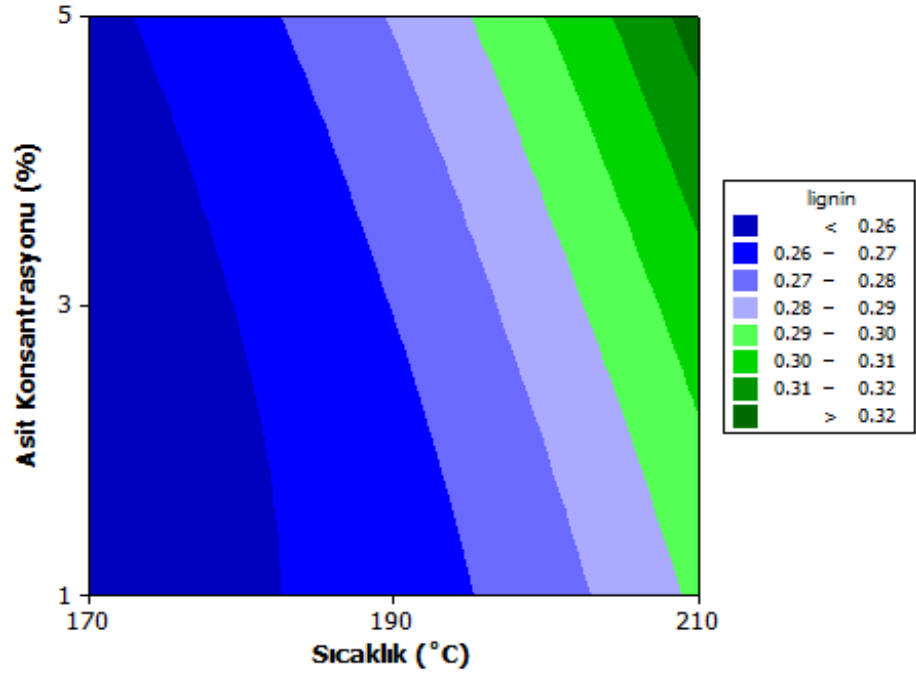
Şekil 4.24 Farklı süksinik asit konsantrasyonu (%) ve sıcaklık (°C) değerlerinin samanının ksilan içeriğine (g ksilan/g kuru saman) etkisi



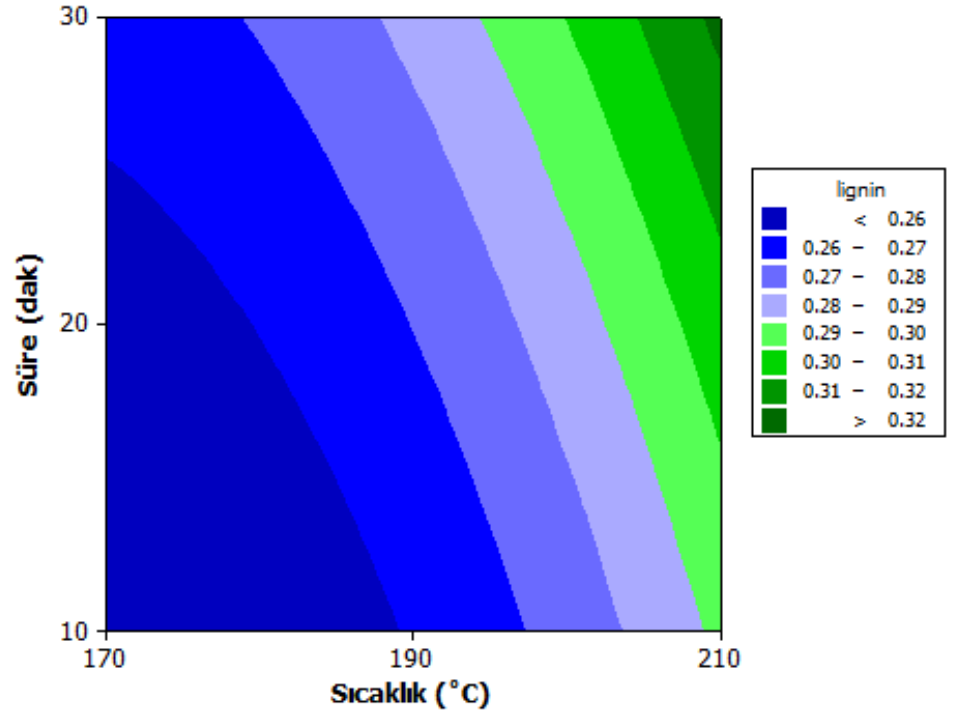
Şekil 4.25 Farklı ön işlem süresi (dak) ve sıcaklık (°C) değerlerinin samanının ksilan içeriğine (g ksilan/g kuru saman) etkisi



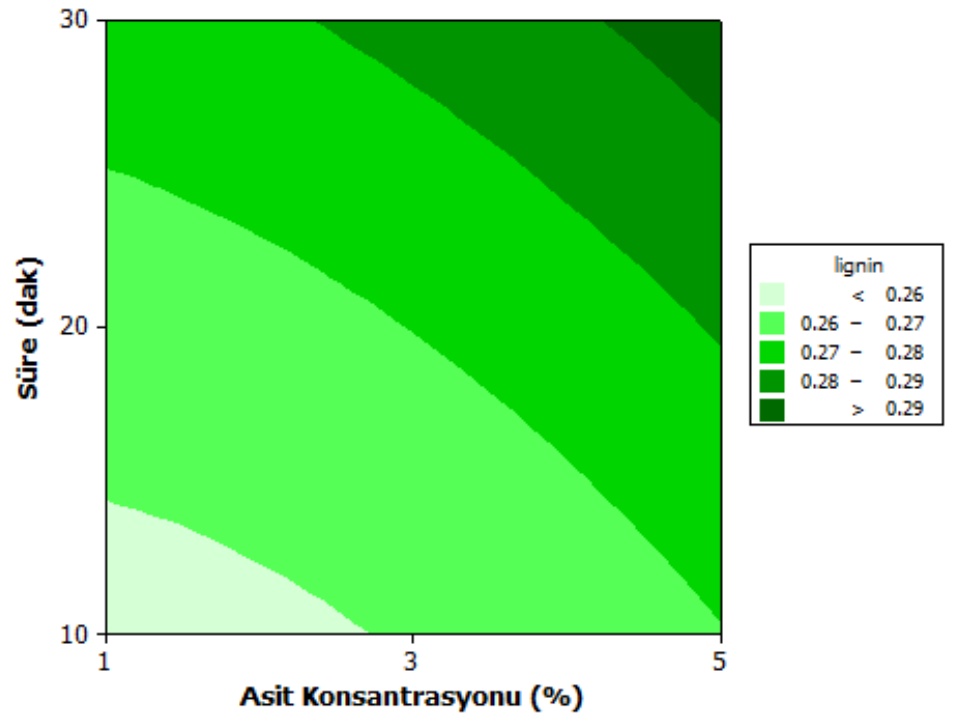
Şekil 4.26 Farklı ön işlem süresi (dak) ve süksinik asit konsantrasyonu (%) değerlerinin samanın ksilan içeriğine (g ksilan/g kuru saman) etkisi



Şekil 4.27 Farklı süksinik asit konsantrasyonu (%) ve sıcaklık (°C) değerlerinin samanın lignin içeriğine (g lignin/g kuru saman) etkisi



Şekil 4.28 Farklı ön işlem süresi (dak) ve sıcaklık (°C) değerlerinin samanının lignin içeriğine (g lignin/g kuru saman) etkisi



Şekil 4.29 Farklı ön işlem süresi (dak) ve süksinik asit konsantrasyonu (%) değerlerinin samanının lignin içeriğine (g lignin/g kuru saman) etkisi

4.1.5 Süksinik asit ön işleminin samanın enzimatik hidrolizi aşamasındaki glikoz ve ksiloz verimlilikleri üzerine etkisi

Süksinik asit ile ön işlem sonrasında, saman örneklerinde enzimatik hidroliz deneyleri gerçekleştirilmiş ve proses parametrelerinin (ön-işlem sıcaklığı, süksinik asit konsantrasyonu ve ön-işlem süresi) samanın glikoz ve ksiloz verimlilikleri üzerine etkisi incelenmiştir. Yanıt yüzey metodu kullanılarak en yüksek glikoz ve ksiloz verimini sağlayan proses koşulları tespit edilmiştir. Elde edilen ikinci derece denklemler Çizelge 4.3’de sunulmuştur. r^2 değerlerine göre, süksinik asit için bulunan modellerinin deneysel verilere uyum sağladığı söylenebilir (Çizelge 4.3).

Çizelge 4.3 Süksinik asit için regresyon eşitlikleri

Bağımlı Değişkenler	Regresyon Denklemleri	r^2
Glikoz verimi (%)	$Y_1 = 0,31 + 0,15 \cdot X_1 + 0,054 \cdot X_2 + 0,058 \cdot X_3 + 0,056 \cdot X_1^2 + 0,013 \cdot X_2^2 + 0,011 \cdot X_3^2 + 0,048 \cdot X_1 \cdot X_2 + 0,018 \cdot X_1 \cdot X_3 - 0,022 \cdot X_2 \cdot X_3$	0,98
Ksiloz verimi (%)	$Y_2 = 0,24 + 0,13 \cdot X_1 + 0,020 \cdot X_2 + 0,050 \cdot X_3 + 0,033 \cdot X_1^2 - 0,0013 \cdot X_2^2 + 0,011 \cdot X_3^2 + 0,0032 \cdot X_1 \cdot X_2 - 0,0015 \cdot X_1 \cdot X_3 - 0,056 \cdot X_2 \cdot X_3$	0,98

Üzerinde işaret bulunmayan bağımsız değişkenler istatistiksel olarak önemsizdir.

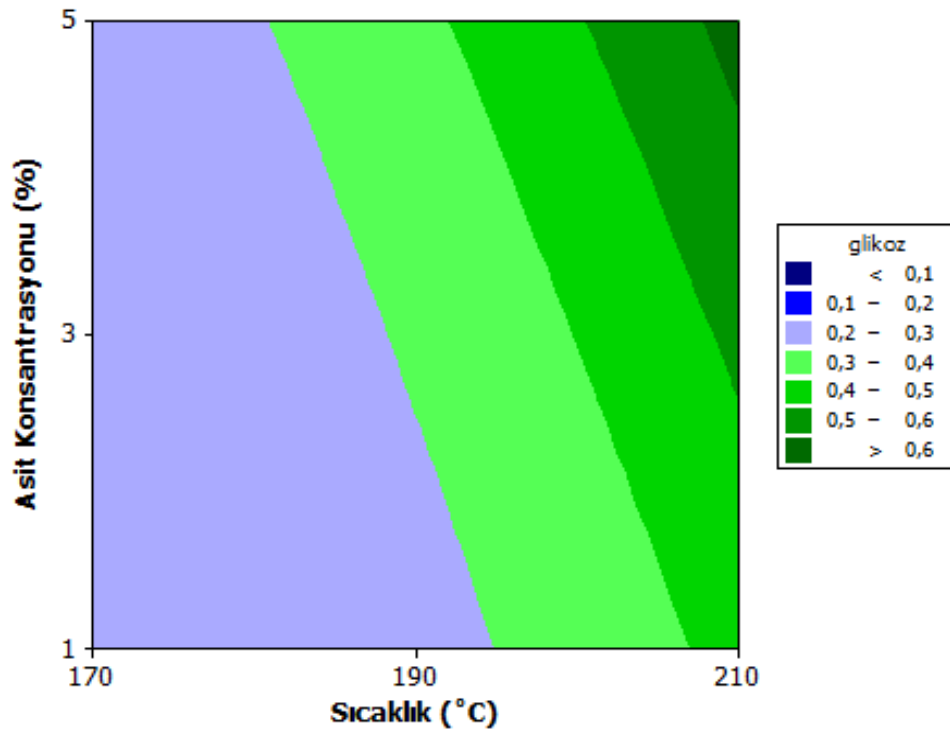
* istatistiksel olarak önemi belirtir ($p \leq 0,05$)

X_1 (°C): ön işlem sıcaklığı, X_2 (%): asit konsantrasyonu, X_3 (dak): ön-işlem süresi

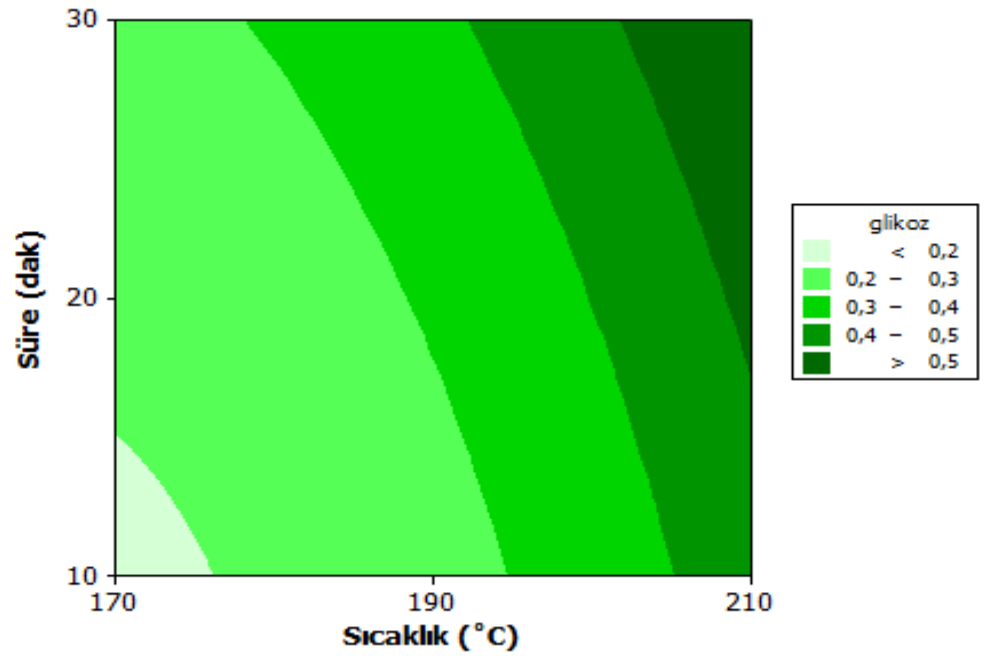
Y_1 (%): glikoz verimi, Y_2 (%): ksiloz verimi

Şekil 4.30, 4.31, 4.32’de samanın glikoz verimi ve 4.33, 4.34, 4.35’de ksiloz verimi üzerine, proses parametrelerinin (sıcaklık, süksinik asit konsantrasyonu ve ön-işlem süresi) etkileri gösterilmiştir. İstatistiksel analizler sonucunda tüm bağımsız değişkenlerin, glikoz verimi üzerine etkili olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4.3). Proses parametrelerinin, glikoz verimine etkisinin pozitif olduğu regresyon denkleminde görülmektedir. Bu da sıcaklığın, asit konsantrasyonunun ve sürenin artması ile glikoz

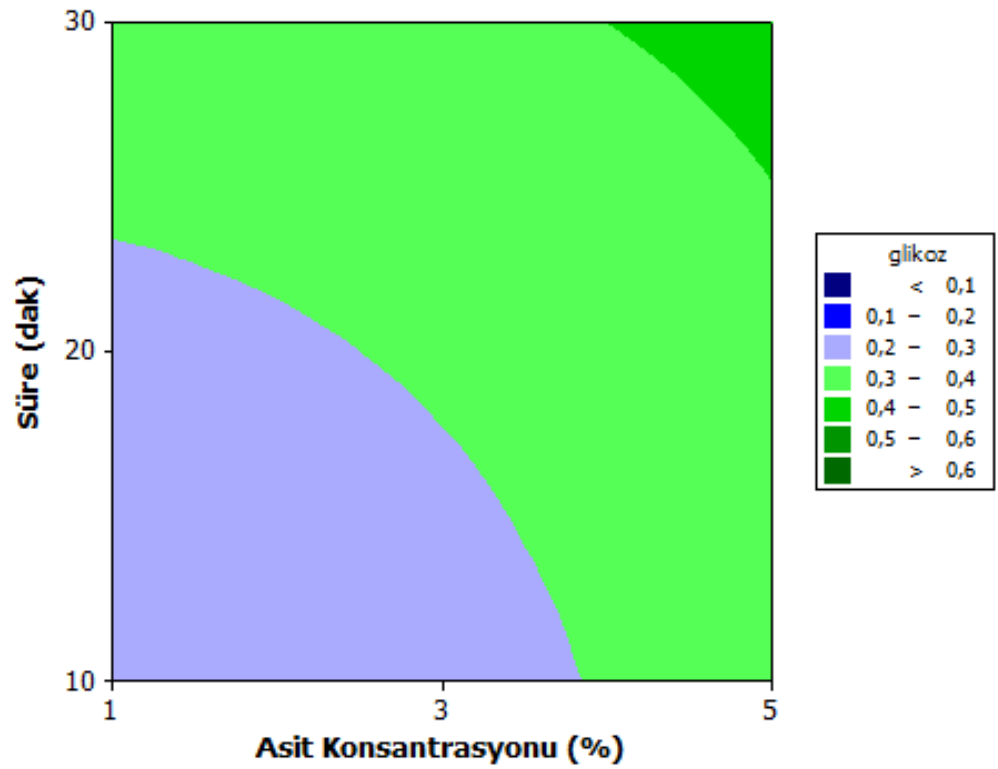
veriminin artacağını göstermektedir. Şekil 4.30, 4.31, 4.32’de proses parametrelerinin glikoz verimine olan pozitif etkisi gözükmemektedir. Sabit ön-işlem süresi ve asit konsantrasyonunda, sıcaklığın 170 °C’den, 210 °C’ye çıkarılması glikoz veriminin yaklaşık 2 kat artmasını sağlamıştır. Benzer şekilde, sabit ön-işlem süresi ve sıcaklıkta, asit konsantrasyonunun %1’den %5’e çıkarılması, glikoz veriminin yaklaşık 1,5 kat artmasını sağlamıştır. Ön işlem süresinin 10 dakikadan 30 dakikaya arttırılması, diğer parametrelerin sabit kalması koşuluyla verimde 1,3 kat artış meydana getirmiştir. 210°C’de , %5 süksinik asitle 20 dakika ön işlem uygulanmış saman örneklerinde en yüksek glikoz verimi %63 olarak elde edilmiştir. İlaveten süksinik asit konsantrasyonu ve sıcaklık arasında istatistiksel olarak önemli bir interaksiyon olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.3). Bu interaksiyonun pozitif olması, glikoz verimini artırıcı şekilde bir etkileşim olduğunun kanıtıdır.



