

MISIR KOÇANINDAN EŞ ZAMANLI OLARAK GLİKOZ  
VE BİYOPLASTİK ÜRETİMİ SÜRECİNDE ÖN İŞLEM  
PARAMETRELERİNİN İNCELENMESİ

**Proje No: 110M789**

Prof. Dr. Ufuk Bakır Bölükbaşı

Ankara  
Nisan 2012

## ÖNSÖZ

Tarım ürünleri konusunda dünyanın başlıca üreticilerinden olan Türkiye’de her yıl yüksek miktarlarda tarımsal atık ortaya çıkmaktadır. Bu atıkların önemli bir kısmını oluşturan lignoselülozik tarımsal atıklar ise çoğunlukla atıl durumdadır ve bu atıkların bertarafı sorun yaratmaktadır. Bu kapsamda lignoselülozik yapıya sahip tarımsal atıkların katma değerleri ürünlerin üretilmesi sürecinde hammadde olarak değerlendirilmesini sağlayacak süreçlerin geliştirilmesi büyük önem arz etmektedir. Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK) tarafından 1002 hızlı destek projesi kapsamında desteklenen bu projede lignoselülozik yapıya sahip tarımsal bir atık olan mısır koçanından eş zamanlı olarak glikoz ve biyoplastiklerin üretilmesini konu alan optimizasyon çalışmaları gerçekleştirilmiştir.

## İÇİNDEKİLER

|  |    |
|--|----|
| ÖZET .....   | 1  |
| ABSTRACT.....  | 2  |
| 1. GİRİŞ.....  | 3  |
| 2. KULLANILAN MADDELER VE DENEYSEL YÖNTEM.....   | 4  |
| 2.1 Kullanılan hammadde ve kimyasallar.....  | 4  |
| 2.2 Ön işlem.....  | 4  |
| 2.3 Enzimatik hidroliz .....   | 6  |
| 2.4 Filmlerin elde edilmesi .....  | 7  |
| 2.5 Filmlerin mekanik özelliklerinin karakterizasyonu .....  | 7  |
| 2.6 Fermantasyon vasıtasıyla laktik asit elde edilmesi .....   | 8  |
| 3. SONUÇLAR VE TARTIŞMA .....  | 9  |
| 3.1 Alkali cinsi ve konsantrasyonunun eş zamanlı glikoz ve biyoplastik üretim sürecine etkisi.....   | 9  |
| 3.1.1 Alkali cinsi ve konsantrasyonunun hemiselülozik ve selülozik kısımların geri kazanımı üzerindeki etkisi .....                              | 9  |
| 3.1.2 Alkali cinsi ve konsantrasyonunun elde edilen indirgen şeker miktarı üzerindeki etkisi .....   | 11 |
| 3.1.3 Alkali cinsi ve konsantrasyonunun elde edilen hemiselüloz temelli filmlerin mekanik özellikleri üzerindeki etkisi .....                    | 12 |
| 3.1.4 Alkali cinsi ve konsantrasyonunun eş zamanlı olarak glikoz ve biyoplastik üretimi üzerindeki etkisinin değerlendirilmesi .....             | 14 |
| 3.2 Borik bileşen cinsi ve konsantrasyonunun eş zamanlı glikoz ve biyoplastik üretim sürecine etkisi .....                                       | 16 |
| 3.2.1 Borik bileşen cinsi ve konsantrasyonunun hemiselülozik ve selülozik kısımların geri kazanımı üzerindeki etkisi .....                       | 17 |
| 3.2.2 Borik bileşen cinsi ve konsantrasyonunun elde edilen indirgen şeker miktarı üzerindeki etkisi.....   | 18 |
| 3.2.3 Borik bileşen cinsi ve konsantrasyonunun elde edilen hemiselüloz temelli filmlerin mekanik özellikleri üzerindeki etkisi .....             | 19 |
| 3.2.4 Borik bileşen cinsi ve konsantrasyonunun eş zamanlı olarak glikoz ve biyoplastik film üretimi üzerindeki etkisinin değerlendirilmesi ..... | 21 |
| 3.3 Ön işlem süresinin eş zamanlı glikoz ve biyoplastik üretim sürecine etkisi .....   | 22 |
| 3.3.1 Ön işlem süresinin hemiselülozik ve selülozik kısımların geri kazanımı üzerindeki etkisi.....  | 23 |
| 3.3.2 Ön işlem süresinin elde edilen indirgen şeker miktarı üzerindeki etkisi .....  | 24 |
| 3.3.3 Ön İşlem süresinin elde edilen hemiselüloz temelli filmlerin mekanik özellikleri üzerindeki etkisi ..                                      | 25 |
| 3.3.4 Ön işlem süresinin eş zamanlı olarak glikoz ve biyoplastik üretimi üzerindeki etkisinin değerlendirilmesi .....                            | 26 |
| 3.4 Belirlenen en uygun ön işlem koşulları sonrasında elde edilen glikozdan fermantasyon vasıtasıyla laktik asit elde edilmesi .....             | 27 |
| Proje kapsamında elde edilen sonuçlar .....  | 29 |
| 4. REFERANSLAR .....   | 30 |