Şekil 4.30 Farklı süksinik asit konsantrasyonu (%) ve sıcaklık (°C) değerlerinin glikoz verimine (g/g) etkisi

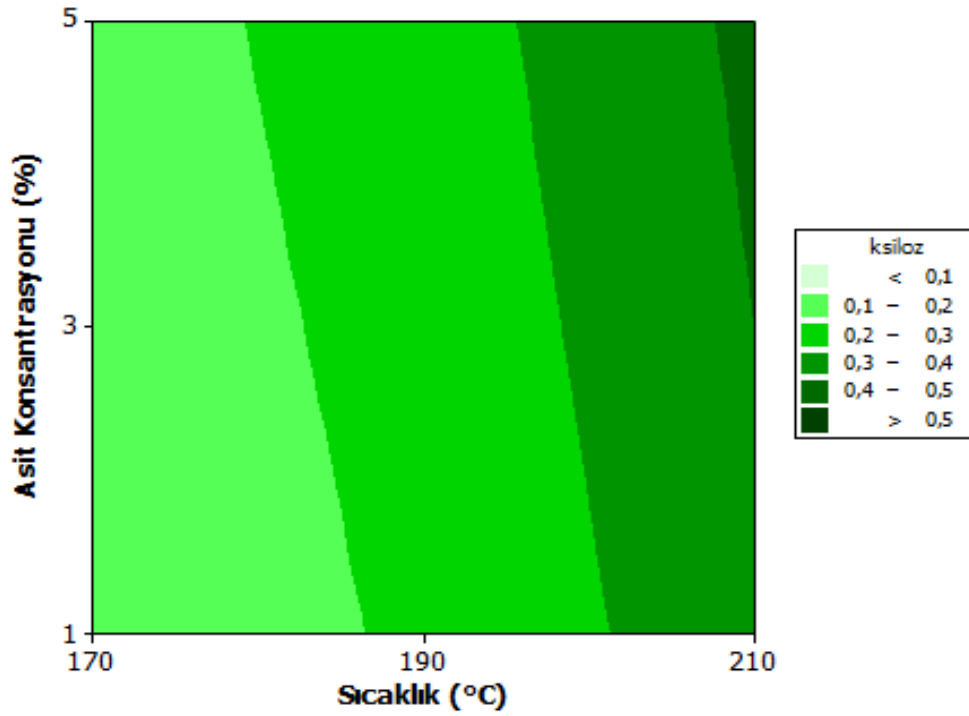


Şekil 4.31 Farklı ön işlem süresi (dak) ve sıcaklık (°C) değerlerinin glikoz verimine (g/g) etkisi

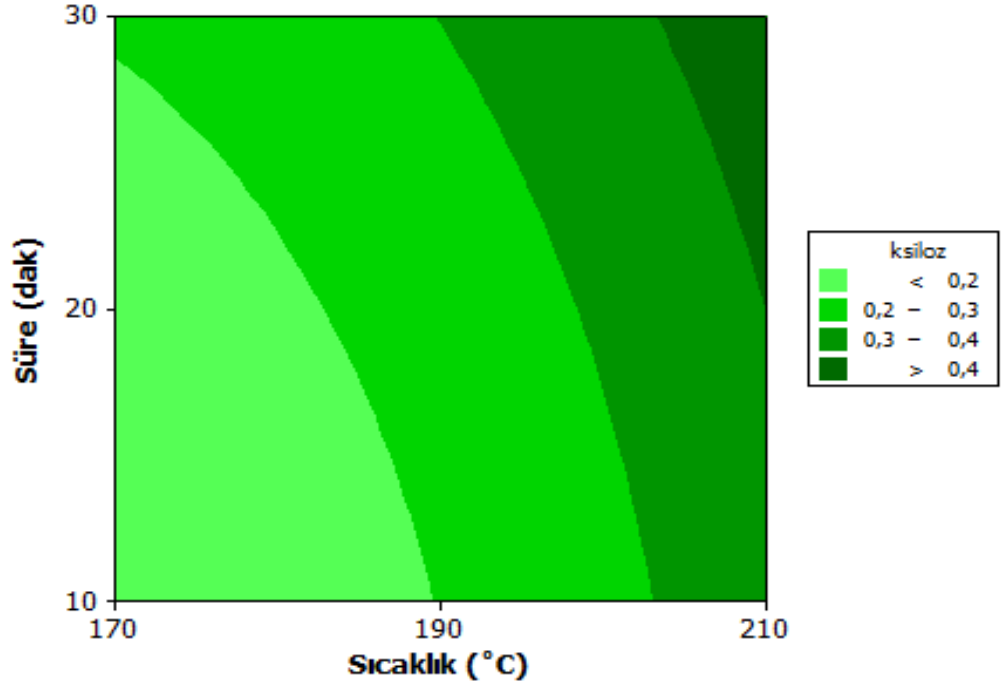


Şekil 4.32 Farklı ön işlem süresi (dak) ve süksinik asit konsantrasyonu (%) değerlerinin glikoz verimine (g/g) etkisi

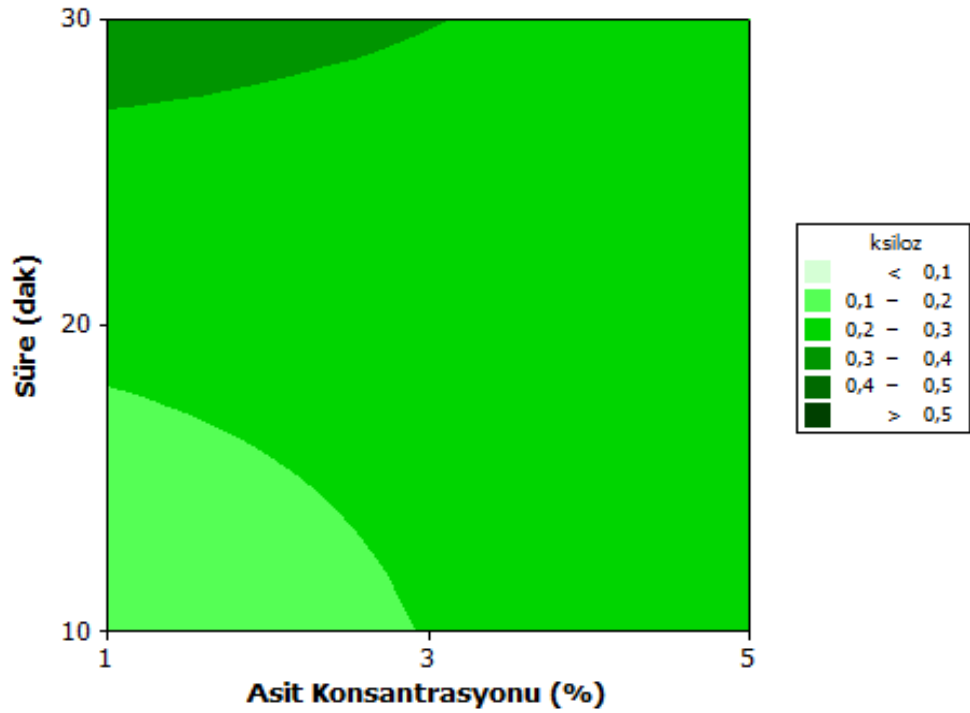
Ksiloz verimini ise istatistiksel olarak önemli ölçüde sadece süre ve sıcaklığın etkilediği belirlenmiştir (Çizelge 4.3). Maleik asit ile ön işlemde olduğu gibi, süksinik asit konsantrasyonunun da ksiloz verimi üzerine istatistiksel açıdan önemli bir etkisi olmadığı tespit edilmiştir. Sıcaklık ve sürenin ksiloz verimine pozitif etki ettiği regresyon denkleminde gözükmemektedir. Ön işlem sıcaklığının ve süresinin artırılması ile ksiloz verimi artmaktadır. Şekil 4.33, 4.34, 4.35'te ksiloz üzerine ön-işlem sıcaklığının ve süresinin etkisi görülmektedir. Ön işlem süresine kıyasla ön işlem sıcaklığının, verimi daha çok etkilediği anlaşılmaktadır. Bunlara ilaveten, süksinik asit konsantrasyonunun ksiloz verimi üzerinde istatistiksel olarak tek başına anlamlı bir etkisi bulunmasa da ön-işlem süresiyle birlikte istatistiksel olarak önemli olduğu Çizelge 4.3'de görülmektedir. En yüksek ksiloz verimi 210 °C'de , %3 süksinik asitle 30 dakika ön işlem uygulanmış saman örneklerinde %47 olarak bulunmuştur.



Şekil 4.33 Farklı süksinik asit konsantrasyonu (%) ve sıcaklık (°C) değerlerinin ksiloz verimine (g/g) etkisi



Şekil 4.34 Farklı ön işlem süresi (dak) ve sıcaklık (°C) değerlerinin ksiloz verimine (g/g) etkisi



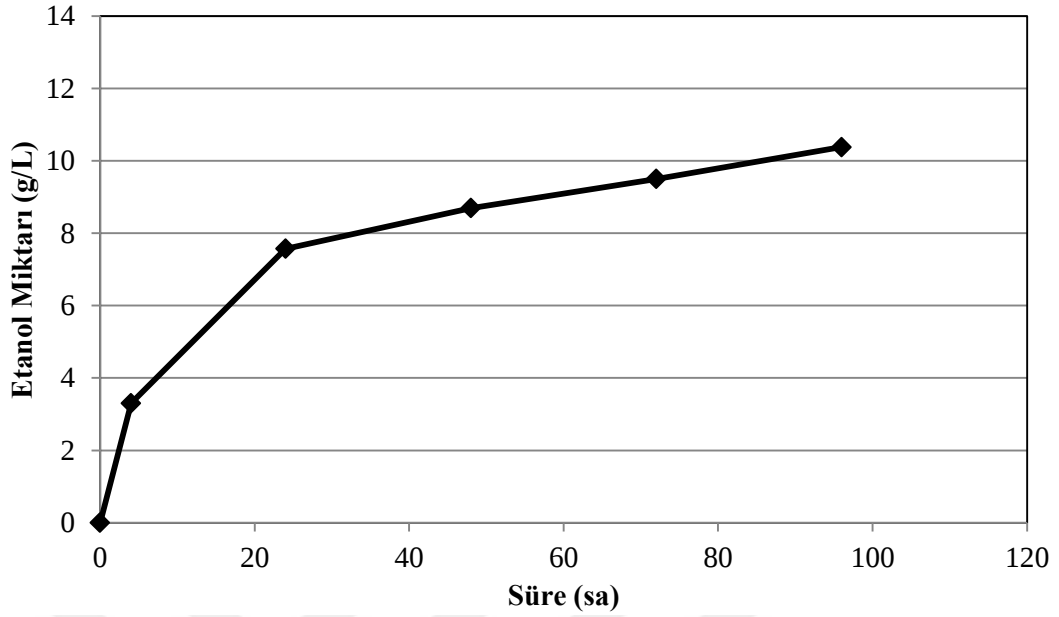
Şekil 4.35 Farklı ön işlem süresi (dak) ve süksinik asit konsantrasyonu (%) değerlerinin ksiloz verimine (g/g) etkisi

Genel olarak bakıldığında, süksinik asitin, lignoselülozik yapıyı etkili bir biçimde parçalayamadığı belirlenmiştir. Süksinik asit ile ön işlem uygulanmış saman örneklerinden yüksek şeker verimi (en yüksek glikoz ve ksiloz verimi sırasıyla %63 ve 47) elde edilememiş ve maleik asit ön işlemine kıyasla enzimatik hidroliz verimlerinin oldukça düşük olduğu belirlenmiştir. Verim artışı; asit konsantrasyonu, sıcaklık ve sürenin artırılmasıyla sağlanmıştır, ancak yeterli olmamıştır. Maleik asitle karşılaştırıldığında süksinik asit, daha zayıf bir dikarboksilik asittir. Bunun verimin düşmesinde önemli bir etken olduğu düşünülmektedir.

4.1.6 Süksinik asit ön işleminde proses koşullarının optimizasyonu ve fermentasyon aşaması

En yüksek glikoz ve ksiloz verimini sağlayan optimum proses koşulları RSM ile belirlenmiştir. Süksinik asit ön işlemi için optimum koşullar 210 °C sıcaklık, %5 süksinik asit konsantrasyonu ve 30 dakika ön-işlem süresi olarak tespit edilmiştir. Optimum noktadaki glikoz ve ksiloz verimi ise sırasıyla %70 ve %43 olarak bulunmuştur. Deneylerle de bu veriler doğrulanmıştır.

Optimum koşullarda süksinik asit ile işlenmiş saman örneği ile fermentasyon deneyleri gerçekleştirilmiş ve etanol konsantrasyonunun süre ile değişimi Şekil 4.36'da verilmiştir. Şekilde görüldüğü gibi fermentasyon süresi boyunca etanol konsantrasyonu artmıştır. 96. saatte 10,3 g/L olmuştur. Etanol verimi, %59 olarak hesaplanmıştır. Şeker veriminin düşük olması nedeniyle etanol miktarında da azalma olmuştur. Maleik asitle kıyaslandığında etanol miktarında %20 azalma görülmektedir. Bu da süksinik asitin etkili bir ön-işlem kimyasalı olmadığını göstermektedir. Literatürde süksinik asit ile ön-işlem çalışması bulunamamıştır. Bu nedenle kıyaslama yapılamamıştır.



Şekil 4.36 Optimum koşullarda süksinik asitle işlenmiş samandan üretilen etanol miktarının (g/L) fermantasyon süresi boyunca değişimi

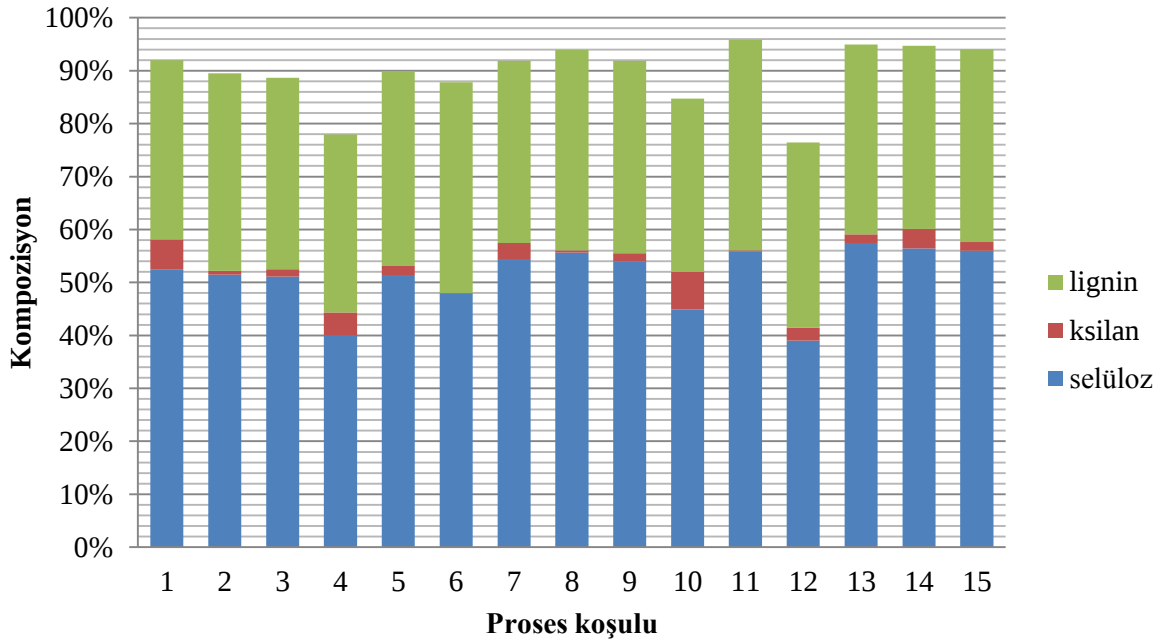
4.2 Okzalik Asit Ön İşlemi

4.2.1 Okzalik asit ön işleminin samanın kompozisyonu üzerine etkisi

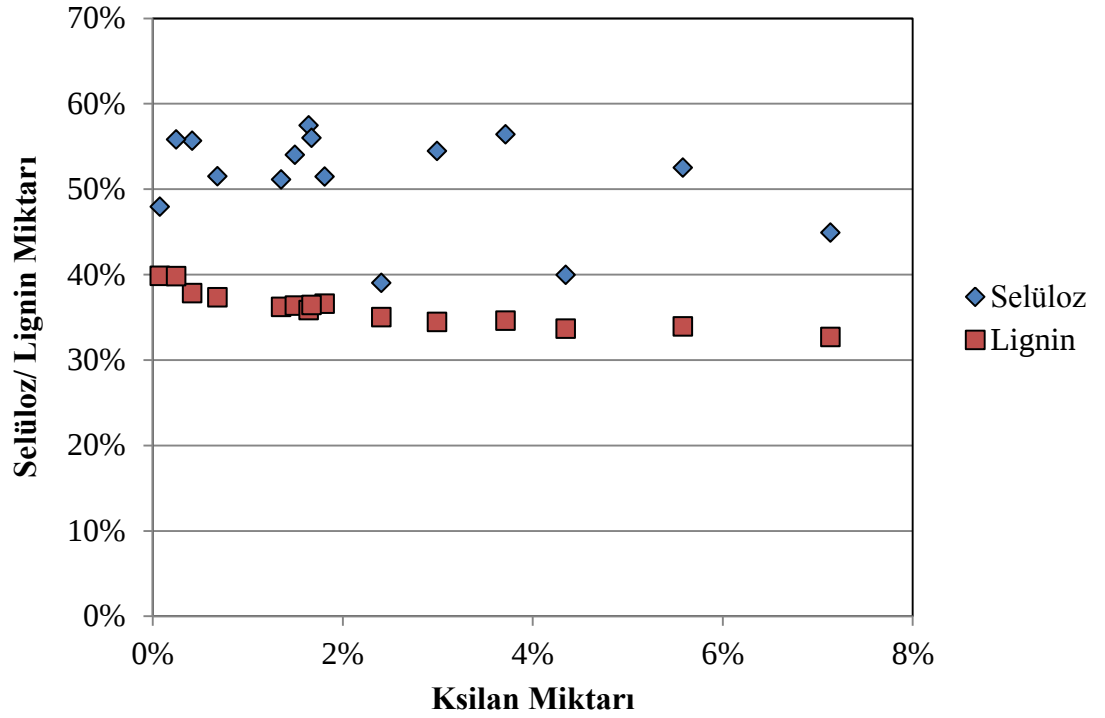
Saman örnekleri diğer asitlerde olduğu gibi, farklı sıcaklık (170, 190, 210 °C), asit konsantrasyonu (%1, %3, %5) ve sürelerde (10, 20, 30 dakika) okzalik asitle işlenmiştir. Şekil 4.37’de kompozisyonundaki değişimler gösterilmiştir. Okzalik asit ile farklı koşullarda ön işleme tabi tutulmuş saman örneklerinde ksilan miktarı % 0,07 - 7,13 olarak bulunmuştur. Bu da okzalik asitle ön işleminde ksilanın, büyük oranda hidrolize olup sıvı fazda çözündüğünü işaret etmektedir. Maleik ve süksinik asit ile ön işlemlerle kıyaslandığında, okzalik asit ile ön işleminde ksilanın daha fazla hidrolize olduğu görülmektedir. Okzalik asitin pKa değerleri diğer asitlerinkine kıyasla daha düşüktür ve daha kuvvetli bir asittir. Bu sebeple örnekteki ksilan içeriğine etkisi daha şiddetli olmuştur (Çizelge 4.2). Ön-işlem sonrasında örneklerdeki lignin miktarının %33-40 arasında değer aldığı belirlenmiştir. Örneklerdeki selüloz ve lignin miktarındaki artış, diğer sonuçlarda da olduğu gibi ksilan miktarındaki azalış ile ilgilidir (Şekil 4.38). Lee vd. (2010).’nin yaptığı bir çalışmada, okzalik asitle ön işlem uyguladıkları mısır koçanında benzer sonuçlar elde etmişlerdir. Hemiselüloz kaybıyla orantılı olarak mısır

koçanın lignin içeriği, %13,9 oranında artmıştır. Bir diğer çalışmada okzalik asit ile ön işleme tabi tutulmuş karnabahar mantarı (*Sparassis crispa*) atığının lignin içeriği %42,10- 43,19 arasında tespit edilirken, hammadde bulunan lignin miktarı % 28,8 olarak rapor edilmiştir. Bu çalışmada da ön işlem sebebiyle lignin içeriği artmış gibi görünmektedir (Lee vd. 2013). Lignin konsantrasyonundaki artış maleik asit ve süksinik asite kıyasla en fazla okzalik asit ile ön işleme tabi olan örneklerde görülmüştür. Bu durum yapıdaki ksilanın okzalik asit ile daha çok sıvı faza geçtiğini göstermektedir.

İstatistiksel olarak sonuçlara bakıldığında, ön-işlem süresinin ve sıcaklığının samanın selüloz içeriğinde önemli değişimlere neden olduğu görülmüştür. Fakat okzalik asit konsantrasyonunun istatistiksel olarak önemli bir fark yaratmadığı tespit edilmiştir. Ksilana bakıldığında ise asit konsantrasyonu ve sıcaklık istatistiksel olarak anlamlı bir değişime sebep olmuştur. İlaveeten, tüm ön-işlem parametelerinin (sıcaklık, okzalik asit konsantrasyonu, ve süre) lignin üzerinde anlamlı değişimlere neden olduğu ($p<0,05$) belirlenmiştir.

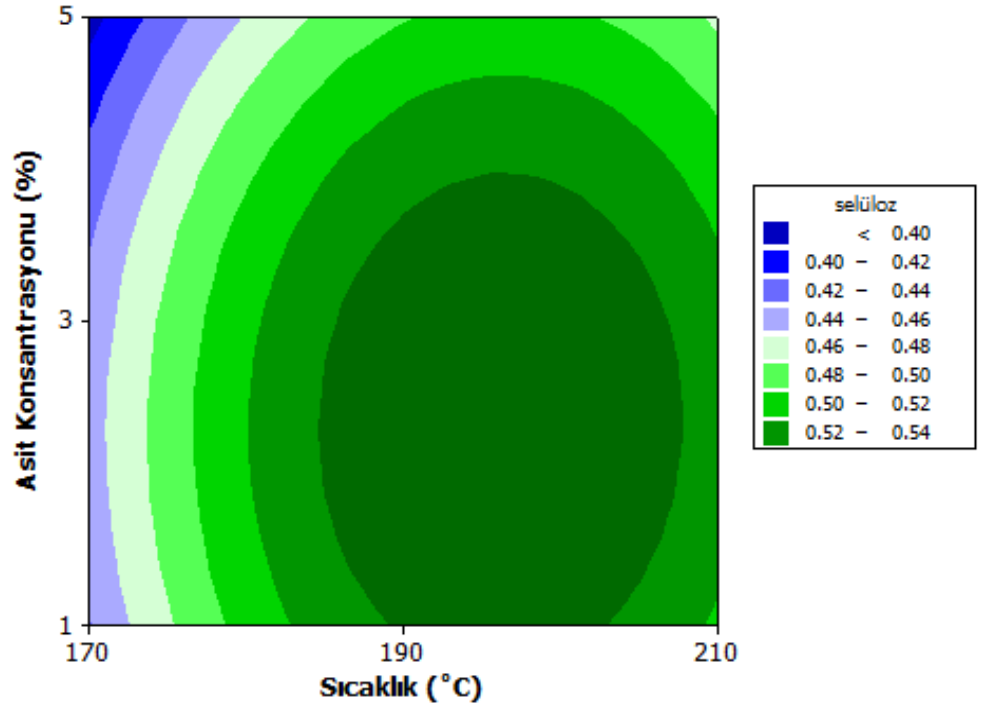


Şekil 4.37 Farklı ön-işlem koşullarında okzalik asitle işlenmiş saman örneklerinin kompozisyonu (her deney numarası farklı proses koşulunu göstermektedir ve bu koşullar Çizelge 3.2’de belirtilmiştir)

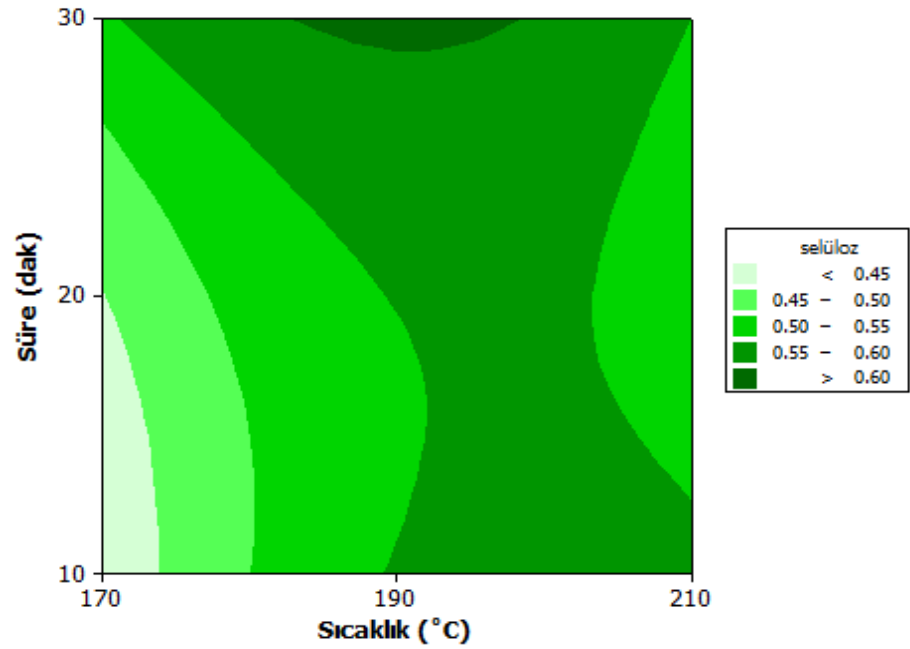


Şekil 4.38 Farklı ön-işlem koşullarında okzalik asitle işlenmiş saman örneklerinin selüloz ve lignin içeriklerinin (%), örnekteki ksılan miktarı (%) ile değişimi

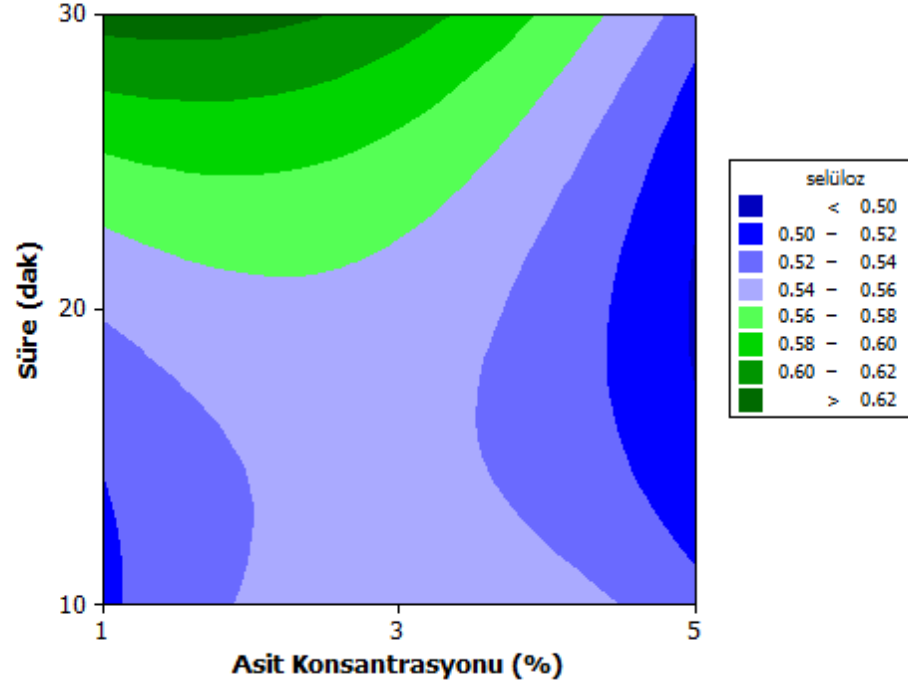
Şekil 4.39- 4.47’de ön-işlem sıcaklığının, okzalik asit konsantrasyonunun ve ön-işlem süresinin, samanın selüloz, ksılan ve lignin içeriğine etkileri verilmiştir. Şekil 4.39, 4.40’a bakıldığında selüloz konsantrasyonunun sıcaklık ile hızlı bir şekilde arttığı görülmüştür. Fakat bu artış 190 °C’den sonra kısmen sabitlenmiş ve çok değişmemiştir. Saman örneklerindeki selüloz içerikleri %39-%58 arasındadır. Ön-işlem süresinin uzatılması da selüloz konsantrasyonunun artışına neden olmuştur. Şekil 4.39, 4.41’de okzalik konsantrasyonundaki artış, selüloz içeriğinde azalmaya sebep oluyormuş gibi gözükse de bu azalma istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır ($p>0,05$).



Şekil 4.39 Farklı okzalik asit konsantrasyonu (%) ve sıcaklık (°C) değerlerinin samanının selüloz içeriğine (g selüloz/g kuru saman) etkisi

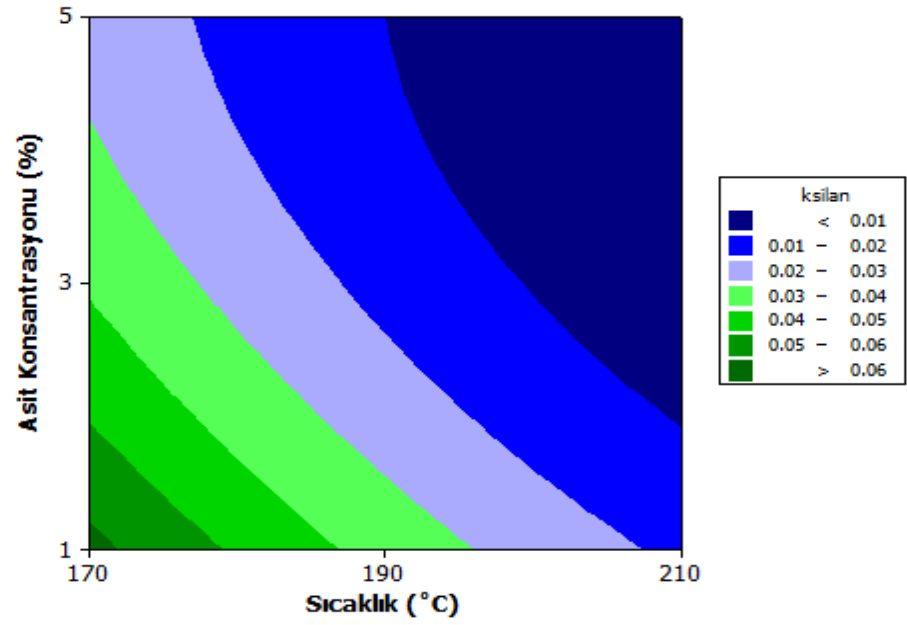


Şekil 4.40 Farklı ön işlem süresi (dak) ve sıcaklık (°C) değerlerinin samanının selüloz içeriğine (g selüloz/g kuru saman) etkisi

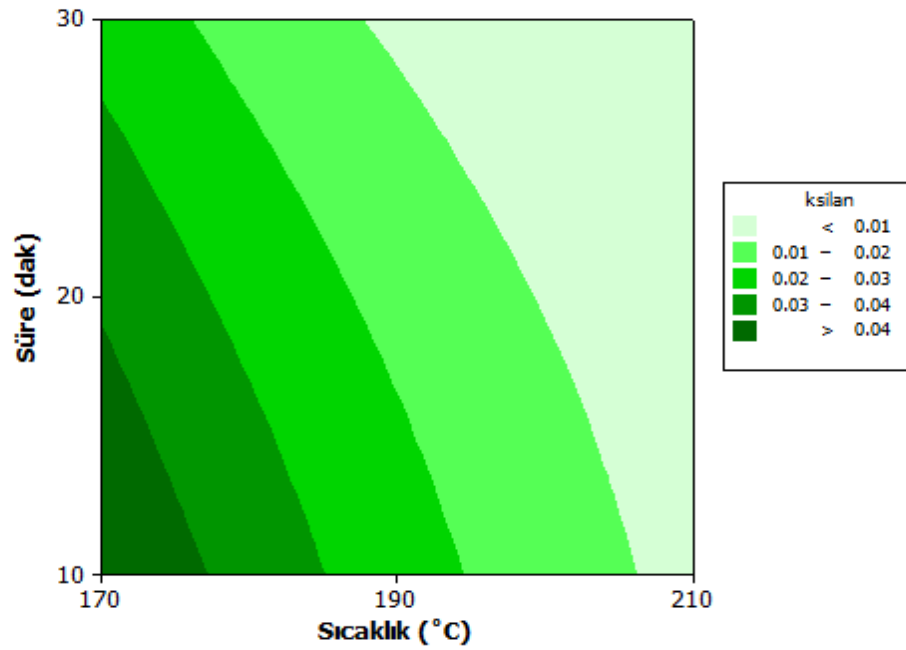


Şekil 4.41 Farklı ön işlem süresi (dak) ve okzalik asit konsantrasyonu (%) değerlerinin samanın selüloz içeriğine (g selüloz/g kuru saman) etkisi

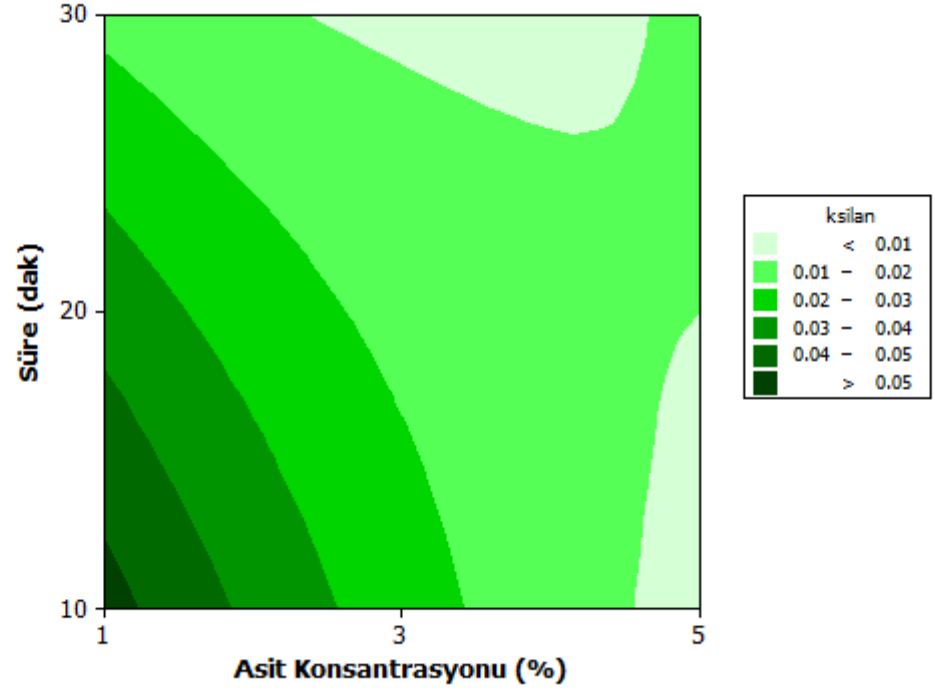
Sıcaklık ve okzalik asit konsantrasyonundaki artışın örneklerdeki ksilanı önemli ölçüde azalttığı görülmüştür (Şekil 4.42, Şekil 4.43 ve Şekil 4.44). Maleik asit ile ön işlem yapılmış örneklerde olduğu gibi, ekstrem ön-işlem koşullarında ksilanın hemen hemen hepsinin sıvı fazda çözündüğü belirlenmiştir. Scordia vd. (2013) tarafından benzer bir sonuç rapor edilmiştir. Yapılan çalışmada, fil otu 190 °C’de, %5 okzalik asit ile 25 dakika boyunca bekletilmiş ve ksilanın önemli ölçüde sıvı fazda çözündüğü görülmüştür. Suda çözünmeyen fraksiyonda yalnızca %0,48 oranında olduğu belirlenmiştir. Şekil 4.43 ve Şekil 4.44’de düşük okzalik asit konsantrasyonu ve düşük sıcaklıklarda, ön-işlem süresindeki artış saman örneklerindeki ksilan miktarında azalışa neden oluyor gibi gözükse de, bu azalış istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0,05$). Sıcaklık, okzalik asit konsantrasyonu ve sürenin artması ile lignin içeriği artmıştır (Şekil 4.45, Şekil 4.46 ve Şekil 4.47). Yani örneklerdeki lignin miktarı, maleik ve süksinik asit sonuçlarına benzer olarak tüm proses parametrelerinden pozitif etkilenmiştir.



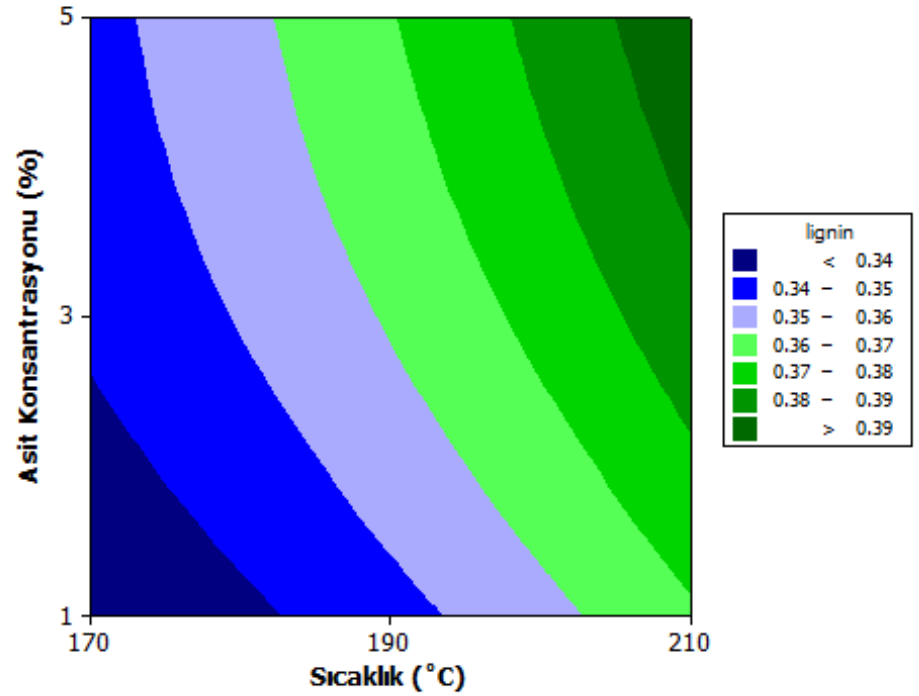
Şekil 4.42 Farklı okzalik asit konsantrasyonu (%) ve sıcaklık (°C) değerlerinin samanın ksilan içeriğine (g ksilan/g kuru saman) etkisi



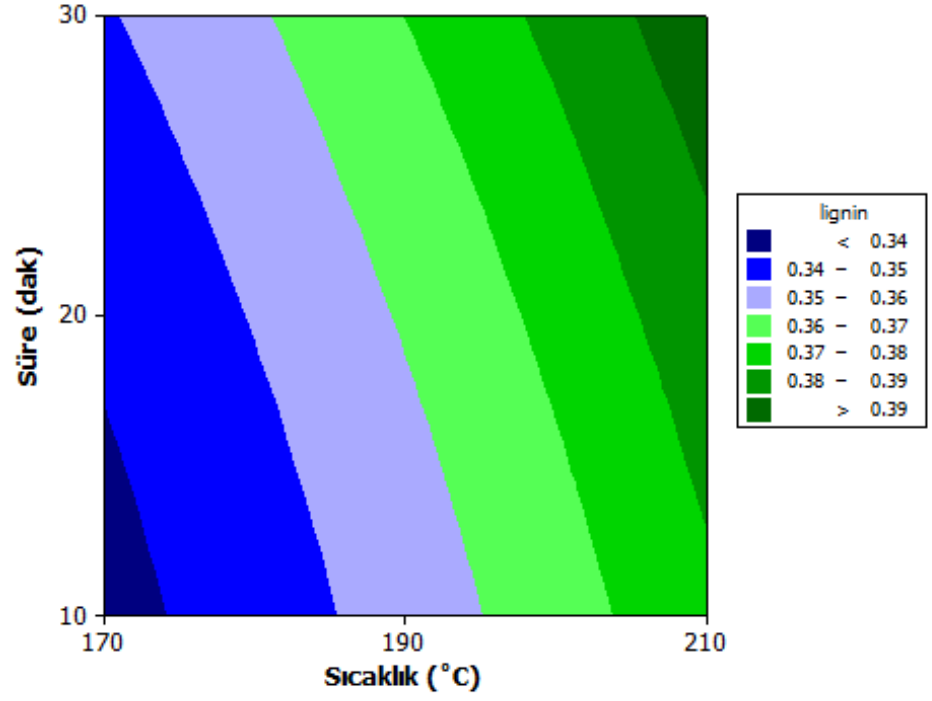
Şekil 4.43 Farklı ön işlem süresi (dak) ve sıcaklık (°C) değerlerinin samanın ksilan içeriğine (g ksilan/g kuru saman) etkisi