## TABLO ve ŞEKİL LİSTELERİ

|   |    |
|---|----|
| Tablo 3.1 Ön işlem sırasında kullanılan KOH konsantrasyonunun hemiselüloz temelli filmlerin mekanik özellikleri üzerindeki etkisi.....                                    | 14 |
| Tablo 3.2 Ön işlem sırasında kullanılan NaOH konsantrasyonunun hemiselüloz temelli filmlerin mekanik özellikleri üzerindeki etkisi.....                                   | 14 |
| Tablo 3.3 Borik bileşen cinsi ve konsantrasyonunun hemiselüloz temelli filmlerin mekanik özellikleri üzerindeki etkisi.....   | 21 |
| Tablo 3.4 Ön işlem süresinin hemiselüloz temelli filmlerin mekanik özellikleri üzerindeki etkisi.....   | 26 |
|   |    |
| Şekil 3. 1 Alkali konsantrasyonunun geri kazanılan selülozik ve hemiselülozik kısımların miktarları üzerindeki etkisi.....  | 10 |
| Şekil 3. 2 İndirgen şeker konsantrasyonunun enzimatik hidroliz süresine karşı grafiği .....   | 12 |
| Şekil 3. 3 Ön işlem sırasında kullanılan KOH konsantrasyonunun hemiselüloz temelli filmlerin görünümüleri üzerindeki etkisi .....   | 13 |
| Şekil 3. 4 Ön işlem sırasında kullanılan NaOH konsantrasyonunun hemiselüloz temelli filmlerin görünümüleri üzerindeki etkisi .....  | 13 |
| Şekil 3. 5 Ön işlem sırasında kullanılan KOH ve NaOH konsantrasyonunun hemiselüloz temelli filmlerin kopma enerjileri ve glikoz verimi üzerindeki etkisi .....            | 16 |
| Şekil 3. 6 Borik bileşen cinsi ve konsantrasyonunun geri kazanılan selülozik ve hemiselülozik kısımların miktarları üzerindeki etkisi .....                               | 18 |
| Şekil 3. 7 İndirgen şeker konsantrasyonunun enzimatik hidroliz süresine karşı grafiği .....   | 19 |
| Şekil 3. 8 Ön işlem sırasında kullanılan borik bileşen cinsinin hemiselüloz temelli filmlerin görünümüleri üzerindeki etkisi .....  | 20 |
| Şekil 3. 9 Ön işlem sırasında kullanılan borik bileşen cinsi ve konsantrasyonunun hemiselüloz temelli filmlerin kopma enerjileri ve glikoz verimi üzerindeki etkisi ..... | 22 |
| Şekil 3. 10 Ön işlem süresinin geri kazanılan selülozik ve hemiselülozik kısımların miktarları üzerindeki etkisi  | 24 |
| Şekil 3. 11 İndirgen şeker konsantrasyonunun enzimatik hidroliz süresine karşı grafiği .....  | 25 |
| Şekil 3. 12 Ön işlem süresinin hemiselüloz temelli filmlerin kopma enerjileri ve glikoz verimi üzerindeki etkisi .....  | 27 |
| Şekil 3. 13 Fermantasyon süreci boyunca glikoz ve laktik asit konsantrasyonlarında meydana gelen değişim ...  | 28 |

## ÖZET

Lignoselülozik tarımsal atıklara uygulanan ön işlemler, ön işlem sonrasında üretilmesi muhtemel ürünlerin miktarları ve özellikleri üzerinde ciddi etkiye sahiptir. Proje kapsamında lignoselülozik yapıya sahip tarımsal bir atık olan mısır koçanına uygulanan alkali temelli ön işlem sırasında kullanılan parametrelerin, mısır koçanının farklı bileşenlerinden elde edilen glikozun miktarı ve biyoplastik filmlerin mekanik özellikleri üzerindeki etkisi incelenmiştir. Bu bağlamda ön işlem sırasında kullanılan alkali cinsi ve konsantrasyonu, borik bileşen cinsi ve konsantrasyonu ve ön işlem süresinin, elde edilen ürünlerin miktar ve özellikleri üzerindeki etkisi incelenerek ön işlem koşulları optimize edilmiştir. Projede başlangıç noktası olarak kabul edilen ve %24 KOH ve %1 NaBH<sub>4</sub> ile gerçekleştirilen ön işlem sonrasında glikoz verimi yaklaşık %22, biyoplastik filmlerin kopma enerjisi ise 2.1 MJ/m<sup>3</sup> olarak belirlenmiştir. Gerçekleştirilen ön işlem optimizasyonları sonrasında ön işlem sırasında %24 KOH yerine %5 oranında NaOH kullanılmasının ve diğer parametrelerin aynı kalmasının (%1 NaBH<sub>4</sub> ve 2 saat ön işlem süresi) uygun koşulları sağladığı ortaya çıkartılmıştır. %5 NaOH ve %1 NaBH<sub>4</sub> kullanılarak 3 saat süresince ön işleme tabi tutulan mısır koçanlarında elde edilen glikoz verimi yaklaşık %31, biyoplastik filmlerin kopma enerjileri ise 1.7 MJ/m<sup>3</sup> olarak belirlenmiştir. Optimize edilen koşullarda ön işleme tabi tutulan mısır koçanlarının selülozik kısmından enzimatik hidroliz sonrasında elde edilen glikozun fermantasyona uygun olduğu, laktik asit üretimi vasıtasıyla ortaya konulmuştur.

## ABSTRACT

The pretreatments applied to lignocellulosic agricultural wastes have a significant impact on the quantities and properties of the products that can be produced from these lignocellulosic feedstocks upon pretreatment. Within the context of the present project, the parameters utilized during the pretreatment of corn cobs, a lignocellulosic agricultural waste, were investigated in terms of their effect on the amount of glucose and on the mechanical properties of bioplastic films produced from the different constituents of corn cobs. The pretreatment parameters including the alkaline type and concentration, the boric compound type and concentration as well as the duration of pretreatment, were optimized with respect to the amounts and the properties of the products. Following the pretreatments conducted with 24% KOH and 1% NaBH<sub>4</sub>, which were the initial pretreatment parameters in the project, a glucose yield of 22% and a tensile energy to break of 2.1 MJ/m<sup>3</sup> were obtained. Upon the optimization of the pretreatment procedure, the suitable pretreatment conditions were determined as 5% NaOH with the other parameters remaining as the same as the initial pretreatment parameters. Following the pretreatment conducted at 5% NaOH and 1% NaBH<sub>4</sub> for a pretreatment period of 3 hours, a glucose yield of approximately 31% and a tensile energy to break of around 1.7 MJ/m<sup>3</sup> were obtained. The glucose produced via the enzymatic hydrolysis of the cellulosic portion obtained by using the optimized pretreatment conditions was verified to be suitable for fermentation via the production of lactic acid.

## 1. GİRİŞ

Her geçen gün, petrol gibi yenilenemeyen enerji kaynaklarının azalmasının etkisiyle, petrol ve türevlerinden üretilen kimyasalların ve yakıtların yenilenebilir kaynaklardan üretilmesine yönelik artan bir eğilim gözlenmektedir. Günümüzde kullanılan plastik malzemelerin üretiminde de çoğunlukla hammadde olarak yenilenemeyen kaynaklar kullanılmakta ve bu plastikler kullanım ömürlerinin bitmesi sonrasında doğada varlıklarını uzun yıllar sürdürerek çevreye zarar vermektedirler. Yenilenebilir olmayan fosil kaynaklara bağımlı olma durumu, yakıtların üretilmesiyle ilgili olarak da geçerlidir ancak bu konuda son yıllarda biyoetanol gibi yenilenebilir yakıtların üretimi ve kullanımı yaygınlaşmaya başlamıştır. Benzer bir eğilim yenilenebilir kaynaklardan elde edilen biyobozunur plastiklerin üretilmesi ve kullanımıyla ilgili olarak da gözlemlenebilir. Bu noktadaki sorun hem biyoetanol hem de biyobozunur plastiklerin üretiminde kullanılan yenilenebilir kaynağın gıda işlevine sahip olan ve çoğunlukla mısırdan elde edilen nişasta olmasıdır. Bu nedenle birinci nesil olarak adlandırılan bu tür üretim süreçleri yerine, hammadde olarak gıda işlevine sahip olmayan, ucuz ve yüksek miktarla açığa çıkan lignoselülozik tarımsal atıkların kullanıldığı ikinci nesil üretim teknolojilerine odaklanılması önem taşımaktadır.

Lignoselülozik biyokütle büyük oranda selüloz, hemiselüloz ve lignin olmak üzere üç temel bileşenden oluşur ve bu üç biyo-makro molekül pek çok dış etkene karşı oldukça dayanıklı bir yapı oluştururlar. Lignoselülozik biyokütleden etanol ve biyozunur polimer malzemelerin üretilmesi sürecinde en önemli aşamalardan bir tanesi, biyokütlenin bileşenlerine ayrışmasını sağlayan ön işlem aşamasıdır. Ön işlem sayesinde lignoselülozik yapıda bulunan selüloz, glikoz elde etmek için uygulanan enzimatik hidroliz aşamasında enzimlerin erişimine daha açık hale gelmektedir. Ön işlem süreci sonunda ayrıca biyokütlenin yapısında bulunan hemiselüloz elde edilerek katma değerli ürünlerin üretilmesinde hammadde olarak

kullanılabilir. Ön işlem aşaması lignoselülozik biyokütlelerin katma değerli ürünlere dönüştürülmesi sürecindeki en maliyetli aşamalardan bir tanesidir ve bu nedenle bu sürecin elde edilecek ürünlerin özellikleri ve miktarları göz önüne alınarak optimize edilmesi önem arz eden bir konudur. Bu aşamada lignoselülozik biyokütlelerden tek ürün elde etmek yerine, farklı biyokütle bileşenlerinden birden fazla ürün elde etmek sürecin ekonomik olarak uygulanabilirliği açısından önem taşımaktadır (ZHANG, 2008). Proje kapsamında mısır koçanlarından eş zamanlı olarak glikoz ve biyopolimer filmlerin üretilmesi sürecinde uygulanan ön işlem parametrelerinin optimizasyonu gerçekleştirilmiştir.

## **2. KULLANILAN MADDELER VE DENEYSEL YÖNTEM**

### **2.1 Kullanılan hammadde ve kimyasallar**

2mm'den küçük parçacık boyutuna sahip olan mısır koçanı parçacıkları, mısır koçanlarının öğütülmelerinin ardından elekten geçirilmeleriyle elde edilmiştir. Potasyum hidroksit, asetik asit, tri-sodyum sitrat dihidrat, sitrik asit monohidrat, Merck (Darmstadt, Almanya) firmasından tedarik edilmiştir. Potasyum sodyum tartarat tetrahidrat, 3-5 dinitrosalisilik asit, fenol, sodyum sulfat ve sodyum hidroksit, Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, A.B.D) firmasından satın alınmıştır. Selülaz (Celluclast 1.5L) ve  $\beta$ -glukosidaz (Novozyme 188) ise Novozymes (Bagsvaerd, Danimarka) firmasından alınmıştır.

### **2.2 Ön işlem**

Uygulanan alkali ön işlem metodu Zilliox ve Debeire (1998) tarafından gerçekleştirilen çalışmaya dayanmaktadır. Öncelikle 10 gram öğütülmüş mısır koçanı 200 mililitre deiyonize su içinde oda sıcaklığında bir saat boyunca manyetik karıştırıcı ile karıştırılarak, mısır



koçanlarının şişmeleri sağlanmıştır. Ardından değişik konsantrasyonlarda KOH ve %1 (w/v) sodyum borohidrat ( $\text{NaBH}_4$ ) içeren 85 ml çözeltiliye su ile şişirilmiş 10 gram lignoselülozik biyokütle eklenmiştir. Sistem oda sıcaklığında 3 saat süreyle manyetik karıştırıcı üzerinde karışmaya bırakılmıştır. Yapılan işlem sonucunda sistem ilk olarak süzülerek sıvı kısımda çözünmemiş halde bulunan katı kısım ayrıştırılmıştır. Alkali çözelti içinde çözünmeyen bu kısım selülozik kısım olarak adlandırılmıştır. Selülozik kısım 3 defa 400 ml deiyonize su ile yıkanmış ve son yıkama sırasında enzimlerin uygun şartlarda çalışmasını sağlamak amacıyla yıkama suyunun pH'sı 4.8'e ayarlanmıştır. Selülozik kısım daha sonra 60°C de 16 saat süresince kuruması için bırakılmıştır ve kuruma sonrasında selülozik kısım tartılarak elde edilen selülozik kısmın miktarı belirlenmiştir. Selülozik kısım geri kazanımı, selülozik kısmın ağırlığının başlangıçta ön işleme tabi tutulan mısır koçanın ağırlığına olan oranı olarak hesaplanmıştır.