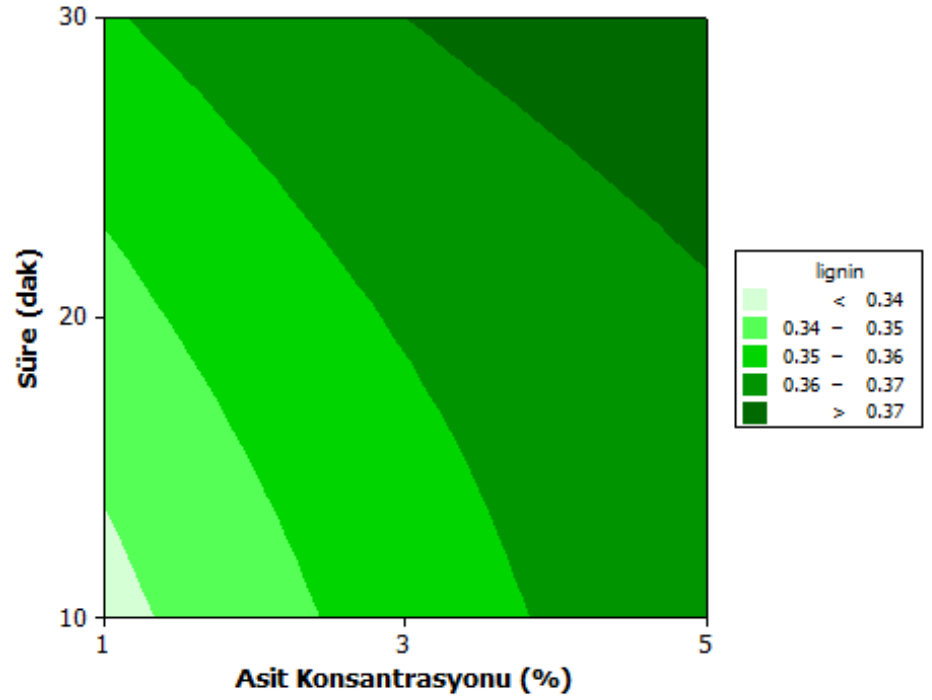
Şekil 4.44 Farklı ön işlem süresi (dak) ve okzalik asit konsantrasyonu (%) değerlerinin samanının ksilan içeriğine (g ksilan/g kuru saman) etkisi



Şekil 4.45 Farklı okzalik asit konsantrasyonu (%) ve sıcaklık (°C) değerlerinin samanının lignin içeriğine (g lignin/g kuru saman) etkisi



Şekil 4.46 Farklı ön işlem süresi (dak) ve sıcaklık (°C) değerlerinin samanın lignin içeriğine (g lignin/g kuru saman) etkisi



Şekil 4.47 Farklı ön işlem süresi (dak) ve okzalik asit konsantrasyonu (%) değerlerinin samanın lignin içeriğine (g lignin/g kuru saman) etkisi

4.2.2 Okzalik asit ön işleminin samanin enzimatik hidrolizi aşamasındaki glikoz ve ksiloz verimlilikleri üzerine etkisi

Maleik ve süksinik asitte olduğu gibi, ön-işlemden sonra saman örneklerinde enzimatik hidroliz deneyleri yapılmıştır. Proses parametrelerinin (ön-işlem sıcaklığı, okzalik asit konsantrasyonu ve ön-işlem süresi) samanin glikoz ve ksiloz verimlilikleri üzerine etkisi tespit edilmiştir. Çizelge 4.4'te regresyon analizinden elde edilen ikinci derece denklemler verilmiştir. Okzalik asit için elde edilen modellerin deneysel verilere iyi uyum sağladığı görülmektedir (Çizelge 4.4).

Çizelge 4.4 Okzalik asit için regresyon eşitlikleri

Bağımlı Değişkenler	Regresyon Denklemleri	r ²
Glikoz verimi (%)	$Y_1 = 0,87 + 0,11 \cdot X_1 + 0,092 \cdot X_2 + 0,045 X_3 - 0,0089 X_1^2 + 0,020 X_2^2 + 0,019 X_3^2 - 0,088 \cdot X_1 X_2 - 0,019 X_1 X_3 - 0,092 X_2 X_3$	0,92
Ksiloz verimi (%)	$Y_2 = 0,87 + 0,099 \cdot X_1 + 0,16 \cdot X_2 + 0,035 X_3 - 0,017 X_1^2 - 0,077 X_2^2 + 0,014 X_3^2 - 0,022 X_1 X_2 - 0,018 X_1 X_3 - 0,13 \cdot X_2 X_3$	0,91

Üzerinde işaret bulunmayan bağımsız değişkenler istatistiksel olarak önemsizdir.

* istatistiksel olarak önemi belirtir ($p \leq 0,05$)

X_1 (°C): ön işlem sıcaklığı, X_2 (%): asit konsantrasyonu, X_3 (dak): ön-işlem süresi

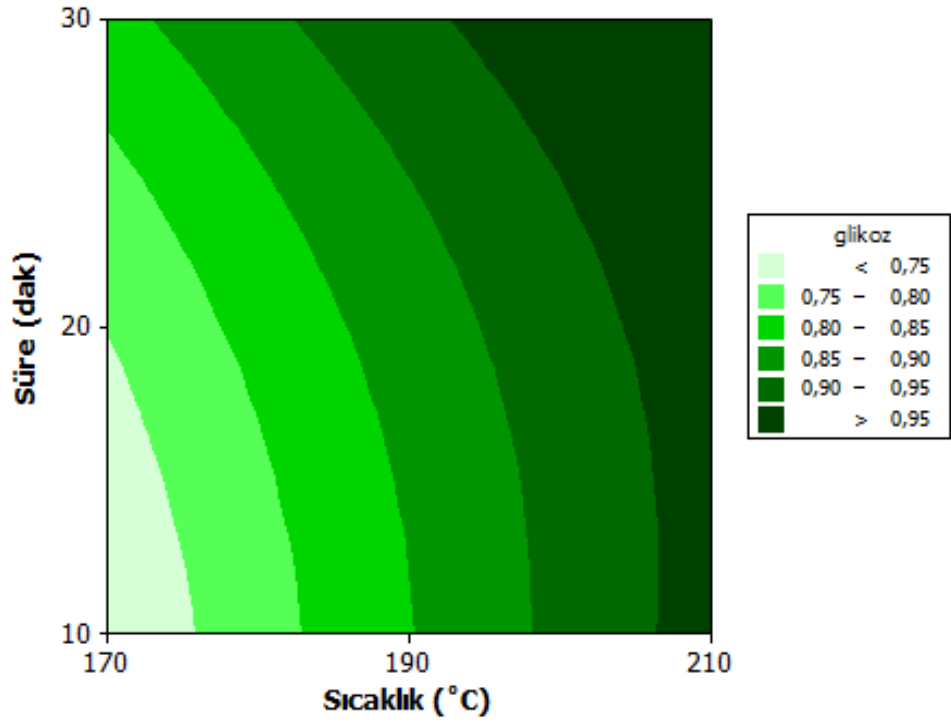
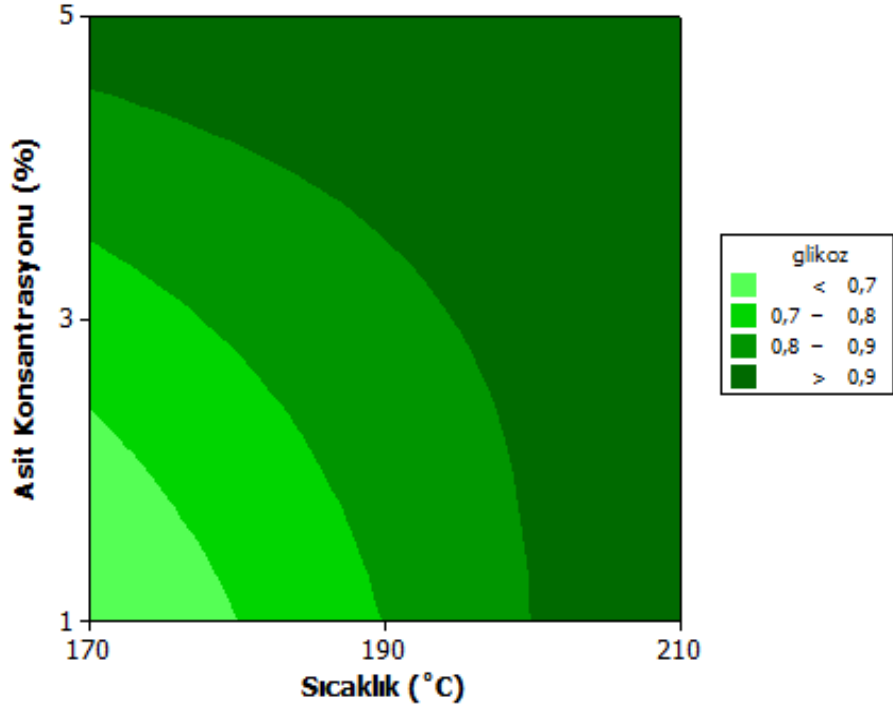
Y_1 (%): glikoz verimi, Y_2 (%): ksiloz verimi

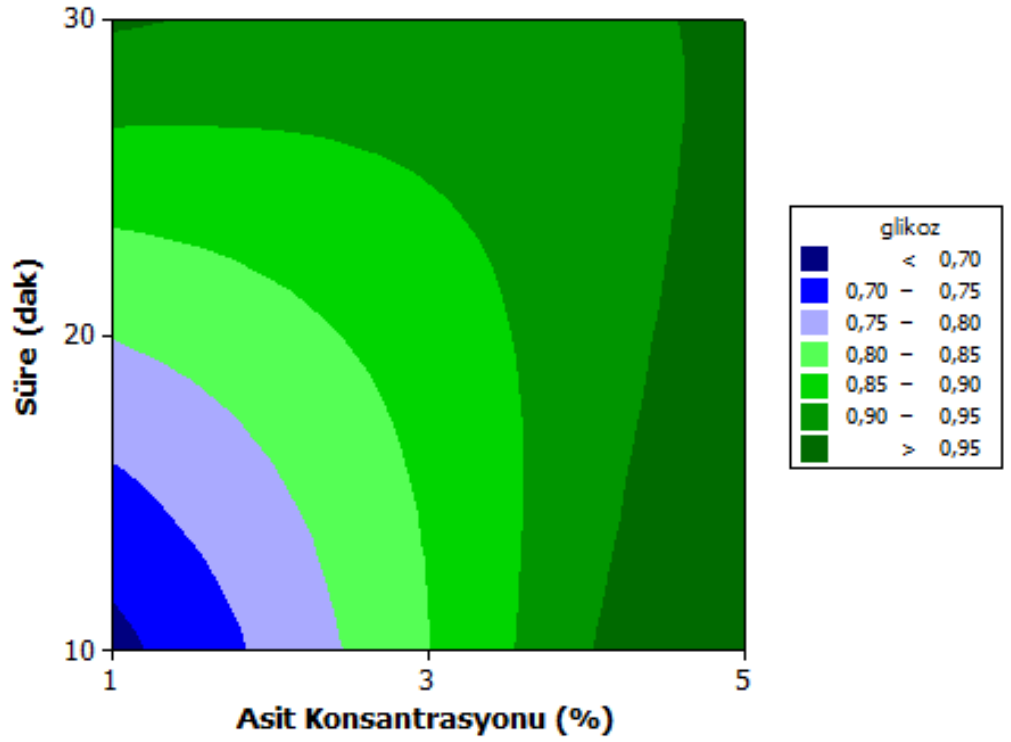
Şekil 4.48 - 4.53'te samanin enzimatik hidroliz aşamasındaki glikoz ve ksiloz verimine proses parametrelerinin (sıcaklık, okzalik asit konsantrasyonu ve ön-işlem süresi) etkileri gösterilmiştir. İstatistiksel olarak glikoz verimine, ön-işlem sıcaklığı ve asit konsantrasyonunun etki ettiği belirlenmiştir (Çizelge 4.4). Glikoz verimine, sıcaklığın ve asit konsantrasyonunun pozitif etkisi olduğu regresyon denkleminde görülmektedir. Başka bir ifadeyle, glikoz verimi, yüksek sıcaklık ve asit konsantrasyonlarında artmaktadır. Okzalik asit konsantrasyonu ve ön-işlem süresi sabitken, sıcaklığın

artırılması glikoz veriminde önemli bir artış sağlamıştır (Şekil 4.48 ve Şekil 4.49). Yüksek sıcaklıklar, lignoselülozik yapıyı daha iyi parçalayarak, enzimlerin yapının içerisine nüfuzunu kolaylaştırmış ve verimin artmasına sebep olmuştur. Benzer sonuçlar literatürde de görülmektedir. Cheng vd. (2018), mısır koçanından biyoetanol üretimi yaptıkları çalışmalarında okzalik asit konsantrasyonu (10, 50, 100, 150, 200 mmol/L), reaksiyon süresi (1, 1.5, 2, 2.5 saat), sıcaklık (130, 140, 150 °C) ile çalışmıştır. Çalışmamıza paralel şekilde sıcaklık arttıkça glikoz verimi artmıştır.

Asit konsantrasyonu ve ön işlem sıcaklığı beraber değerlendirildiğinde düşük asit konsantrasyonunda (%1), ön işlem sıcaklığı 170 °C'den 210 °C'ye arttırıldığında glikoz verimi %54,2'den %99'a artmıştır. Ancak yüksek asit konsantrasyonunda (%5) ön işlem sıcaklığının etkisi glikoz veriminde yalnızca %3-4 artış sağlamaktadır. Glikoz ve ksiloz verimleri ön işlem sıcaklığı 190 °C ve asit konsantrasyonu %3'ten yüksek olduğunda, %90'ın üzerinde bulunmuştur.

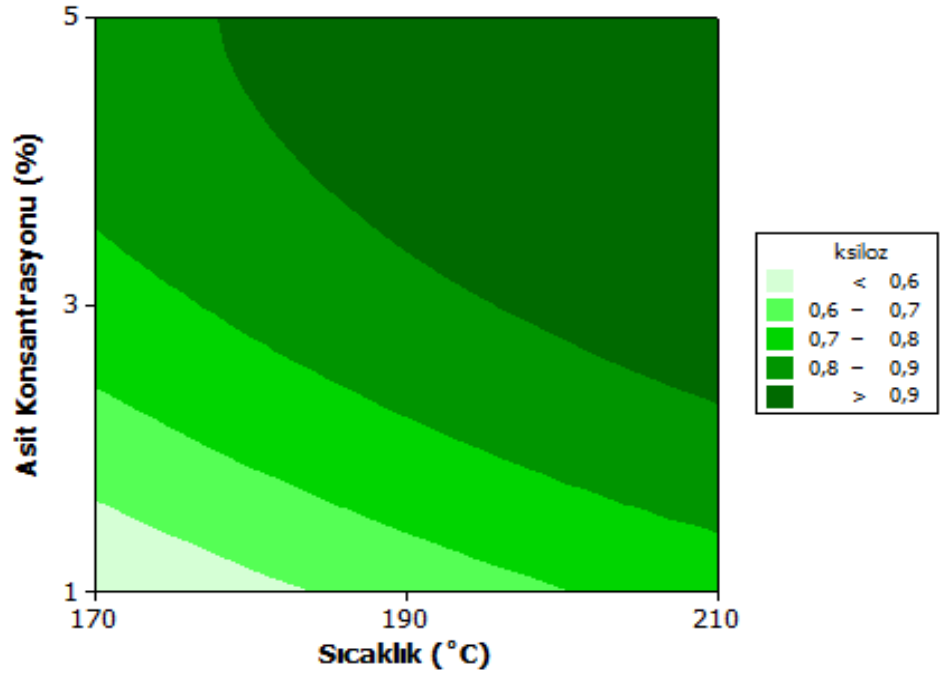
Sabit koşullar altında, asit konsantrasyonunun glikoz verimi üzerine pozitif etkisi tespit edilmiştir. Literatürdeki çalışmalara bakıldığında, Lee vd. (2010) mısır koçanına okzalik asitle muamele etmiş ve glikoz verimini %26 ile %76,2 oranında elde etmiştir. Başka bir okzalik asit çalışmasında karma sert ağaç örnekleri kullanılmış ve glikoz veriminin %72,70-88,64 arasında olduğu belirlenmiştir (Lim ve Lee 2013). Bu çalışmalarda glikoz verimlerinin; hammaddenin yapısı, ön-işlem ve enzimatik hidroliz koşullarındaki değişikliklerden dolayı daha düşük olduğu düşünülmektedir.