Alkali çözelti içerisinde çözülmüş halde bulunan maddelerin elde edilmesi içinse ilk olarak çözelti 8000 × g kuvvetinde 10 dakika boyunca santrifüj edilmiştir. Bu işlemi takiben elde edilen sıvı kısma 1:10 oranında asetik asit:etanol içeren 250 ml çözelti ilave edilmiş ve bu şekilde alkali çözelti içerisinde çözülmüş halde bulunan maddelerin çökmesi sağlanmış ve çöken kısım süzülerek elde edilmiştir (ZILLIOX ve DEBEIRE, 1998). Alkali sıvı içerisinde çözünen ve bu şekilde elde edilen kısım hemiselülozik kısım olarak adlandırılmıştır. Oda sıcaklığında kurumaya bırakılan hemiselülozik kısım kurummasının ardından tartılarak elde edilen hemiselülozik kısmın miktarı belirlenmiştir. Hemiselülozik kısım geri kazanımı, hemiselülozik kısmın ağırlığının başlangıçta ön işleme tabi tutulan mısır koçanın ağırlığına olan oranı olarak hesaplanmıştır.

Projede kapsamında incelenen ilk parametre yukarıda bahsedilen mevcut durumdan farklı olarak alkali cinsinin KOH yerine  $\text{Ca(OH)}_2$  olarak değiştirilmesi olmuştur.  $\text{Ca(OH)}_2$ 'in  $25^\circ\text{C}$  sıcaklığında sudaki çözünürlük değerinin 0.173 g/100 mL olmasından dolayı,  $\text{Ca(OH)}_2$  kullanılarak yapılan ön işlem sırasında doymuş  $\text{Ca(OH)}_2$  çözeltisi kullanılmıştır.  $\text{Ca(OH)}_2$ 'ten istenen sonuçlar elde edilemediği için  $\text{Ca(OH)}_2$ 'ten pahalı ancak KOH'e kıyasla daha ucuz olan NaOH alkali cinsi olarak denenmiştir. Ayrıca ön işlem mevcut durumda kullanılan %24 oranında alkali konsantrasyonunun yanı sıra %10 ve %5 oranında alkali konsantrasyonlarında da denenmiştir. Proje kapsamında incelenmiş olan bir diğer parametre ise ön işlem sırasında kullanılan borik bileşenin cinsi ve konsantrasyonudur. Mevcut durumda ön işlem sırasında %1 oranında  $\text{NaBH}_4$  kullanılmaktadır. Bu aşamada  $\text{NaBH}_4$  yerine daha ucuz ve daha az toksik olan borik asit ( $\text{H}_3\text{BO}_3$ ) kullanılmış ayrıca herhangi bir borik bileşen kullanılmadan ya da bir diğer deyişle borik bileşen konsantrasyonu %0 olacak şekilde ön işlem gerçekleştirilmiştir. Proje kapsamında incelenmiş olan son parametre ise ön işlemin süresidir. Mevcut durumda 3 saat olan ön işlem süresi 2 saat ve 1 saate düşürülmüş ve bu değişimin ürünler üzerindeki etkisi incelenmiştir.

### **2.3 Enzimatik hidroliz**

Ön işlem sonucunda elde edilen selülozik kısımların enzimatik hidrolizleri 48 saat süresince, çalkalamalı bir inkübatörde (Minitron, Infors AG, Bottmingen, İsviçre)  $50^\circ\text{C}$  de ve 150 devir/dakika hızda gerçekleştirilmiştir. Enzimatik hidroliz sistemi 30 ml lik, 0.05 M ve pH'sı 4.8 olan sodyum sitrat tampon çözeltisi içerisinde 0.9 gram biyokütleden oluşmaktadır. Ayrıca sistemin içerisine 50 FPU/g biyokütle oranında selülaz (Celluclast 1.5L) ve 60 sellobioz ünite/g biyokütle oranında  $\beta$ -glukosidaz (Novozyme 188) enzimi eklenmiştir. Enzimatik hidroliz süresince, sistemlerden 1, 5, 24 ve 48. saatlerde örnekler alınmış ve alınan örneklerdeki indirgen şeker miktarı DNS yöntemi ile analiz edilmiştir (MILLER, 1959).

Ayrıca, 48. saatte alınan örneklerin, içerdikleri glikoz miktarının belirlenmesi amacıyla, kan şekeri ölçüm cihazı (OneTouch Select, LifeScan Inc., Milpitas, CA, A.B.D) kullanılarak analizleri yapılmıştır (BAHÇEGÜL vd., 2011). Kullanılan her iki yöntemde de D-glikoz standart olarak kullanılmıştır. Glikoz verimi, mısır koçanından ön işleme takiben gerçekleştirilen enzimatik hidroliz sonrasında elde edilen glikoz miktarı baz alınarak hesaplanmıştır.

#### **2.4 Filmlerin elde edilmesi**

15 ml saf su içinde 0.5 gram hemiselülozik kısmının otoklavda, 121 °C’de 20 dakika boyunca işleme tabi tutulmasının ardından karışım, daha iyi bir çözünme gerçekleşmesi amacıyla 24 saat süreyle manyetik karıştırıcıda karıştırılmıştır. Çözünmenin ardından, çözelti 9 cm çapındaki petri kaplarına dökülmüştür. Petri kaplarındaki çözeltilerin üç gün sonunda kurumalarının ardından filmler elde edilmiştir.

#### **2.5 Filmlerin mekanik özelliklerinin karakterizasyonu**

Çekme testi uygulanmadan önce, filmlerden kesme presi (ZCP 020, Zwick GmbH & Co., Ulm, Almanya) vasıtası ile köpek kemiği şeklinde örnekler elde edilmiştir. Örnekler 100N’luk yük hücreğine ve hava basıncı ile kapanan çenelere sahip mekanik test cihazı (Zwick/Roell Z250, Zwick GmbH & Co., Ulm, Almanya) ile test edilmiştir. Mekanik testler 5 mm/dakika çekme hızında gerçekleştirilmiştir. Mekanik testlerin gerçekleştirildiği sıcaklık ve nem kontrollü odada testler süresince yaklaşık olarak %50 bağıl nem ve 22.5 °C sıcaklık koşulları oluşturulmuştur. Her bir parametre için aynı koşullarda elde edilmiş 2 farklı filmden 4’er adet örnek (her bir parametre için toplamda 8 adet örnek) mekanik teste tabi tutulmuştur. Elastik modül, çekme dayanımı, yüzde uzama ve kopma enerjisi değerleri mekanik test

cihazına bağlı olan program üzerinden (testXpert 2) elde edilmiştir. Elastik modül malzemenin elastik deformasyona göstermiş olduğu direnç olarak, çekme dayanımı malzemenin kopmadan önce ulaştığı maksimum gerilme kuvveti olarak, yüzde uzama ise malzemenin kopana kadar gerçekleştirdiği yüzdesel uzama değeri olarak tanımlanmaktadır. Çekme testi uygulanmadan önce örneklerin kalınlıkları 1 mikrometre hassasiyete sahip dijital bir mikrometre (40 EXL, Mahr GmbH, Esslingen, Almanya) kullanılarak ölçülmüştür.

## **2.6 Fermantasyon vasıtasıyla laktik asit elde edilmesi**

Fermantasyon vasıtasıyla laktik asit üretilmesi sürecinde mikroorganizma olarak *Lactobacillus delbrueckii* ATCC 9649 suşu ve daha önceden laboratuvarımızda optimize edilmiş fermantasyon koşulları kullanılmıştır. MRS agarda 4°C’de stoklanan mikroorganizma, kolonilerin agardan alınarak sıvı MRS ortamına aktarılmasıyla 37 °C’de 150 rpm çalkalama hızında 24 saat süre ile OD değeri 660 nm’de yaklaşık olarak 10’a ulaşıncaya kadar inkübe edilmiştir. Bu koşullarda çoğaltılan mikroorganizma fermantasyon ortamına ön kültür olarak aktarılmıştır. Fermantasyon çalışması sırasında kullanılan fermantasyon besi ortamı 100 g/l glikoz, 5 g yeast ekstrakt/L, 10 g pepton/L, 5 g sodyum asetat/L, 2 g sodyum sitrat/L, 1 ml/L Tween 80, 2 g K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>/L, 0.58 g MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O/L, 0.12 g MnSO<sub>4</sub>·H<sub>2</sub>O/L ve 0.05 g FeSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O/L’den oluşmaktadır. Fermantasyon sürecinde karbon kaynağı olarak alkali ön işleme tabi tutulmuş mısır koçanlarından enzimatik hidroliz vasıtasıyla elde edilen glikoz şurubu vakum altında suyu uçurularak konsantre edilmiş ve 100 g/l konsantrasyonda kullanılmıştır. Fermantasyon çalkalamalı bir inkübatörde 150 rpm çalkalama hızı ve 42°C sıcaklıkta %10 oranında ön kültür kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Fermantasyon ortamından 24, 48 ve 72. saatlerde alınan örnekler 6000 x g kuvvetinde 15 dakika boyunca santrifüj edilmelerinin ardından sıvı kısımları yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC) kullanılarak

analiz edilmiştir. Analizler Shimadzu LC-20A model bir HPLC cihazında Biorad HPX-87H kolonu kullanılarak gerçekleştirilmiş ve analizler sırasında 35 °C ve 0.5 ml/dakika akış hızında 0.008 M sülfürik asit mobil faz olarak kullanılmıştır.