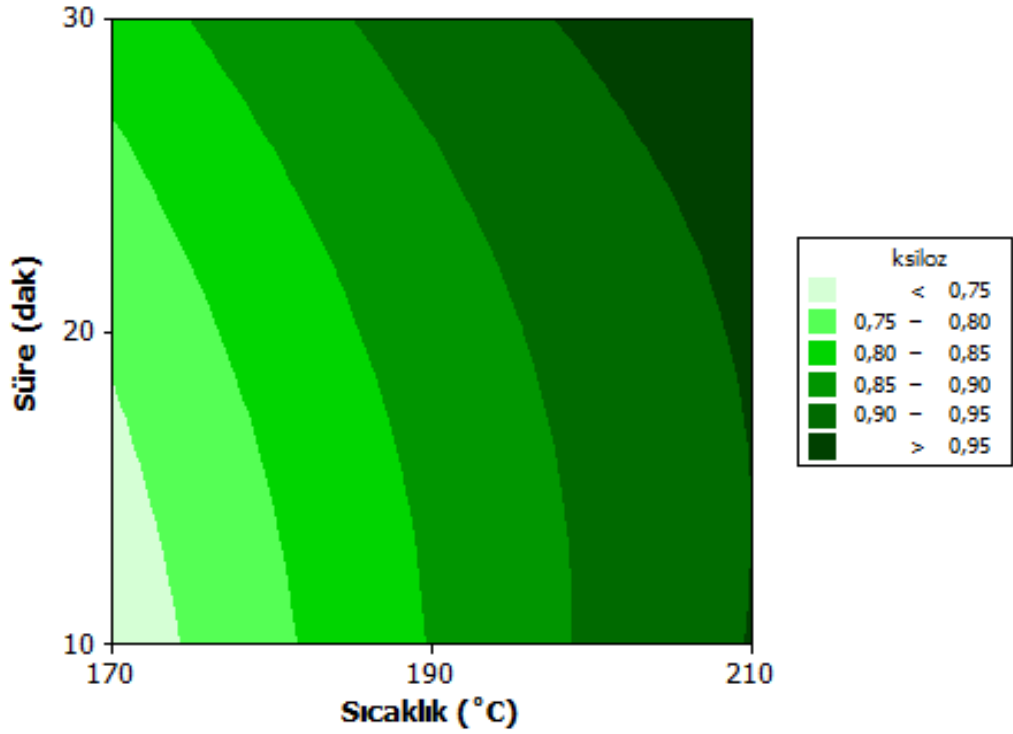


Şekil 4.50 Farklı ön işlem süresi (dak) ve okzalik asit konsantrasyonu (%) değerlerinin glikoz verimine (g/g) etkisi

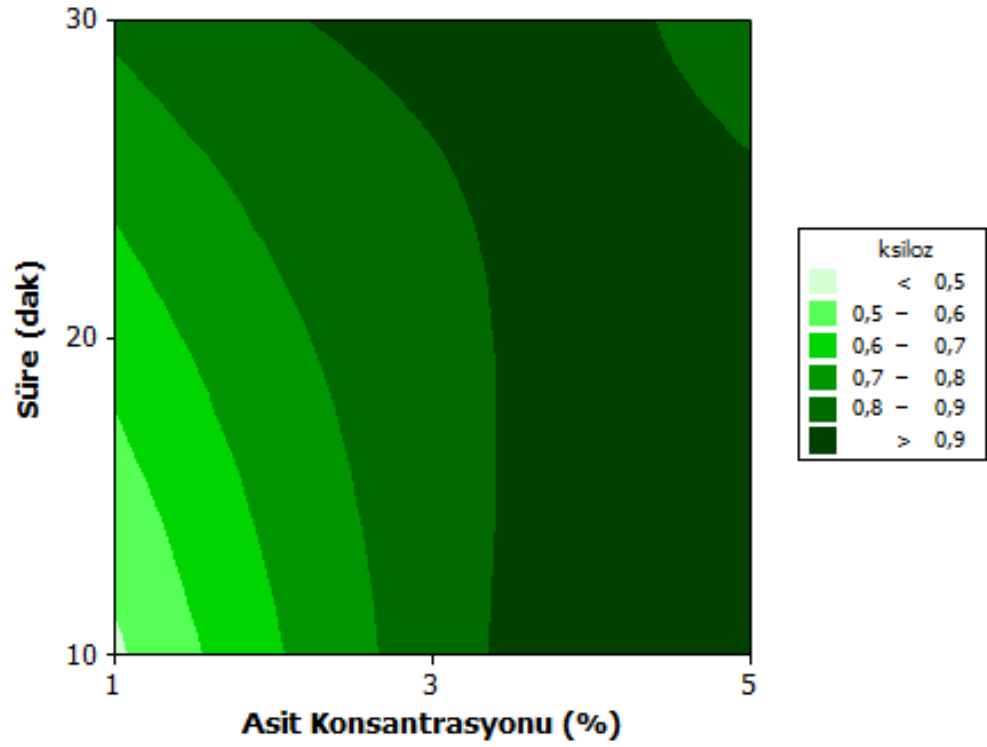
Glikoz veriminde olduğu gibi, istatistiksel olarak yalnızca sıcaklık ve okzalik asit konsantrasyonunun ksiloz verimini önemli ölçüde etkilediği belirlenmiştir (Çizelge 4.4). Maleik ve süksinik asitten farklı olarak, ksiloz verimi üzerine ön-işlem süresinin istatistiksel açıdan önemli bir etki yaratmadığı görülmüştür. Ön-işlem sıcaklığı ve okzalik asit konsantrasyonu arttığında, ksiloz veriminin arttığı tespit edilmiştir. Ksiloz verimi üzerine proses parametrelerinin etkisi Şekil 4.51, Şekil 4.52 ve Şekil 4.53'te de görülmektedir.



Şekil 4.51 Farklı okzalik asit konsantrasyonu (%) ve sıcaklık (°C) değerlerinin ksiloz verimine (g/g) etkisi



Şekil 4.52 Farklı ön işlem süresi (dak) ve sıcaklık (°C) değerlerinin ksiloz verimine (g/g) etkisi



Şekil 4.53 Farklı ön işlem süresi (dak) ve okzalik asit konsantrasyonu (%) değerlerinin ksiloz verimine (g/g) etkisi

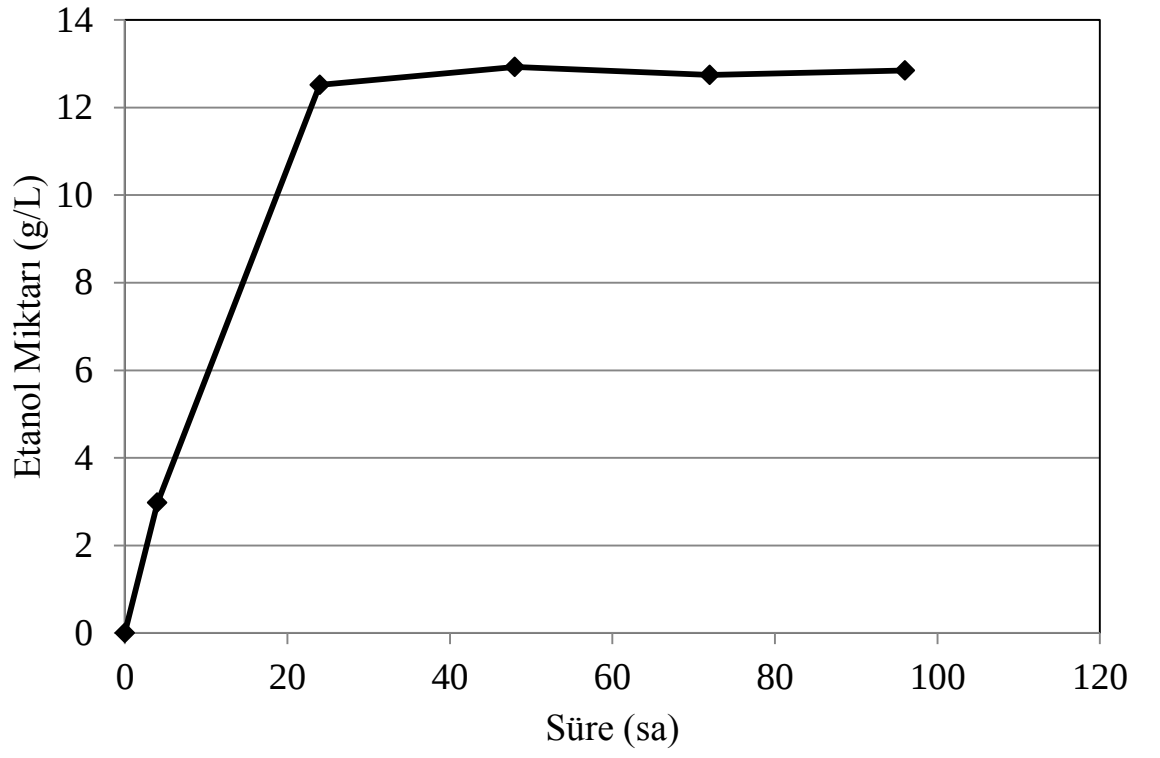
En yüksek ksiloz verimi (%99), 210 °C sıcaklıkta, % 3,6 (yaklaşık 400 mmol/L) okzalik asit ile 16,3 dakika işlenmiş samanda elde edilmiştir. Literatürde okzalik asitin ksiloz verimi üzerine etkisini içeren bilgiler mevcuttur. Cheng vd. (2018) okzalik asit ön işlemine (140 °C işlem sıcaklığı, 2,5 saat işlem süresi ve 150 mmol/L okzalik asit konsantrasyonu) tabi tuttıkları mısır koçanından biyoetanol üretmişlerdir. Ksiloz verimlerini %79,9 olarak rapor etmişlerdir. Okzalik asit konsantrasyonu arttırıldığında, ksiloz veriminin istatistiki olarak arttığını bildirmişlerdir. Verimlerdeki farklılıklar, hammaddenin ve çalışma koşullarının farklı olmasından kaynaklanmaktadır.

Genel olarak okzalik asit sonuçları değerlendirildiğinde samandan yüksek miktarda şeker verimi elde edilmiştir. Bu nedenle okzalik asitin samanın ön işlemi için uygun bir kimyasal olduğu düşünülmektedir. Diğer asitlere göre okzalik asit, daha güçlü bir dikarboksilik asittir, bu yüzden lignoselülozik yapıyı diğer asitlere oranla daha iyi parçaladığı ve hidroliz verimlerini iyileştirdiği görülmüştür.

4.2.3 Okzalik asit ön işleminde proses koşullarının optimizasyonu ve fermentasyon aşaması

Okzalik asit ön işleminde RSM kullanılarak glikoz ve ksiloz verimlilikleri maksimize edilmeye çalışılıp, optimum proses koşulları belirlenmiştir. Optimum noktalar, 210 °C sıcaklık, %3,6 okzalik asit konsantrasyonu ve 16,3 dakika ön-işlem süresi olarak tespit edilmiştir. Optimum noktada verimler glikoz için %98 ve ksiloz için %99 olarak hesaplanmıştır. Deneylerle de bu veriler doğrulanmıştır.

Optimum koşullarda okzalik asitle işlenmiş saman örnekleri kullanılarak fermentasyon deneyleri gerçekleştirilmiş ve elde edilen etanol konsantrasyonunun süre ile değişimi Şekil 4.54'te verilmiştir. Etanol miktarı, maleik asitteki sonuçlara benzer olarak ilk 24 saat içerisinde hızlıca bir artış göstermiş ve yaklaşık 12,9 g/L'de sabitlenmiştir. Etanol verimi materyal ve metot kısmında belirtildiği gibi hesaplanmış ve %79 olarak bulunmuştur. Sonuçlar kıyaslandığında maleik asit ve okzalik asitin benzer etki yarattıkları ve bu asitlerle işlenen samandan yaklaşık olarak aynı oranlarda etanol elde edildiği belirlenmiştir. Literatüre bakıldığında, Lee vd. (2009) mısır koçanı üzerine çalışmış ve 180 °C sıcaklık, %2,4 okzalik asit konsantrasyonu, 50 dakika ön-işlem süresi uygulanmıştır. *Pichia stipitis* CBS 6054 kullanılarak fermentasyon işlemi gerçekleştirilmiş ve etanol verimi % 69,2 olarak bildirilmiştir. Scordia vd. (2011) ise dev kamış (giant reed) ile yaptıkları çalışmalarında sıcaklık (150-190 °C), ön işlem süresi (10-40 dakika) ve okzalik asit konsantrasyonu (%2-8) ön işlem koşulları seçilmiş, maya olarak *S. cerevisiae* FPL 450 kullanılmış ve etanol verimini %53 olarak rapor etmiştir. Bir başka çalışmada Jeong ve Lee (2018), Şitaki mantarından (*Lentinula edodes*), okzalik asit ön işlemi (160 °C sıcaklık, 58 dakika işlem süresi ve 82 mM okzalik asit konsantrasyonu) sonrasında *P. stipitis* CBS 6054 mayası kullanılarak yapılan fermentasyonla biyoetanol üretmiştir ve en yüksek etanol verimini %35,86 olarak bulmuştur. Bu çalışmalardaki hammadde yapısının, ön-işlem parametrelerinin ve kullanılan mikroorganizmadaki farklılığın etanol verimini etkilediği düşünülmektedir.



Şekil 4.54 Optimum koşullarda okzalik asitle işlenmiş samandan üretilen etanol miktarının (g/L) fermantasyon süresi boyunca değişimi

5. SONUÇ

Bu araştırmada lignoselülozik materyal olarak buğday samanından biyoetanol üretimi yapabilmek amacıyla konvansiyonel asit ile ön işlem metodu olarak sıklıkla tercih edilen sülfirik aside alternatif olabileceği düşünülen organik asitlerle ön işlem gerçekleştirilmiş ve bu ön işlemlerin biyokütlenin kompozisyonuna, enzimatik hidroliz verimine (glikoz ve ksiloz verimine) ve etanol verimine etkileri incelenmiştir. Saman örnekleri, 3 farklı sıcaklık (170, 190, 210 °C), asit konsantrasyonu (%1, %3, %5) ve sürede (10, 20, 30 dakika) farklı organik asitlerle (maleik, süksinik, okzalik asit) ön işleme tabi tutulmuştur. Bu araştırmadan elde edilen bulgular aşağıdaki şekilde özetlenebilir.

- Ksilanın ön-işlem boyunca sıvı fazda çözündüğü ve bu durumun örneklerdeki selüloz ve lignin içeriğinde artışa neden olduğu gözlemlenmiştir.
- Sıcaklığın, asit konsantrasyonunun ve sürenin artması ksilozun sıvı fazda daha fazla çözünmesine sebep olmuştur.
- Maleik ve okzalik asitin samandan yüksek miktarda şeker verimi (>%90) elde etmekte çok etkili bir yöntem olduğu bulunmuştur.
- Süksinik asitle işlenmiş örneklerden, maleik ve okzalik asite kıyasla daha az şeker verimi elde edilmiştir. Bu süksinik asitin daha zayıf bir asit olmasından kaynaklanmaktadır.
- Optimum proses parametreleri maleik asit için, 210 °C sıcaklık, %1,08 maleik asit konsantrasyonu ve 19,8 dakika ön-işlem süresi; süksinik asit için, 210 °C sıcaklık, %5 süksinik asit konsantrasyonu ve 30 dakika ön-işlem süresi; okzalik asit için ise, 210 °C sıcaklık, %3,6 okzalik asit konsantrasyonu ve 16,3 dakika ön-işlem süresi olarak bulunmuştur.
- Bu optimum koşullarda gerçekleştirilen fermantasyon deneylerinden elde edilen etanol konsantrasyonları ise maleik, süksinik ve okzalik asit için sırasıyla 12,9, 10,3 ve 12,9 g/L olarak tespit edilmiştir.
- Optimum koşullarda elde edilen etanol verimleri ise maleik, süksinik ve okzalik asit için sırasıyla %80, 59 ve 79 olarak bulunmuştur.

Bu bulgular, organik asitlerin (özellikle maleik asit ve okzalik asitin) buğday samanının yapısını parçalamakta ve etanol eldesinde çok etkili olduğunu göstermektedir. Konvansiyonel asitlere göre çevre kirliliğine sebep olmamaları, toksik olmamaları ve daha az korozyif olmaları gibi avantajları da düşünüldüğünde gelecekte kullanımlarının artacağı açıktır. Gelecek çalışmalarda organik asitlerin konvansiyonel asitlere oranla daha pahalı olması sebebiyle maliyet analizi yapılarak çalışmalar geliştirilebilir.



KAYNAKLAR

- Adıgüzel, A.O., 2013. Lignoselülozik materyallerden biyoetanol üretimi için kullanılan ön muamele ve hidroliz yöntemleri, Sakarya University Journal of Science. 17: 3, 381-397.
- Agbor, V.B., Cicek, N., Sparling, R., Berlin, A. and Levin, D.B. 2011. Biomass pretreatment: Fundamentals toward application, Biotechnology Advances, 29, 675- 685.
- Akgül, M., Güler, C. ve Çetin, N.S., 2001. Enerji Kaynağı Olarak Lignoselülozik Maddelerden Yararlanma, 5. Ulusal Ekoloji ve Çevre Kongresi, 571-579.
- Alvira P., Tomás-Pejó E., Ballesteros M. and Negro M. J., 2010. Pretreatment technologies for an efficient bioethanol production process based on enzymatic hydrolysis: A review, Bioresource Technology, 101, 4851-4861.
- Anonim. 2017. Web Sitesi: <http://www.alasiafranco.com/tr/2-nesil-biyoetanol/> Erişim Tarihi: 18.08.2017
- Anonim. 2006. Global Enerji Dergisi, Biyoetanol ülke için bir fırsattır, <http://www.globalenerji.com.tr/dergide-bu-sayi/2006/9/5/biyoetanol-ulke-icin-bir-firsattir> (Erişim tarihi: 23.02.2014)..
- Anonymous. 2019. Web Sitesi: https://www.researchgate.net/figure/Chemical-structure-of-cellulose_fig2_321756571 Erişim Tarihi: 27.06.2019.
- Anonymous.2017. BP Statistical Review of World Energy, June 2017. Web Sitesi: <https://www.bp.com/content/dam/bp/en/corporate/pdf/energy-economics/statistical-review-2017/bp-statistical-review-of-world-energy-2017-full-report.pdf>. Erişim tarihi: 30.06.2017.
- Antal, M.J., Leesomboon, T., Mok, W.S. and Richards, G.N. 1991. Kinetic studies of the reactions of ketoses and aldoses in water at high temperature. 3. Mechanism of formation of 2- furaldehyde from D-xylose. Carbohydrate Research, 217, 71-85.
- Aspinal, G.O. 1970. Polysaccharides, Pergamon Press Headington Hill Hall, Oxford, 431-438.
- Avgerinos, G.C. and Wang, D.I.C. 1983. Selective delignification for fermentation of enhancement. Biotechnology and Bioengineering, 25, 67-83.
- Bağder Elmacı, S., 2015. Lignoselülozik biyokütleden biyoetanol üretimi sırasında ön işlem koşullarının etanol verimine etkisi. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Ankara.

- Bai, F.W., Anderson, W.A. and Moo-Young, M. 2008. Ethanol fermentation technologies from sugar and starch feedstocks. *Biotechnology Advances* , 26, 89–105.
- Balaban, M. ve Ucar, G. 1999. The effect of the duration of alkali treatment on the solubility of polyoses. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 23, 667-671.
- Balat, M., Balat, H. and Öz, C. 2008. Progress in bioethanol processing. *Progress in Energy and Combustion Science*, 34(5), 551-573.
- Bobleter, O. 1994. Hydrothermal degradation of polymers derived from plants. *Prog. Polym. Sci.* 19, 797 – 841. Boerjan, W., Ralph J. and Baucher, M. 2003. Lignin biosynthesis. *Annual Review of Plant Biology* 54 (1): 519-546
- Bronow, G. 2001. Method to reveal the structure of lignin, *Biopolymer: Lignin, Humic Substances and Coal*, M. Horfricher, A. Steinbuchel, (eds): Wiley-VCH, 93–112.
- Brownell, H.H. and Saddler, J.N. 1987. Steam pretreatment of lignocellulose materials for enhanced enzymatic hydrolysis. *Biotechnology and Bioengineering*, 29, 228-35.
- Brown, R.C. 2003. *Biorenewable Resources: Engineering new products from agriculture*. Iowa State, Ames, IA.
- Canilha, L., Chandel, A.K., Milessi, T.S.S., Antunes, F.A.F., Freitas, W.L.C., Felipe, M.G.A. and Silva, S.S. 2012. Bioconversion of sugarcane biomass into ethanol: an overview about composition, pretreatment methods, detoxification of hydrolysates, enzymatic saccharification, and ethanol fermentation. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, 2012, Article ID 989572, 15 pages.
- Chandel, A. K., Chan, E. S., Rudravaram, R., Narasu, M. L., Rao, L. V., and Ravindra, P. 2007. Economics and environmental impact of bioethanol production technologies: an appraisal. *Biotechnology and Molecular Biology Review*, 2(1), 14-32. Clark, T.A. and Mackie, K.L. 1987. Steam explosion of the soft wood *pinus radiata* with sulphur dioxide addition, *Journal of Wood Chemistry and Technology*, 7, 373-403.
- Cheng, B., Zhang, X., Lin, Q., Xin, F., Sun, R., Wang, X. and Ren, J. 2018. A new approach to recycle oxalic acid during lignocellulose pretreatment for xylose production. *Biotechnology for biofuels*, 11(1), 324.
- Claassen, P. A. M., Van Lier, J. B., Contreras, A. L., Van Niel, E. W. J., Sijtsma, L., Stams, A. J. M., Vrie, S. S. and Weusthuis, R. A. 1999. Utilisation of biomass for the supply of energy carriers. *Applied microbiology and biotechnology*, 52(6), 741-755.
- Converse, A.O. 1993. Substrate factors limiting enzymatic hydrolysis. In: Saddler, J.N., editor. *Bioconversion of forest and agricultural plant residues*. Wallingford, Conn: CAB International. 93-106.