### **3. SONUÇLAR VE TARTIŞMA**

#### **3.1 Alkali cinsi ve konsantrasyonunun eş zamanlı glikoz ve biyoplastik üretim sürecine etkisi**

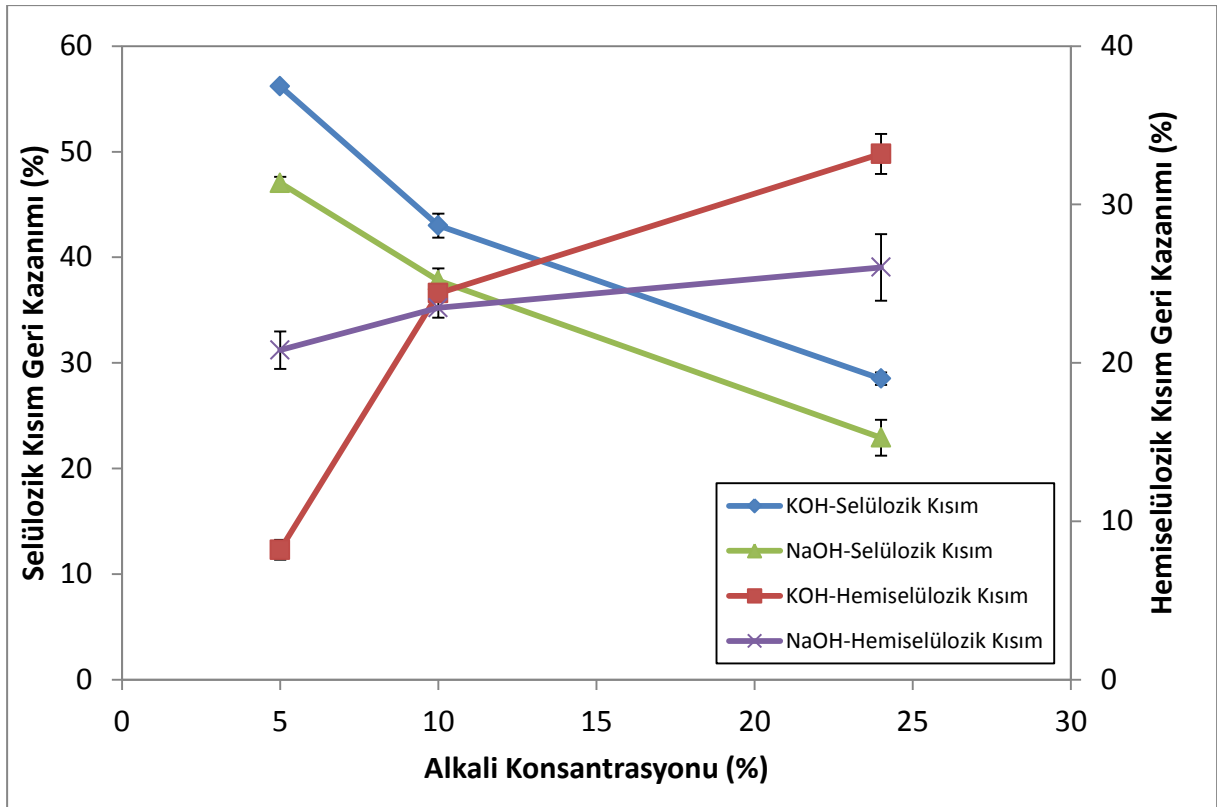
Ön işlem sırasında kullanılan alkali cinsi ve konsantrasyonunun eş zamanlı glikoz ve biyoplastik üretim sürecine etkisinin incelenmesi ve en uygun koşulların belirlenmesi amacıyla KOH, Ca(OH)<sub>2</sub> ve NaOH olmak üzere 3 farklı alkali cinsi farklı konsantrasyonlarda denenmiştir. Proje kapsamında ön işlem sırasında doymuş Ca(OH)<sub>2</sub> çözeltisi kullanılması sonucunda yeterli miktarda hemiselülozik kısım elde edilememesinden dolayı ön işlem sırasında alkali cinsi olarak Ca(OH)<sub>2</sub> kullanılmaması uygun görülmüştür. Bir diğer deyişle ön işlem sırasında Ca(OH)<sub>2</sub> kullanımının, gerçekleştirilen projenin ana vurgusu olan çoklu ürün yaklaşımına uygun olmadığı belirlenmiştir. Bu nedenle proje kapsamında ön işlem sürecinde KOH ve NaOH kullanılmıştır.

##### **3.1.1 Alkali cinsi ve konsantrasyonunun hemiselülozik ve selülozik kısımların geri**

##### **kazanımı üzerindeki etkisi**

Ön işlemler değişik konsantrasyonlarda KOH veya NaOH kullanılarak gerçekleştirilmiş ve KOH ve NaOH konsantrasyonunun ön işlem sonrasında elde edilen selülozik ve hemiselülozik kısımların miktarları üzerindeki etkisi incelenmiştir. Ön işlem sırasında kullanılan KOH ve NaOH konsantrasyonunun, selülozik ve hemiselülozik kısımların geri

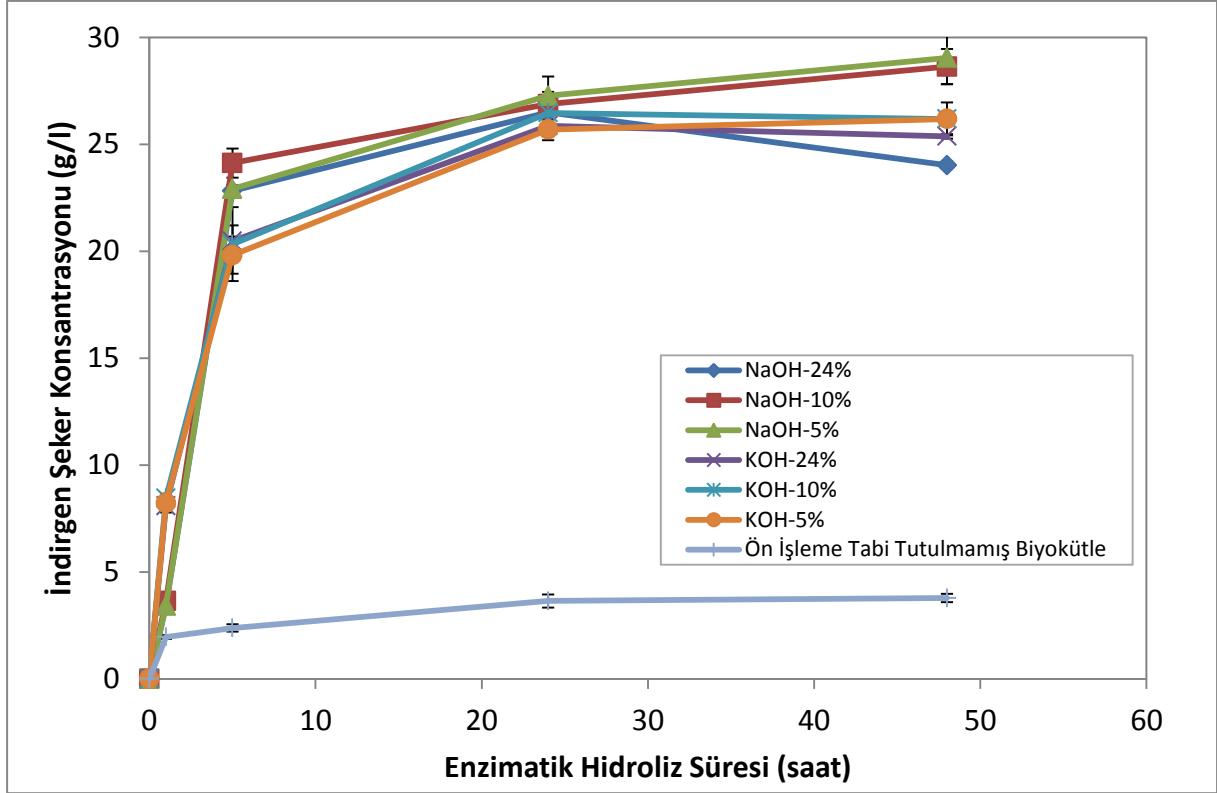
kazanımı üzerindeki etkisi Şekil 3.1’de verilmiştir. Şekil 3.1’de görüldüğü üzere alkali konsantrasyonunun arttırılması geri kazanılan selülozik kısmın miktarında azalmaya neden olurken, geri kazanılan hemiselülozik kısmın miktarında artışa neden olmaktadır. Bu durum literatürde daha önce rapor edilen sonuçlarla uyumluluk göstermektedir (LAWTHER vd. 1996). Bir diğer deyişle alkali konsantrasyonunun arttırılması filmlerin elde edilmesi için gerekli olan hammaddeden (hemiselülozik kısım) daha fazla elde edilmesini sağlamaktadır. Kullanılan KOH konsantrasyonuna bağlı olarak %8 ila %33 arasında hemiselülozik kısım geri kazanımı ortaya çıkmakta iken, NaOH konsantrasyonuna bağlı olarak % 21 ila % 26 arasında hemiselülozik kısım geri kazanımı ortaya çıkmaktadır.



Şekil 3. 1 Alkali konsantrasyonunun geri kazanılan selülozik ve hemiselülozik kısımların miktarları üzerindeki etkisi

### **3.1.2 Alkali cinsi ve konsantrasyonunun elde edilen indirgen şeker miktarı üzerindeki etkisi**

Uygulanan ön işlemler sonucunda, elde edilen selülozik kısım enzimatik hidrolize tabi tutulmuştur. Ayrıca hiçbir ön işlem uygulanmamış mısır koçanları da uygulanan ön işlemlerin etkilerinin değerlendirilmeleri sırasında kıyaslama yapılabilmesi amacıyla enzimatik hidrolize tabi tutulmuştur. Şekil 3.2'de görülebileceği üzere ön işlem sırasında KOH konsantrasyonunun artırılması enzimatik hidroliz sonucunda açığa çıkan indirgen şekerlerin konsantrasyonları üzerinde ciddi bir etkiye sahip değildir. Örneğin; %5, %10 ve %24 oranında KOH kullanılması enzimatik hidrolizin 48. saati sonunda sonrasında sırasıyla 26.2, 26.2 ve 25.4 g/l indirgen şeker oluşumuna neden olmuştur. %5, %10 ve %24 oranında NaOH kullanılması ise aynı süreç sonunda sırasıyla 29.1, 28.6 ve 24.0 g/l indirgen şeker oluşumuna neden olmuştur. Bu sonuçlar bağlamında, denenen her üç KOH ve NaOH konsantrasyonunun da enzimatik hidrolizin ciddi şekilde iyileşmesine neden olduğu ve ön işlem sırasında yüksek derişime sahip (%24) alkali çözeltilerin kullanılmasının, indirgen şeker miktarında azalmaya neden olduğu gözlemlenmiştir.

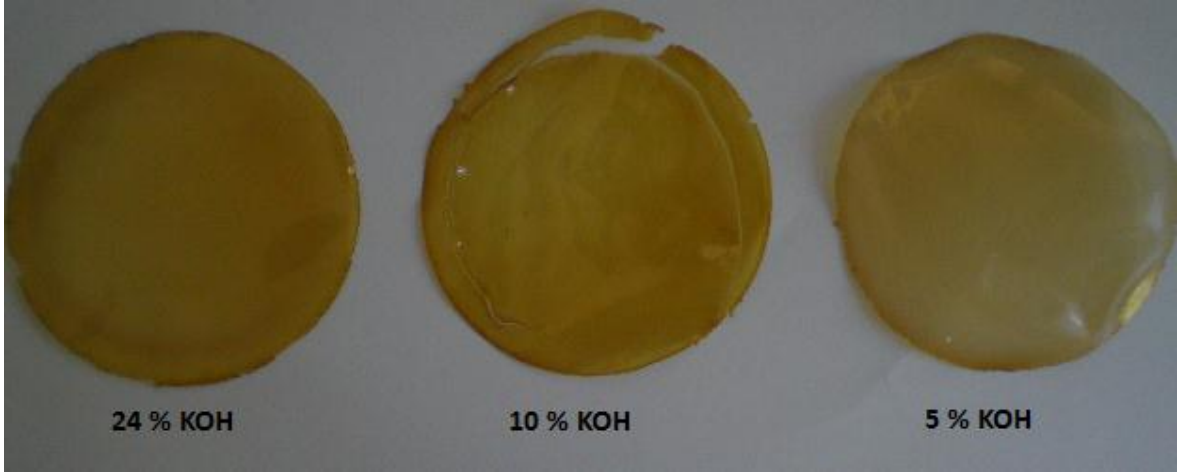


Şekil 3. 2 İndirgen şeker konsantrasyonunun enzimatik hidroliz süresine karşı grafiği