- Dalay, M.C., Öngen, G., Sargın, S., İmamoğlu, E. Ve Sukan, F.V. 2011. Lignoselülozik atıklardan biyoetanol üretimi, Tübitak Projesi, İzmir.
- Delhomme, C., Weuster-Botz, D., and Kühn, F. E. 2009. Succinic acid from renewable resources as a C₄ building-block chemical—a review of the catalytic possibilities in aqueous media. *Green Chemistry*, 11(1), 13-26.
- Deniz, E., Yeşilören, G., Özdemir, N. ve İşçi, A. 2015. Türkiye'de Gıda Endüstrisi Kaynaklı Biyokütle ve Biyoyakıt Potansiyeli. *GIDA*, 40(1), 47-54.
- Doner, L. W. and Hicks K. B. 1997. Isolation of hemicellulose from corn fiber by alkaline hydrogen peroxide extraction. *Cereal Chemistry* 74:176–181.
- Dowe, N. and Mcmillan, J. 2001. Enzymatic saccharification of lignocellulosic biomass. National Renewable Energy Laboratory (NREL) Laboratory Analytical Procedures, NREL/TP-510-42630.
- Ebringerova, A., Hromadkova, Z., Heinze, T. 2005. “Hemicellulose.” *Polysaccharides 1: Structure, Characterization and Use Advances in Polymer Science* 186: 1-67. Eveleigh DE (1987) Cellulase: a perspective. *Philosophical Transactions of the Royal Society London*, 321:435-437.
- Felthouse, T.R., Burnett, J.C., Horrell, B., Mummey, M.J. and Kuo, Y-J., 2001. Maleic anhydride, maleic acid, and fumaric acid: Kirk-Othmer encyclopedia of chemical technology.
- Fengel, D. and Wegener, G. 1984. *Wood: Chemistry, Ultrastructure, Reactions*. De Gruyter, Berlin.
- Galbe, M. and Zacchi, G. 2002. A review of the production of ethanol from softwood. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 59, 618-628.
- Garrote, G., Dominguez, H. and Parajo, J.C. 1999. Hydrothermal processing of lignocellulosic materials. *European Journal of Wood and Wood Products*, 57, 191-202.
- Gaspar, M, Kalman G. and Reczey, K. 2007. Corn fiber as a raw material for hemicellulose and ethanol production. *Process Biochemistry* 42, 1135-9.
- Grabber, J.H. 2005. How the lignin composition, structure and cross-linking affect degradability? A review of cell wall model studies. *Crop Science*, 45, 820-831.
- Gray, M.C., Converse, A.O., Wyman, C.E. 2003. Sugar monomer and oligomer solubility. Data and predictions for application to biomass hydrolysis. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 179-193.
- Gruppen, H., Hamer, R. J. and Voragen A. G. J. 1992. “Water-unextractable cell wall material from wheat flour. 2. Fractionation of alkali-extracted polymers and comparison with water extractable arabinoxylans.” *Journal of Cereal Science* 16:53–67.

- Guo, B., Zhang, Y., Ha, S. J., Jin, Y. S. and Morgenroth, E. 2012. Combined biomimetic and inorganic acids hydrolisis of hemicellulose in miscanthus for bioethanol production. *Bioresource Technology*. 110, 278-287.
- Harmsen, P., W. Huijgen, et al. 2010. Literature review of physical and chemical pretreatment processes for lignocellulosic biomass. *ECN Biomass, Coal and Environmental Research*.
- Hart, H., Hart, D.J. and Craine L.E. 1995. *Organic chemistry*. Houghton Mifflin Company, 289-294, Boston Toronto.
- Harun, R., Jason, W.S.Y., Cherrington, T. and Danquah, M.K. 2010. Microalgal Biomass AS A Cellulosic Fermentation Feedstock for Bioethanol Production, *Renewable and Sustainable Energy Reviews*.
- Hendriks, A.T.W.M. and Zeeman, G. 2009. Pretreatments to enhance the digestibility of lignocellulosic biomass. *Bioresource Technology*, 100, 10- 18.
- Hsu, T.A., Ladisch, M.R. and Tsao, G.T. 1980. Alcohol from cellulose. *Chemical Technology* 10 (5), 315-319.
- Irfan, M., Asghar, U., Nadeem, M., Nelofer, R., Syed, Q., Shakir, H.A. and Qazi, J.I. 2016. Statistical optimization of saccharification of alkali pretreated wheat straw for bioethanol production. *Waste and Biomass Valorization*, 7, 1389-1396.
- Isci, A. 2012. Second Generation Bioethanol Potential of Turkey. *Journal of Renewable and Sustainable Energy*, 4(5):052702 (DOI: 10.1063/1.4763564)
- Jeong, S. Y. and Lee, J. W. 2018. Bioethanol Production from Spent Shiitake (*Lentinula edodes*) Mushroom Medium by Oxalic Acid Pretreatment. *Trends in Agriculture and Life Sciences*, 56, 47-54.
- Jung, Y. H., Park, H. M., and Kim, K. H. 2015. Whole slurry saccharification and fermentation of maleic acid-pretreated rice straw for ethanol production. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 38(9), 1639-1644.
- Jung, Y.H., Kim, I.J., Kim, H.K., Kim, K.H., 2014. Whole slurry fermentation of maleic acid-pretreated oil palm empty fruit bunches for ethanol production not necessitating a detoxification process. *Bioprocess and Biosystems Engineering*,. 37:659-665.
- Jung, Y.H. and Kim, K.H.. 2014. Acidic Pretreatment , In *Pretreatment of Biomass, Processes and Technologies*. Pandey, A., Negi, S., Binod, P. and Larroche, C (eds), Elsevier, , 27- 33, USA.
- Kadar, Z., Szengyel, Z. and Reczey, K. 2004. Simultaneous saccharification and fermentation (SSF) of industrial wastes for the production of ethanol. *Industrial Crops and Products* 20, 103-110.

- Karhumaa, K., Sanchez, R. G., Hahn-Hägerdal, B. and Gorwa-Grauslund, M. F. 2007. Comparison of the xylose reductase-xylitol dehydrogenase and the xylose isomerase pathways for xylose fermentation by recombinant *Saccharomyces cerevisiae*. *Microbial cell factories*, 6(1), 5.
- Kim, S. and Holtzapple, M.T. 2006. Effect of structural features on enzyme digestibility of corn stover. *Bioresource Technology* 97, 583-591.
- Kim, Y., Kreke, T. and Ladisch, M.R. 2013. Reaction Mechanisms and Kinetics of Xylo-Oligosaccharide Hydrolysis by Dicarboxylic Acids, *American Institute of Chemical Engineers Journal*, 59: 1, 188-199.
- Kootstra, A.M.J., Beftink, H.H., Scott, E.L. and Sanders, J.P.M. 2009a. Optimization of the dilute maleic acid pretreatment of wheat straw. *Biotechnology for Biofuels*, 2; 31-45.
- Kootstra, A.M.J. , Beftink,H.H., Scott, E.L. and Sanders, J.P.M. 2009b. Comparison of dilute mineral and organic acid pretreatment for enzymatic hydrolysis of wheat straw. *Biochemical Engineering Journal*, 46 ,126–131.
- Kumar, S., Singh, N. and Prasad, R. 2010. Anhydrous ethanol: a renewable source of energy. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 14, 1830-44.
- Kumar, P., Barrett, D.M., Delwiche, M.J. and Stroeve, P. 2009a. Methods for pretreatment of lignocellulosic biomass for efficient hydrolysis and biofuel production. *Industrial and Engineering Chemistry Research*, 48, 3713- 3729.
- Kumar, S., Singh, S.P., Mishra, I.M. and Adhikari, D.K. 2009b. Recent advances in production of bioethanol from lignocellulosic biomass. *Chemical Engineering and Technology* 32, 517-526.
- Kuru, A. 2009. *Thermofilik streptomyces Sp.NT508 suşundan izole edilen peroksidaz ve endoksilanaz enzimlerinin karakterizasyonu*. Mersin Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi.
- Laureano-Perez, L.,Teymouri,F., Alizadeh, H. and Dale, B.E. 2005. Understanding factors that limit enzymatic hydrolysis of biomass: characterization of pretreated corn stover. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 121-124, 1081-99.
- Lawther, J.M., Sun,R. and Banks, W.B. 1996. Effects of extraction conditions and alkali type on yield and composition of wheat straw hemicellulose. *Journal of Applied Polymer Science*, 60, 1827-1837.
- Lee, H.J., Seo, Y.J. and Lee, J.W. 2013. Characterization of oxalic acid pretreatment on lignocellulosic biomass using oxalic acid recovered by electrodialysis. *Bioresource Technology*, 133; 87-91.
- Lee, J.W. and Jeffries, T.W. 2011. Efficiencies of acid catalysts in the hydrolysis of lignocellulosic biomass over a range of combined severity of factors. *Bioresource Technology*, 102; 5884-5890.

- Lee, J.W., Rodrigues, R.C.L.B., Kim, H.J., Choi, I.G. and Jeffries, T.W. 2010. The roles of xylan and lignin in oxalic acid pretreated corncob during separate enzymatic hydrolysis and ethanol fermentation. *Bioresource Technology*, 101; 4379- 4385.
- Lee, J.W., Rodrigues, R.C.L.B. and Jeffries, T.W. 2009. Simultaneous saccharification and ethanol fermentation of oxalic acid pretreated corncob assessed with response surface methodology. *Bioresource Technology*, 100; 6307-6311.
- Lim, W.S. and Lee, J.W. 2013. Effects of pretreatment factors on fermentable sugar production and enzymatic hydrolysis of mixed hardwood. *Bioresource Technology*, 130; 97–101.
- Lin, Q., Li, H., Ren, J., Deng, A., Li, W., Liu, C. and Sun, R. 2017. Production of xylooligosaccharides by microwave-induced, organic acid-catalyzed hydrolysis of different xylan-type hemicelluloses: Optimization by response surface methodology. *Carbohydrate Polymers*, 157, 214-225.
- Lin, Y. and Tanaka, S. 2006. Ethanol fermentation from biomass resources: current state and prospects. *Applied microbiology and biotechnology*, 69(6), 627-642.
- Liu, R., Li, J. and Shen, F. 2008. Refining bioethanol from stalk juice of sweet sorghum by immobilized yeast fermentation. *Renewable Energy*, 33, 1130–1135.
- Lu, Y. and Mosier, N.S. 2007. Biomimetic catalysis for hemicellulose hydrolysis in corn stover. *Agricultural and Biological Engineering, Biotechnology Progress*, 23; 116–123.
- Lynd, L.R., Weimer, P.J., Zyl, W.H.V. and Pretorius, I.S. 2002. Microbial cellulose utilization: Fundamentals and biotechnology. *Microbiology Molecular Biology Reviews*, 66,506-77.
- Moiser, N., Hendrickson, R., Ho, N., Sedlak, M. and Ladisch, M.R. 2005a. Optimization of pH controlled liquid hot water pretreatment of corn stover. *Bioresource Technology* 96, 1986-1993.
- Moiser, N., Wyman, C., Dale, B., Elander, R., Lee, Y.Y., Holtzapple, M. and Ladisch, M. 2005b. Features of promising technologies for pretreatment of lignocellulosic biomass. *Bioresource Technology* 96, 673-686.
- Moiser, N.S., Sarikaya, A., Ladisch, C.M. and Ladisch, M.R. 2001. Characterization of dicarboxylic acids for cellulose hydrolysis, *Biotechnology Progress*, 17, 474-480.
- Mood, S.H., Golfeshan, A.H., Tabatabaei, M., Jouzani, G.S., Najafi, G.H., Gholami, M., and Ardjmand, M. 2013. Lignocellulosic biomass to bioethanol, a comprehensive review with a focus on pretreatment, *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 27, 77-93.

- Najafpour, G., Younesi, H. and Ismail, K.S.K. 2004. Ethanol fermentation in an immobilized cell reactor using *Saccharomyces cerevisiae*. *Bioresource Technology*, 92, 251–260.
- Nitsos, C.K., Matis, K.A. and Triantafyllidis, K.S. 2013. Optimization of Hydrothermal Pretreatment of Lignocellulosic Biomass in the Bioethanol Production Process, *Chem.Sus.Chem*, 6, 110- 122.
- O'Connor, R. P., R. Woodley, et al. 2007. Process for fractionating lignocellulosic biomass into liquid and solid products, assignee. U. S. A. Nature-works LLC, patent number WO 2007120210.
- Ohgren, K., Bura,R., Lesnicki,G., Saddler, J. and Zacchi,G. 2007. A comparison between simultaneous saccharification and fermentation and separate hydrolysis and fermentation using steam-pretreated corn stover. *Process Biochemistry*, 42, 834-839.
- Onurbaş Avcıoğlu, A., Türker, U., Demirel Atasoy,Z. ve Koçtürk,D. 2011. Tarımsal Kökenli Yenilenebilir Enerjiler- Biyoyakıtlar, 395.
- Özkaya, H. ve Özkaya, B. 2005. Öğütme Teknolojisi. Gıda Teknolojisi Derneği Yayınevi,6, Ankara.Pamir, H. 1985. Fermantasyon Mikrobiyolojisi, Ziraat Fakültesi Yayınları, 936, Ankara.
- Palmqvist, E. and Hahn-Hägerdal, B. 2000. Fermentation of lignocellulosic hydrolysates. II: inhibitors and mechanisms of inhibition. *Bioresource technology*, 74, 25-33.
- Prasad, S., Singh, A. and Joshi, H.C. 2007. Ethanol as an alternative fuel from agricultural, industrial and urban residues. *Resources Conservation and Recycling*, 50, 1-39.
- Qian, X.H., Nimlos, M.R., Davis, D.K., Johnson, D.K. and Himmel, M.E. 2005. Ab initio molecular Dynamics simulations of beta- D- glucose and beta- D- xylose degradation mechanisms in acidic aqueous solution, *Carbohydrate Research*, 340, 2319-2327.
- Qin, L., Liu, Z.H., Li, B.Z., Dale, B.E. and Yuan, Y.J. 2012. Mass balance and transformation of corn cover by pretreatment with different dilute organic acids. *Bioresource Technology*, 112- 319-326.
- Qing, Q., Huang, M., He, Y., Wang, L. and Zhang, Y. 2015. Dilute oxalic acid pretreatment for high total sugar recovery in pretreatment and subsequent enzymatic hydrolysis. *Applied Biochemistry and Biotechnology* 177, 1493-1507.
- Rogers, P. L., Jeon, Y. J., Lee, K. J. and Lawford, H. G. 2007. *Zymomonas mobilis* for fuel ethanol and higher value products. In *Biofuels* Springer, Berlin, Heidelberg. pp. 263-288.

- Saha, B.C. 2003. Hemicellulose bioconversion. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 30: 279- 91.
- Sahu, S., and Pramanik, K. (2018). Evaluation and optimization of organic acid pretreatment of cotton gin waste for enzymatic hydrolysis and bioethanol production. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 186(4), 1047-1060.
- Saritha, M., Arora, A. and Lata. 2012. Biological pretreatment of lignocellulosic substrates for enhanced delignification and enzymatic digestibility, *Indian Journal of Microbiology*, 52(2), 122-130.
- Scordia, D., Cosentino S.L. and Jeffries, T.W. 2013. Effectiveness of dilute oxalic acid pretreatment of *Miscanthus* × *Giganteus* biomass for ethanol production. *Biomass and Bioenergy*, 59; 540- 548.
- Scordia, D., Cosentino S.L., Lee J.W. and Jeffries, T.W. 2011. Dilute oxalic acid pretreatment for biorefining giant reed. *Biomass and Bioenergy*, 35; 3018-3024.
- Scordia, D. Cosentino, S.L. and Jeffries, T.W. 2010. Second generation bioethanol production from *Saccharum spontaneum* L. Ssp. *aegyptiacum* (Willd.) Hack. *Bioresource Technology*, 101, 5358-5365.
- Selig, M., Weiss, N. and Ji, Y. 2008. Enzymatic saccharification of lignocellulosic biomass. National Renewable Energy Laboratory (NREL) Laboratory Analytical Procedures, NREL/TP-510-42629.
- Sivamani, S., Chandrasekaran, A. P., Balajii, M., Shanmugaparakash, M., Hosseini-Bandegharai, A. and Baskar, R. (2018). Evaluation of the potential of cassava-based residues for biofuels production. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, 17(3), 553-570.
- Sluiter, J.B., Ruiz, R.O., Scarlata, C.J., Sluiter, A.D., and Templeton, D.W. 2010. Compositional analysis of lignocellulosic feedstocks. 1. Review And Description Of Methods”, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58: 9043–9053.
- Sluiter, A., Hames, B., Ruiz, R., Scarlata, C., Sluiter, J., Templeton, D. and Crocker, D. 2008. Determination of structural carbohydrates and lignin in biomass. National Renewable Energy Laboratory (NREL) Laboratuvar Analitik prosedürleri NREL/TP-510-42618.
- Somerville, C. 2006. Cellulose synthesis in higher plants. *Annual Review of Cell and Developmental Biology*. 22, 53- 78.
- Sorek, N., Yeats, T.H., Szemenyei, H., Youngs, H. and Somerville, C.R. 2014. The implications of lignocellulosic biomass chemical composition for the production of advanced biofuels. *BioScience*, 64,3.

- Staniszewski, M., Kujawski, W. and Lewandowska, M. 2007. Ethanol production from whey in bioreactor with co-immobilized enzyme and yeast cells followed by pervaporative recovery of product – Kinetic model predictions. *Journal of Food Engineering*, 82, 618– 625.
- Stöcker, M. 2008. Biofuels and biomass to liquid fuels in the biorefinery: Catalytic conversion of lignocellulosic biomass using porous materials. *Angewandte Chemie International Edition*, 47 (48): 9200 – 9211.
- Sun, Y., Cheng, J., 2002. Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol production: a review. *Bioresource Technology* 83, 1-11.
- Sun, R., Lawther, J.M., Banks, W.B., 1997. A tentative chemical structure of wheat straw lignin. *Industrial Crops and Products*, 6, 1-8.
- Talebna, F., Karakashev, D. and Angelidaki, I. 2010. Production of bioethanol from wheat straw: an overview on pretreatment, Hydrolysis and fermentation, *Bioresource Technology*, 101, 4744-4753.
- Temp, U., Eggert, C. and Eriksson, K. L. 1998. A small- scale method for screening of lignin- degrading microorganisms, *Applied Environmental Microbiology*, 60(4),1548-1549.
- Templeton D.W. 1994. Determination of ethanol concentration in biomass to ethanol fermentation supernatants by gas chromatography. National Renewable Energy Laboratory (NREL) Laboratory Analytical Procedures, NREL/LAP-011.
- TUIK, 2017. Web Sitesi: <http://www.tuik.gov.tr/UstMenu.do?metod=temelist> Erişim Tarihi: 18.08.2017.
- Wyman, C.E., Dale, B.E., Elander, R.T., Holtzapple, M., Ladisch, M.R. and Lee, Y.Y. 2005. Coordinated development of leading biomass pretreatment technologies. *Bioresource Technology*, 96, 1959-1966.
- Zeikus, J. G., Jain, M. K. and Elankovan, P. 1999. Biotechnology of succinic acid production and markets for derived industrial products. *Applied microbiology and biotechnology*, 51(5), 545-552.
- Zerbe, J. I. 1988. Biofuel potential and productions, Forum for Applied Research and Public Policy, Madison- WI, USA.
- Zhang,T., Kumar, R. and Wyman, C.E. 2013. Sugar yields from dilute oxalic acid pretreatment of maple wood compared to those with other dilute acids and hot water, *Carbohydrate Polymers* 92, 334–344.

EKLER

EK 1 Maleik Asit İçin İstatiksel Analiz

EK 2 Süksinik Asit İçin İstatiksel Analiz

EK 3 Okzalik Asit İçin İstatiksel Analiz

EK 1 Maleik Asit İçin İstatiksel Analiz

Ek 1.1 Maleik asit ön işlem uygulamasında kompozisyon analizinde selüloz için istatistiksel analiz çizelgeleri

a. Regresyon katsayıları

	Coef.	SE Coef.	T	P
Sabit	0,545108	0,013447	40,536	0,000
X ₁	0,029997	0,008190	3,662	0,015
X ₂	0,026492	0,008781	3,017	0,030
X ₃	-0,007801	0,008781	-0,888	0,415
X ₁ *X ₁	0,026310	0,013447	1,957	0,108
X ₂ *X ₂	-0,021570	0,012463	-1,731	0,144
X ₃ *X ₃	-0,016233	0,012463	-1,303	0,250
X ₁ *X ₂	-0,013667	0,011393	-1,200	0,284
X ₁ *X ₃	-0,035120	0,011393	-3,083	0,027
X ₂ *X ₃	-0,033916	0,013034	-2,602	0,048

S = 0,0235409 PRESS = 0,0526586

R-Sq = %91,11 R-Sq(pred) = %0,00 R-Sq(adj) = %75,10

p ≤ 0,05 istatistiksel olarak önemi belirtir.

b. Varyans analizi

Kaynak	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Regresyon	9	0,028387	0,028387	0,003154	5,69	0,035
Lineer	3	0,010823	0,014467	0,004822	8,70	0,020
X ₁	1	0,007304	0,007433	0,007433	13,41	0,015
X ₂	1	0,003476	0,005044	0,005044	9,10	0,030
X ₃	1	0,000043	0,000437	0,000437	0,79	0,415
Kare	3	0,006194	0,004080	0,001360	2,45	0,178
X ₁ *X ₁	1	0,004097	0,002121	0,002121	3,83	0,108
X ₂ *X ₂	1	0,001307	0,001660	0,001660	3,00	0,144
X ₃ *X ₃	1	0,000790	0,000940	0,000940	1,70	0,250
İnteraksiyon	3	0,011370	0,011370	0,003790	6,84	0,032
X ₁ *X ₂	1	0,000036	0,000798	0,000798	1,44	0,284
X ₁ *X ₃	1	0,007582	0,005266	0,005266	9,50	0,027
X ₂ *X ₃	1	0,003752	0,003752	0,003752	6,77	0,048
Kalıntı hata	5	0,002771	0,002771	0,000554		
Uyum eksikliği	3	0,002771	0,002771	0,000924	*	*
Saf hata	2	0,000000	0,000000	0,000000		
Toplam	14	0,031158				

p ≤ 0,05 istatistiksel olarak önemi belirtir.

Ek 1.2 Maleik asit ön işlem uygulamasında kompozisyon analizinde ksılan için istatistiksel analiz çizelgeleri

a. Regresyon katsayıları

	Coef.	SE Coef.	T	P
Sabit	0,033538	0,006717	4,993	0,004
X ₁	-0,023655	0,004091	-5,782	0,002
X ₂	-0,017314	0,004387	-3,947	0,011
X ₃	-0,013937	0,004387	-3,177	0,025
X ₁ *X ₁	0,002997	0,006717	0,446	0,674
X ₂ *X ₂	0,010110	0,006225	1,624	0,165
X ₃ *X ₃	-0,000367	0,006225	-0,059	0,955
X ₁ *X ₂	0,005096	0,005691	0,895	0,412
X ₁ *X ₃	0,005188	0,005691	0,912	0,404
X ₂ *X ₃	0,015021	0,006511	2,307	0,069

S = 0,0117595 PRESS = 0,0119918

R-Sq = %93,62 R-Sq(pred) = %0,00 R-Sq(adj) = %82,13

p ≤ 0,05 istatistiksel olarak önemi belirtir.

b. Varyans analizi

Kaynak	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Regresyon	9	0,010141	0,010141	0,001127	8,15	0,016
Lineer	3	0,008701	0,008785	0,002928	21,18	0,003
X ₁	1	0,004719	0,004622	0,004622	33,43	0,002
X ₂	1	0,002559	0,002154	0,002154	15,58	0,011
X ₃	1	0,001422	0,001396	0,001396	10,09	0,025
Kare	3	0,000416	0,000415	0,000138	1,00	0,465
X ₁ *X ₁	1	0,000002	0,000028	0,000028	0,20	0,674
X ₂ *X ₂	1	0,000414	0,000365	0,000365	2,64	0,165
X ₃ *X ₃	1	0,000000	0,000000	0,000000	0,00	0,955
İnteraksiyon	3	0,001024	0,001024	0,000341	2,47	0,177
X ₁ *X ₂	1	0,000010	0,000111	0,000111	0,80	0,412
X ₁ *X ₃	1	0,000278	0,000115	0,000115	0,83	0,404
X ₂ *X ₃	1	0,000736	0,000736	0,000736	5,32	0,069
Kalıntı hata	5	0,000691	0,000691	0,000138		
Uyum eksikliği	3	0,000687	0,000687	0,000229	100,03	0,010
Saf hata	2	0,000005	0,000005	0,000002		
Toplam	14	0,010832				

p ≤ 0,05 istatistiksel olarak önemi belirtir.

Ek 1.3 Maleik asit ön işlem uygulamasında kompozisyon analizinde lignin için istatistiksel analiz çizelgeleri

a. Regresyon katsayıları

	Coef.	SE Coef.	T	P
Sabit	0,357663	0,004710	75,938	0,000
X ₁	0,019406	0,002869	6,765	0,001
X ₂	0,011673	0,003076	3,795	0,013
X ₃	0,010594	0,003076	3,444	0,018
X ₁ *X ₁	-0,005953	0,004710	-1,264	0,262
X ₂ *X ₂	-0,001727	0,004365	-0,396	0,709
X ₃ *X ₃	-0,000616	0,004365	-0,141	0,893
X ₁ *X ₂	-0,000374	0,003990	-0,094	0,929
X ₁ *X ₃	0,000082	0,003990	0,021	0,984
X ₂ *X ₃	-0,001050	0,004565	-0,230	0,827

S = 0,00824507 PRESS = 0,00450394

R-Sq = %94,33 R-Sq(pred) = %24,92 R-Sq(adj) = %84,13

p ≤ 0,05 istatistiksel olarak önemi belirtir.

b. Varyans analizi

Kaynak	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Regresyon	9	0,005659	0,005659	0,000629	9,25	0,012
Lineer	3	0,005529	0,005195	0,001732	25,47	0,002
X ₁	1	0,003519	0,003111	0,003111	45,76	0,001
X ₂	1	0,001251	0,000979	0,000979	14,41	0,013
X ₃	1	0,000759	0,000807	0,000807	11,86	0,018
Kare	3	0,000126	0,000127	0,000042	0,62	0,630
X ₁ *X ₁	1	0,000113	0,000109	0,000109	1,60	0,262
X ₂ *X ₂	1	0,000011	0,000011	0,000011	0,16	0,709
X ₃ *X ₃	1	0,000002	0,000001	0,000001	0,02	0,893
İnteraksiyon	3	0,000004	0,000004	0,000001	0,02	0,996
X ₁ *X ₂	1	0,000000	0,000001	0,000001	0,01	0,929
X ₁ *X ₃	1	0,000000	0,000000	0,000000	0,00	0,984
X ₂ *X ₃	1	0,000004	0,000004	0,000004	0,05	0,827
Kalıntı hata	5	0,000340	0,000340	0,000068		
Uyum eksikliği	3	0,000250	0,000250	0,000083	1,84	0,371
Saf hata	2	0,000090	0,000090	0,000045		
Toplam	14	0,005998				

p ≤ 0,05 istatistiksel olarak önemi belirtir.

Ek 1.4 Maleik asit ön işlem uygulamasında enzimatik hidroliz analizinde glikoz verimlilikleri için istatistiksel analiz çizelgeleri

a. Regresyon katsayıları

	Coef.	SE Coef.	T	P
Sabit	0,946575	0,03175	29,809	0,000
X ₁	0,198367	0,02498	7,944	0,001
X ₂	0,051019	0,02075	2,458	0,070
X ₃	0,151121	0,02609	5,792	0,004
X ₁ *X ₁	-0,193213	0,03711	-5,207	0,006
X ₂ *X ₂	-0,002753	0,03326	-0,083	0,938
X ₃ *X ₃	-0,056859	0,03208	-1,772	0,151
X ₁ *X ₂	-0,096819	0,02703	-3,582	0,023
X ₁ *X ₃	-0,118721	0,03695	-3,213	0,033
X ₂ *X ₃	-0,122226	0,03088	-3,958	0,017

S = 0,0554673 PRESS = 0,683520
R-Sq = %96,94 R-Sq(pred) = %0,00 R-Sq(adj) = %90,06
p ≤ 0,05 istatistiksel olarak önemi belirtir.

b. Varyans analizi

Kaynak	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Regresyon	9	0,390252	0,390252	0,043361	14,09	0,011
Lineer	3	0,255813	0,255813	0,085271	27,72	0,004
X ₁	1	0,194134	0,194134	0,194134	63,10	0,001
X ₂	1	0,018594	0,018594	0,018594	6,04	0,070
X ₃	1	0,103227	0,103227	0,103227	33,55	0,004
Kare	3	0,096294	0,096294	0,032098	10,43	0,023
X ₁ *X ₁	1	0,040269	0,083417	0,083417	27,11	0,006
X ₂ *X ₂	1	0,009970	0,000021	0,000021	0,01	0,938
X ₃ *X ₃	1	0,002861	0,009664	0,009664	3,14	0,151
İnteraksiyon	3	0,102653	0,102653	0,034218	11,12	0,021
X ₁ *X ₂	1	0,016159	0,039478	0,039478	12,83	0,023
X ₁ *X ₃	1	0,038299	0,031754	0,031754	10,32	0,033
X ₂ *X ₃	1	0,048195	0,048195	0,048195	15,66	0,017
Kalıntı hata	4	0,012306	0,012306	0,003077		
Uyum eksikliği	2	0,009812	0,009812	0,004906	3,93	0,203
Saf hata	2	0,002494	0,002494	0,001247		
Toplam	13	0,402559				

p ≤ 0,05 istatistiksel olarak önemi belirtir.

Ek 1.5 Maleik asit ön işlem uygulamasında enzimatik hidroliz analizinde ksiloz verimlilikleri için istatistiksel analiz çizelgeleri

a. Regresyon katsayıları

	Coef.	SE Coef.	T	P
Sabit	0,83740	0,03949	21,207	0,000
X ₁	0,17167	0,03106	5,527	0,005
X ₂	0,05608	0,02581	2,173	0,095
X ₃	0,13179	0,03244	4,062	0,015
X ₁ *X ₁	-0,16637	0,04614	-3,606	0,023
X ₂ *X ₂	0,01773	0,04136	0,429	0,690
X ₃ *X ₃	-0,09677	0,03989	-2,426	0,072
X ₁ *X ₂	-0,15389	0,03361	-4,579	0,010
X ₁ *X ₃	-0,24486	0,04595	-5,329	0,006
X ₂ *X ₃	-0,16824	0,03840	-4,381	0,012

S = 0,0689740 PRESS = 0,551587

R-Sq = %95,66 R-Sq(pred) = %0,00 R-Sq(adj) = %85,89

p ≤ 0,05 istatistiksel olarak önemi belirtir.

b. Varyans analizi

Kaynak	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Regresyon	9	0,419282	0,419282	0,046587	9,79	0,021
Lineer	3	0,108667	0,204806	0,068269	14,35	0,013
X ₁	1	0,051845	0,145346	0,145346	30,55	0,005
X ₂	1	0,048057	0,022463	0,022463	4,72	0,095
X ₃	1	0,008765	0,078514	0,078514	16,50	0,015
Kare	3	0,025540	0,082080	0,027360	5,75	0,062
X ₁ *X ₁	1	0,002994	0,061849	0,061849	13,00	0,023
X ₂ *X ₂	1	0,018369	0,000874	0,000874	0,18	0,690
X ₃ *X ₃	1	0,004177	0,027993	0,027993	5,88	0,072
İnteraksiyon	3	0,285076	0,285076	0,095025	19,97	0,007
X ₁ *X ₂	1	0,040107	0,099734	0,099734	20,96	0,010
X ₁ *X ₃	1	0,153658	0,135082	0,135082	28,39	0,006
X ₂ *X ₃	1	0,091311	0,091311	0,091311	19,19	0,012
Kalıntı hata	4	0,019030	0,019030	0,004757		
Uyum eksikliği	2	0,016811	0,016811	0,008406	7,58	0,117
Saf hata	2	0,002219	0,002219	0,001109		
Toplam	13	0,438312				

p ≤ 0,05 istatistiksel olarak önemi belirtir.

EK 2 Süksinik Asit İçin İstatiksel Analiz

Ek 2.1 Süksinik asit ön işlem uygulamasında kompozisyon analizinde selüloz için istatistiksel analiz çizelgeleri

a. Regresyon katsayıları

	Coef.	SE Coef.	T	P
Sabit	0,433180	0,006456	67,095	0,000
X ₁	0,051260	0,003932	13,036	0,000
X ₂	0,013405	0,004216	3,180	0,025
X ₃	0,026431	0,004216	6,269	0,002
X ₁ *X ₁	0,005494	0,006456	0,851	0,434
X ₂ *X ₂	0,001837	0,005983	0,307	0,771
X ₃ *X ₃	0,003541	0,005983	0,592	0,580
X ₁ *X ₂	0,018364	0,005470	3,357	0,020
X ₁ *X ₃	0,007818	0,005470	1,429	0,212
X ₂ *X ₃	0,009327	0,006258	1,490	0,196

S = 0,0113021 PRESS = 0,00736936

R-Sq = %97,99 R-Sq(pred) = %76,76 R-Sq(adj) = %94,36

p ≤ 0,05 istatistiksel olarak önemi belirtir.

b. Varyans analizi

Kaynak	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Regresyon	9	0,031068	0,031068	0,003452	27,02	0,001
Lineer	3	0,029111	0,028060	0,009353	73,22	0,000
X ₁	1	0,021640	0,021706	0,021706	169,93	0,000
X ₂	1	0,001102	0,001291	0,001291	10,11	0,025
X ₃	1	0,006369	0,005021	0,005021	39,30	0,002
Kare	3	0,000172	0,000159	0,000053	0,42	0,749
X ₁ *X ₁	1	0,000041	0,000092	0,000092	0,72	0,434
X ₂ *X ₂	1	0,000034	0,000012	0,000012	0,09	0,771
X ₃ *X ₃	1	0,000098	0,000045	0,000045	0,35	0,580
İnteraksiyon	3	0,001785	0,001785	0,000595	4,66	0,065
X ₁ *X ₂	1	0,001099	0,001440	0,001440	11,27	0,020
X ₁ *X ₃	1	0,000402	0,000261	0,000261	2,04	0,212
X ₂ *X ₃	1	0,000284	0,000284	0,000284	2,22	0,196
Kalıntı hata	5	0,000639	0,000639	0,000128		
Uyum eksikliği	3	0,000410	0,000410	0,000137	1,19	0,486
Saf hata	2	0,000229	0,000229	0,000115		
Toplam	14	0,031707				

p ≤ 0,05 istatistiksel olarak önemi belirtir.

Ek 2.2 Süksinik asit ön işlem uygulamasında kompozisyon analizinde ksılan için istatistiksel analiz çizelgeleri

a. Regresyon katsayıları

	Coef.	SE Coef.	T	P
Sabit	0,150801	0,005419	27,827	0,000
X ₁	-0,043572	0,003301	-13,201	0,000
X ₂	-0,013075	0,003539	-3,695	0,014
X ₃	-0,016643	0,003539	-4,703	0,005
X ₁ *X ₁	-0,018005	0,005419	-3,323	0,021
X ₂ *X ₂	0,005041	0,005022	1,004	0,362
X ₃ *X ₃	-0,002169	0,005022	-0,432	0,684
X ₁ *X ₂	-0,011221	0,004591	-2,444	0,058
X ₁ *X ₃	-0,005563	0,004591	-1,212	0,280
X ₂ *X ₃	0,013700	0,005253	2,608	0,048

S = 0,00948667 PRESS = 0,00394283

R-Sq = %97,96 R-Sq(pred) = %82,14 R-Sq(adj) = %94,29

p ≤ 0,05 istatistiksel olarak önemi belirtir.

b. Varyans analizi

Kaynak	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Regresyon	9	0,021624	0,021624	0,002403	26,70	0,001
Lineer	3	0,018418	0,019351	0,006450	71,67	0,000
X ₁	1	0,014574	0,015683	0,015683	174,26	0,000
X ₂	1	0,000897	0,001229	0,001229	13,65	0,014
X ₃	1	0,002946	0,001991	0,001991	22,12	0,005
Kare	3	0,001748	0,001098	0,000366	4,07	0,083
X ₁ *X ₁	1	0,001634	0,000994	0,000994	11,04	0,021
X ₂ *X ₂	1	0,000092	0,000091	0,000091	1,01	0,362
X ₃ *X ₃	1	0,000022	0,000017	0,000017	0,19	0,684
İnteraksiyon	3	0,001458	0,001458	0,000486	5,40	0,050
X ₁ *X ₂	1	0,000804	0,000538	0,000538	5,97	0,058
X ₁ *X ₃	1	0,000043	0,000132	0,000132	1,47	0,280
X ₂ *X ₃	1	0,000612	0,000612	0,000612	6,80	0,048
Kalıntı hata	5	0,000450	0,000450	0,000090		
Uyum eksikliği	3	0,000216	0,000216	0,000072	0,61	0,668
Saf hata	2	0,000234	0,000234	0,000117		
Toplam	14	0,022074				

p ≤ 0,05 istatistiksel olarak önemi belirtir.

Ek 2.3 Süksinik asit ön işlem uygulamasında kompozisyon analizinde lignin için istatistiksel analiz çizelgeleri

a. Regresyon katsayıları

	Coef.	SE Coef.	T	P
Sabit	0,270163	0,003008	89,813	0,000
X ₁	0,024885	0,001832	13,583	0,000
X ₂	0,007997	0,001964	4,071	0,010
X ₃	0,011062	0,001964	5,632	0,002
X ₁ *X ₁	0,010430	0,003008	3,467	0,018
X ₂ *X ₂	0,002520	0,002788	0,904	0,408
X ₃ *X ₃	0,001691	0,002788	0,607	0,571
X ₁ *X ₂	0,008282	0,002548	3,250	0,023
X ₁ *X ₃	0,004145	0,002548	1,627	0,165
X ₂ *X ₃	0,001790	0,002916	0,614	0,566

S = 0,00526583 PRESS = 0,00150368

R-Sq = %98,15 R-Sq(pred) = %79,95 R-Sq(adj) = %94,82

p ≤ 0,05 istatistiksel olarak önemi belirtir.

b. Varyans analizi

Kaynak	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Regresyon	9	0,007363	0,007363	0,000818	29,50	0,001
Lineer	3	0,006606	0,006591	0,002197	79,24	0,000
X ₁	1	0,004985	0,005116	0,005116	184,49	0,000
X ₂	1	0,000325	0,000460	0,000460	16,57	0,010
X ₃	1	0,001296	0,000879	0,000879	31,72	0,002
Kare	3	0,000406	0,000386	0,000129	4,65	0,066
X ₁ *X ₁	1	0,000356	0,000333	0,000333	12,02	0,018
X ₂ *X ₂	1	0,000031	0,000023	0,000023	0,82	0,408
X ₃ *X ₃	1	0,000019	0,000010	0,000010	0,37	0,571
İnteraksiyon	3	0,000350	0,000350	0,000117	4,21	0,078
X ₁ *X ₂	1	0,000251	0,000293	0,000293	10,56	0,023
X ₁ *X ₃	1	0,000089	0,000073	0,000073	2,65	0,165
X ₂ *X ₃	1	0,000010	0,000010	0,000010	0,38	0,566
Kalıntı hata	5	0,000139	0,000139	0,000028		
Uyum eksikliği	3	0,000086	0,000086	0,000029	1,09	0,512
Saf hata	2	0,000053	0,000053	0,000026		
Toplam	14	0,007501				

p ≤ 0,05 istatistiksel olarak önemi belirtir.

Ek 2.4 Süksinik asit ön işlem uygulamasında enzimatik hidroliz analizinde glikoz verimlilikleri için istatistiksel analiz çizelgeleri

a. Regresyon katsayıları

	Coef.	SE Coef.	T	P
Sabit	0,31227	0,01668	18,721	0,000
X ₁	0,15154	0,01016	14,916	0,000
X ₂	0,05357	0,01089	4,918	0,004
X ₃	0,05763	0,01089	5,291	0,003
X ₁ *X ₁	0,05628	0,01668	3,374	0,020
X ₂ *X ₂	0,01250	0,01546	0,809	0,455
X ₃ *X ₃	0,01095	0,01546	0,708	0,510
X ₁ *X ₂	0,04749	0,01413	3,361	0,020
X ₁ *X ₃	0,01764	0,01413	1,248	0,267
X ₂ *X ₃	-0,02145	0,01617	-1,326	0,242

S = 0,0292001 PRESS = 0,0349992
R-Sq = %98,39 R-Sq(pred) = %86,78 R-Sq(adj) = %95,49
p ≤ 0,05 istatistiksel olarak önemi belirtir.

b. Varyans analizi

Kaynak	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Regresyon	9	0,260563	0,260563	0,028951	33,95	0,001
Lineer	3	0,231331	0,242257	0,080752	94,71	0,000
X ₁	1	0,179667	0,189697	0,189697	222,48	0,000
X ₂	1	0,015718	0,020621	0,020621	24,18	0,004
X ₃	1	0,035947	0,023867	0,023867	27,99	0,003
Kare	3	0,015689	0,011290	0,003763	4,41	0,072
X ₁ *X ₁	1	0,014208	0,009706	0,009706	11,38	0,020
X ₂ *X ₂	1	0,000764	0,000558	0,000558	0,65	0,455
X ₃ *X ₃	1	0,000717	0,000428	0,000428	0,50	0,510
İnteraksiyon	3	0,013543	0,013543	0,004514	5,29	0,052
X ₁ *X ₂	1	0,011197	0,009631	0,009631	11,30	0,020
X ₁ *X ₃	1	0,000846	0,001328	0,001328	1,56	0,267
X ₂ *X ₃	1	0,001500	0,001500	0,001500	1,76	0,242
Kalıntı hata	5	0,004263	0,004263	0,000853		
Uyum eksikliği	3	0,001791	0,001791	0,000597	0,48	0,728
Saf hata	2	0,002472	0,002472	0,001236		
Toplam	14	0,264827				

p ≤ 0,05 istatistiksel olarak önemi belirtir.

Ek 2.5 Süksinik asit ön işlem uygulamasında enzimatik hidroliz analizinde ksiloz verimlilikleri için istatistiksel analiz çizelgeleri

a. Regresyon katsayıları

	Coef.	SE Coef.	T	P
Sabit	0,241259	0,01643	14,686	0,000
X ₁	0,126149	0,01001	12,607	0,000
X ₂	0,020084	0,01073	1,872	0,120
X ₃	0,049722	0,01073	4,635	0,006
X ₁ *X ₁	0,032509	0,01643	1,979	0,105
X ₂ *X ₂	-0,001270	0,01522	-0,083	0,937
X ₃ *X ₃	0,011346	0,01522	0,745	0,490
X ₁ *X ₂	0,003163	0,01392	0,227	0,829
X ₁ *X ₃	-0,001479	0,01392	-0,106	0,919
X ₂ *X ₃	-0,055714	0,01592	-3,499	0,017

S = 0,0287586 PRESS = 0,0378589
R-Sq = %97,50 R-Sq(pred) = %77,14 R-Sq(adj) = %93,01
p ≤ 0,05 istatistiksel olarak önemi belirtir.

b. Varyans analizi

Kaynak	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Regresyon	9	0,161493	0,161493	0,017944	21,70	0,002
Lineer	3	0,141159	0,150953	0,050318	60,84	0,000
X ₁	1	0,116358	0,131460	0,131460	158,95	0,000
X ₂	1	0,002329	0,002899	0,002899	3,50	0,120
X ₃	1	0,022472	0,017768	0,017768	21,48	0,006
Kare	3	0,008664	0,003901	0,001300	1,57	0,307
X ₁ *X ₁	1	0,008247	0,003239	0,003239	3,92	0,105
X ₂ *X ₂	1	0,000041	0,000006	0,000006	0,01	0,937
X ₃ *X ₃	1	0,000376	0,000459	0,000459	0,56	0,490
İnteraksiyon	3	0,011671	0,011671	0,003890	4,70	0,064
X ₁ *X ₂	1	0,000954	0,000043	0,000043	0,05	0,829
X ₁ *X ₃	1	0,000592	0,000009	0,000009	0,01	0,919
X ₂ *X ₃	1	0,010125	0,010125	0,010125	12,24	0,017
Kalıntı hata	5	0,004135	0,004135	0,000827		
Uyum eksikliği	3	0,001923	0,001923	0,000641	0,58	0,683
Saf hata	2	0,002212	0,002212	0,001106		
Toplam	14	0,165628				

p ≤ 0,05 istatistiksel olarak önemi belirtir.

EK 3 Okzalik Asit İçin İstatiksel Analiz

Ek 3.1 Okzalik asit ön işlem uygulamasında kompozisyon analizinde selüloz için istatistiksel analiz çizelgeleri

a. Regresyon katsayıları

	Coef.	SE Coef.	T	P
Sabit	0,551409	0,015919	34,638	0,000
X ₁	0,040303	0,009696	4,157	0,009
X ₂	-0,021820	0,010395	-2,099	0,090
X ₃	0,028265	0,010395	2,719	0,042
X ₁ *X ₁	-0,063779	0,015919	-4,006	0,010
X ₂ *X ₂	-0,031509	0,014753	-2,136	0,086
X ₃ *X ₃	0,029843	0,014753	2,023	0,099
X ₁ *X ₂	0,001701	0,013487	0,126	0,905
X ₁ *X ₃	-0,036434	0,013487	-2,702	0,043
X ₂ *X ₃	-0,027604	0,015430	-1,789	0,134

S = 0,0278677 PRESS = 0,0328482

R-Sq = %91,83 R-Sq(pred) = %30,90 R-Sq(adj) = %77,13

$p \leq 0,05$ istatistiksel olarak önemi belirtir.

b. Varyans analizi

Kaynak	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Regresyon	9	0,043656	0,043656	0,004851	6,25	0,029
Lineer	3	0,015511	0,019152	0,006384	8,22	0,022
X ₁	1	0,008346	0,013419	0,013419	17,28	0,009
X ₂	1	0,002456	0,003422	0,003422	4,41	0,090
X ₃	1	0,004709	0,005742	0,005742	7,39	0,042
Kare	3	0,017422	0,020170	0,006723	8,66	0,020
X ₁ *X ₁	1	0,009832	0,012466	0,012466	16,05	0,010
X ₂ *X ₂	1	0,003422	0,003542	0,003542	4,56	0,086
X ₃ *X ₃	1	0,004168	0,003178	0,003178	4,09	0,099
İnteraksiyon	3	0,010723	0,010723	0,003574	4,60	0,067
X ₁ *X ₂	1	0,000591	0,000012	0,000012	0,02	0,905
X ₁ *X ₃	1	0,007647	0,005668	0,005668	7,30	0,043
X ₂ *X ₃	1	0,002485	0,002485	0,002485	3,20	0,134
Kalıntı hata	5	0,003883	0,003883	0,000777		
Uyum eksikliği	3	0,001682	0,001682	0,000561	0,51	0,715
Saf hata	2	0,002201	0,002201	0,001101		
Toplam	14	0,047539				

$p \leq 0,05$ istatistiksel olarak önemi belirtir.

Ek 3.2 Okzalik asit ön işlem uygulamasında kompozisyon analizinde ksılan için istatistiksel analiz çizelgeleri

a. Regresyon katsayıları

	Coef.	SE Coef.	T	P
Sabit	0,017265	0,005522	3,126	0,026
X ₁	-0,017535	0,003363	-5,213	0,003
X ₂	-0,013232	0,003606	-3,669	0,014
X ₃	-0,008100	0,003606	-2,246	0,075
X ₁ *X ₁	0,004022	0,005522	0,728	0,499
X ₂ *X ₂	0,005983	0,005118	1,169	0,295
X ₃ *X ₃	-0,000766	0,005118	-0,150	0,887
X ₁ *X ₂	0,004908	0,004678	1,049	0,342
X ₁ *X ₃	0,003741	0,004678	0,800	0,460
X ₂ *X ₃	0,010117	0,005353	1,890	0,117

S = 0,00966714 PRESS = 0,00766345

R-Sq = %92,04 R-Sq(pred) = %0,00 R-Sq(adj) = %77,71

p ≤ 0,05 istatistiksel olarak önemi belirtir.

b. Varyans analizi

Kaynak	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Regresyon	9	0,005403	0,005403	0,000600	6,42	0,027
Lineer	3	0,004742	0,004638	0,001546	16,54	0,005
X ₁	1	0,002752	0,002540	0,002540	27,18	0,003
X ₂	1	0,001563	0,001258	0,001258	13,46	0,014
X ₃	1	0,000427	0,000472	0,000472	5,05	0,075
Kare	3	0,000162	0,000195	0,000065	0,69	0,594
X ₁ *X ₁	1	0,000007	0,000050	0,000050	0,53	0,499
X ₂ *X ₂	1	0,000155	0,000128	0,000128	1,37	0,295
X ₃ *X ₃	1	0,000000	0,000002	0,000002	0,02	0,887
İnteraksiyon	3	0,000499	0,000499	0,000166	1,78	0,267
X ₁ *X ₂	1	0,000027	0,000103	0,000103	1,10	0,342
X ₁ *X ₃	1	0,000138	0,000060	0,000060	0,64	0,460
X ₂ *X ₃	1	0,000334	0,000334	0,000334	3,57	0,117
Kalıntı hata	5	0,000467	0,000467	0,000093		
Uyum eksikliği	3	0,000461	0,000461	0,000154	48,62	0,020
Saf hata	2	0,000006	0,000006	0,000003		
Toplam	14	0,005870				

p ≤ 0,05 istatistiksel olarak önemi belirtir.

Ek 3.3 Okzalik asit ön işlem uygulamasında kompozisyon analizinde lignin için istatistiksel analiz çizelgeleri

a. Regresyon katsayıları

	Coef.	SE Coef.	T	P
Sabit	0,360884	0,002357	153,122	0,000
X ₁	0,022162	0,001435	15,438	0,000
X ₂	0,011392	0,001539	7,402	0,001
X ₃	0,007786	0,001539	5,059	0,004
X ₁ *X ₁	0,002898	0,002357	1,230	0,274
X ₂ *X ₂	-0,003039	0,002184	-1,391	0,223
X ₃ *X ₃	0,001278	0,002184	0,585	0,584
X ₁ *X ₂	0,003136	0,001997	1,570	0,177
X ₁ *X ₃	0,001693	0,001997	0,848	0,435
X ₂ *X ₃	-0,003398	0,002284	-1,488	0,197

S = 0,00412583 PRESS = 0,00121401

R-Sq = %98,60 R-Sq(pred) = %80,10 R-Sq(adj) = %96,09

p ≤ 0,05 istatistiksel olarak önemi belirtir.

b. Varyans analizi

Kaynak	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Regresyon	9	0,006014	0,006014	0,000668	39,26	0,000
Lineer	3	0,005820	0,005778	0,001926	113,15	0,000
X ₁	1	0,004322	0,004057	0,004057	238,35	0,000
X ₂	1	0,000959	0,000933	0,000933	54,79	0,001
X ₃	1	0,000539	0,000436	0,000436	25,59	0,004
Kare	3	0,000091	0,000066	0,000022	1,29	0,373
X ₁ *X ₁	1	0,000050	0,000026	0,000026	1,51	0,274
X ₂ *X ₂	1	0,000035	0,000033	0,000033	1,94	0,223
X ₃ *X ₃	1	0,000007	0,000006	0,000006	0,34	0,584
İnteraksiyon	3	0,000102	0,000102	0,000034	2,00	0,232
X ₁ *X ₂	1	0,000059	0,000042	0,000042	2,47	0,177
X ₁ *X ₃	1	0,000005	0,000012	0,000012	0,72	0,435
X ₂ *X ₃	1	0,000038	0,000038	0,000038	2,21	0,197
Kalıntı hata	5	0,000085	0,000085	0,000017		
Uyum eksikliği	3	0,000067	0,000067	0,000022	2,54	0,295
Saf hata	2	0,000018	0,000018	0,000009		
Toplam	14	0,006099				

p ≤ 0,05 istatistiksel olarak önemi belirtir.

Ek 3.4 Okzalik asit ön işlem uygulamasında enzimatik hidroliz analizinde glikoz verimlilikleri için istatistiksel analiz çizelgeleri

a. Regresyon katsayıları

	Coef.	SE Coef.	T	P
Sabit	0,873616	0,03884	22,494	0,000
X ₁	0,113635	0,02366	4,804	0,005
X ₂	0,091774	0,02536	3,619	0,015
X ₃	0,044987	0,02536	1,774	0,136
X ₁ *X ₁	-0,008919	0,03884	-0,230	0,827
X ₂ *X ₂	0,019480	0,03599	0,541	0,612
X ₃ *X ₃	0,018854	0,03599	0,524	0,623
X ₁ *X ₂	-0,087962	0,03290	-2,673	0,044
X ₁ *X ₃	-0,018562	0,03290	-0,564	0,597
X ₂ *X ₃	-0,091489	0,03765	-2,430	0,059

S = 0,0679889 PRESS = 0,381936
R-Sq = %91,96 R-Sq(pred) = %0,00 R-Sq(adj) = %77,48
p ≤ 0,05 istatistiksel olarak önemi belirtir.

b. Varyans analizi

Kaynak	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Regresyon	9	0,264245	0,264245	0,029361	6,35	0,028
Lineer	3	0,209519	0,199102	0,066367	14,36	0,007
X ₁	1	0,116667	0,106673	0,106673	23,08	0,005
X ₂	1	0,083561	0,060531	0,060531	13,09	0,015
X ₃	1	0,009292	0,014545	0,014545	3,15	0,136
Kare	3	0,001389	0,002484	0,000828	0,18	0,906
X ₁ *X ₁	1	0,000999	0,000244	0,000244	0,05	0,827
X ₂ *X ₂	1	0,000197	0,001354	0,001354	0,29	0,612
X ₃ *X ₃	1	0,000193	0,001268	0,001268	0,27	0,623
İnteraksiyon	3	0,053337	0,053337	0,017779	3,85	0,091
X ₁ *X ₂	1	0,020556	0,033035	0,033035	7,15	0,044
X ₁ *X ₃	1	0,005479	0,001471	0,001471	0,32	0,597
X ₂ *X ₃	1	0,027302	0,027302	0,027302	5,91	0,059
Kalıntı hata	5	0,023112	0,023112	0,004622		
Uyum eksikliği	3	0,022896	0,022896	0,007632	70,67	0,014
Saf hata	2	0,000216	0,000216	0,000108		
Toplam	14	0,287357				

p ≤ 0,05 istatistiksel olarak önemi belirtir.

Ek 3.5 Okzalik asit ön işlem uygulamasında enzimatik hidroliz analizinde ksiloz verimlilikleri için istatistiksel analiz çizelgeleri

a. Regresyon katsayıları

	Coef.	SE Coef.	T	P
Sabit	0,87273	0,05012	17,413	0,000
X ₁	0,09900	0,03053	3,243	0,023
X ₂	0,15702	0,03273	4,798	0,005
X ₃	0,03471	0,03273	1,061	0,337
X ₁ *X ₁	-0,01658	0,05012	-0,331	0,754
X ₂ *X ₂	-0,07710	0,04645	-1,660	0,158
X ₃ *X ₃	0,01371	0,04645	0,295	0,780
X ₁ *X ₂	-0,02208	0,04246	-0,520	0,625
X ₁ *X ₃	-0,01775	0,04246	-0,418	0,693
X ₂ *X ₃	-0,13358	0,04858	-2,750	0,040

S = 0,0877378 PRESS = 0,646308
R-Sq = %91,21 R-Sq(pred) = %0,00 R-Sq(adj) = %75,39
p ≤ 0,05 istatistiksel olarak önemi belirtir.

b. Varyans analizi

Kaynak	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Regresyon	9	0,399490	0,399490	0,044388	5,77	0,034
Lineer	3	0,306518	0,297938	0,099313	12,90	0,009
X ₁	1	0,093386	0,080962	0,080962	10,52	0,023
X ₂	1	0,205709	0,177194	0,177194	23,02	0,005
X ₃	1	0,007423	0,008660	0,008660	1,12	0,337
Kare	3	0,026758	0,024348	0,008116	1,05	0,446
X ₁ *X ₁	1	0,001186	0,000842	0,000842	0,11	0,754
X ₂ *X ₂	1	0,025285	0,021212	0,021212	2,76	0,158
X ₃ *X ₃	1	0,000287	0,000670	0,000670	0,09	0,780
İnteraksiyon	3	0,066214	0,066214	0,022071	2,87	0,143
X ₁ *X ₂	1	0,000209	0,002081	0,002081	0,27	0,625
X ₁ *X ₃	1	0,007803	0,001345	0,001345	0,17	0,693
X ₂ *X ₃	1	0,058202	0,058202	0,058202	7,56	0,040
Kalıntı hata	5	0,038490	0,038490	0,007698		
Uyum eksikliği	3	0,038132	0,038132	0,012711	71,06	0,014
Saf hata	2	0,000358	0,000358	0,000179		
Toplam	14	0,437979				

p ≤ 0,05 istatistiksel olarak önemi belirtir.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Gizem BARIŞIK

Doğum Yeri : Ankara

Doğum Tarihi: 17.04.1988

Medeni Hali : Evli

Yabancı Dili : İngilizce

Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl)

Lise : Etimesgut Anadolu Lisesi (2002 - 2006)

Lisans : Ankara Üniversitesi,, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü (2007 – 2012)

Yüksek Lisans : Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı (2013- Halen)

Çalıştığı Kurum ve Yılı

Ak - Hel Gıda Turizm Petrol Tarım LTD Şti., 2010 (İsteğe bağlı staj – Üretim)

Tat Konserve Sanayii A.Ş., 2010 (Staj- Üretim, Kalite Kont/Güvence)

Türk Standardları Enstitüsü, 2011 (Staj – Laboratuvar)

Light Kitchen Catering Firması, 2014 – 2017 (Sorumlu Yönetici, İstihdamı Zorunlu Personel)

Yayını (SCI) ve Diğer

Barisik, G., Isci, A., Kutlu, N., Bagder Elmaci, S., Akay, B. 2016. Optimization of organic acid pretreatment of wheat straw. *Biotechnology progress*, 32(6), 1487-1493.

Barisik, G., Isci, A., Kutlu, N., Bagder Elmaci, S., Akay, B. 2018. Production of bioethanol from organic acid treated wheat straw. 2nd International Conference on Bioresource Technology for Bioenergy, Bioproducts and Environmental Sustainability, Sitges, Spain.