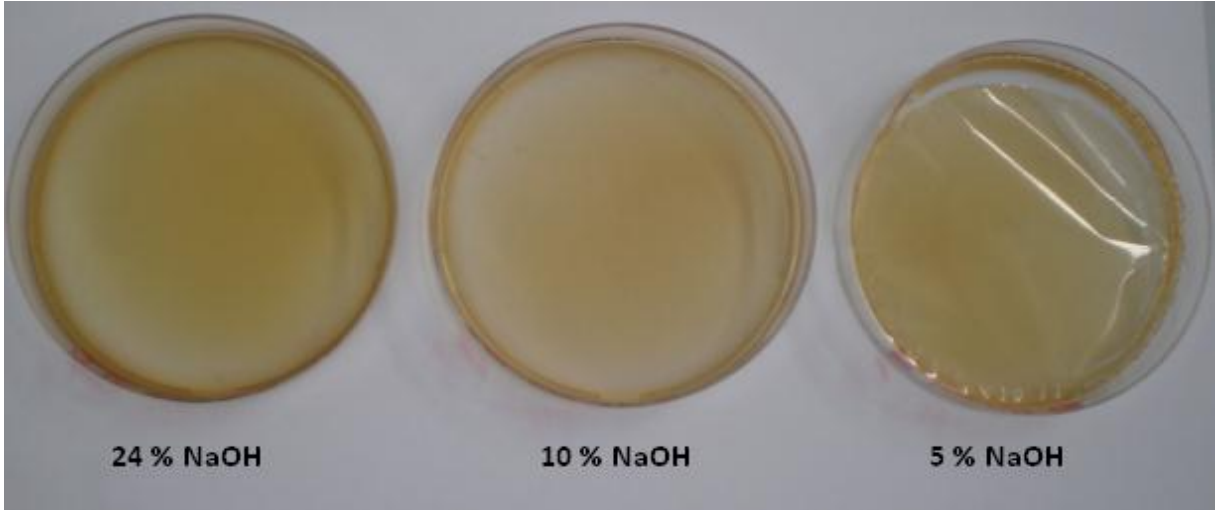
### 3.1.3 Alkali cinsi ve konsantrasyonunun elde edilen hemiselüloz temelli filmlerin mekanik özellikleri üzerindeki etkisi

Şekil 3.3 ve Şekil 3.4' de ön işlem sırasında alkali cinsi olarak farklı konsantrasyonlarda KOH veya NaOH kullanılması sonucunda elde edilen hemiselüloz temelli filmlerin fotoğrafları görülmektedir. Alkali cinsi ya da konsantrasyonundaki farklılıklar, mısır koçanından özütlenen hemiselüloz temelli polimerlerin film oluşturma özellikleri üzerinde olumsuz bir etkiye neden olmamıştır. Buna ilaveten ön işlem sürecinde farklı alkali cinsi ya da konsantrasyonları kullanılmasının, filmlerin görsel özellikleri üzerinde kayda değer bir etkiye sahip olmadığı gözlemlenmiştir.





Şekil 3. 3 Ön işlem sırasında kullanılan KOH konsantrasyonunun hemiselüloz temelli filmlerin görünümleri üzerindeki etkisi



Şekil 3. 4 Ön işlem sırasında kullanılan NaOH konsantrasyonunun hemiselüloz temelli filmlerin görünümleri üzerindeki etkisi

Ön işlem sırasında farklı konsantrasyonlarda KOH ve NaOH kullanılmasının, elde edilen hemiselüloz temelli biyoplastik filmlerin mekanik özellikleri üzerindeki etkisi çekme testi vasıtasıyla incelenmiştir. Tablo 3.1 ve 3.2'de görülebileceği üzere ön işlem sırasında kullanılan KOH ve NaOH konsantrasyonunun filmlerin mekanik özellikleri üzerinde ciddi etkisi bulunmaktadır. Alkali konsantrasyonu arttıkça filmlerin yüzde uzama değerleri ( $\epsilon_B$ ) artmakta, çekme dayanımları ( $\sigma_B$ ) ve elastik modülleri (E) ise azalmaktadır. En yüksek uzama değerleri

%24 oranında NaOH kullanıldığı zaman elde edilirken en yüksek elastik modül ve çekme dayanımı değerlerine ön işlem sırasında %5 oranında KOH kullanımının neden olduğu görülmektedir. Ön işlem sırasında %24 oranında alkali kullanılması sonucunda elde edilen filmlerin daha düşük konsantrasyonlarda alkali kullanılması sonucu elde edilen filmlere kıyasla sahip olduğu yüksek nem miktarı, elde edilen bu filmlerdeki yüksek uzama değerlerinin sebebi olarak gösterilebilir zira su, hemiselüloz temelli filmlerde plastikleştirici etkisine sahiptir.

**Tablo 3.1** Ön işlem sırasında kullanılan KOH konsantrasyonunun hemiselüloz temelli filmlerin mekanik özellikleri üzerindeki etkisi

| <b>KOH konsantrasyonu (%)</b> | <b><math>\sigma_B</math> (MPa)</b> | <b><math>e_B</math> (%)</b> | <b>E (MPa)</b> | <b>Nem miktarı (%)</b> |
|-------------------------------|------------------------------------|-----------------------------|----------------|------------------------|
| <b>24</b>                     | 30.2 ± 8.1                         | 7.9 ± 2.5                   | 1846.3 ± 411.8 | 12.7 ± 0.2             |
| <b>10</b>                     | 48.1 ± 6.6                         | 4.1 ± 1.8                   | 2428.8 ± 436.2 | 11.8 ± 0.5             |
| <b>5</b>                      | 60.6 ± 7.3                         | 3.1 ± 0.4                   | 2942.5 ± 318.4 | 11.2 ± 0.2             |

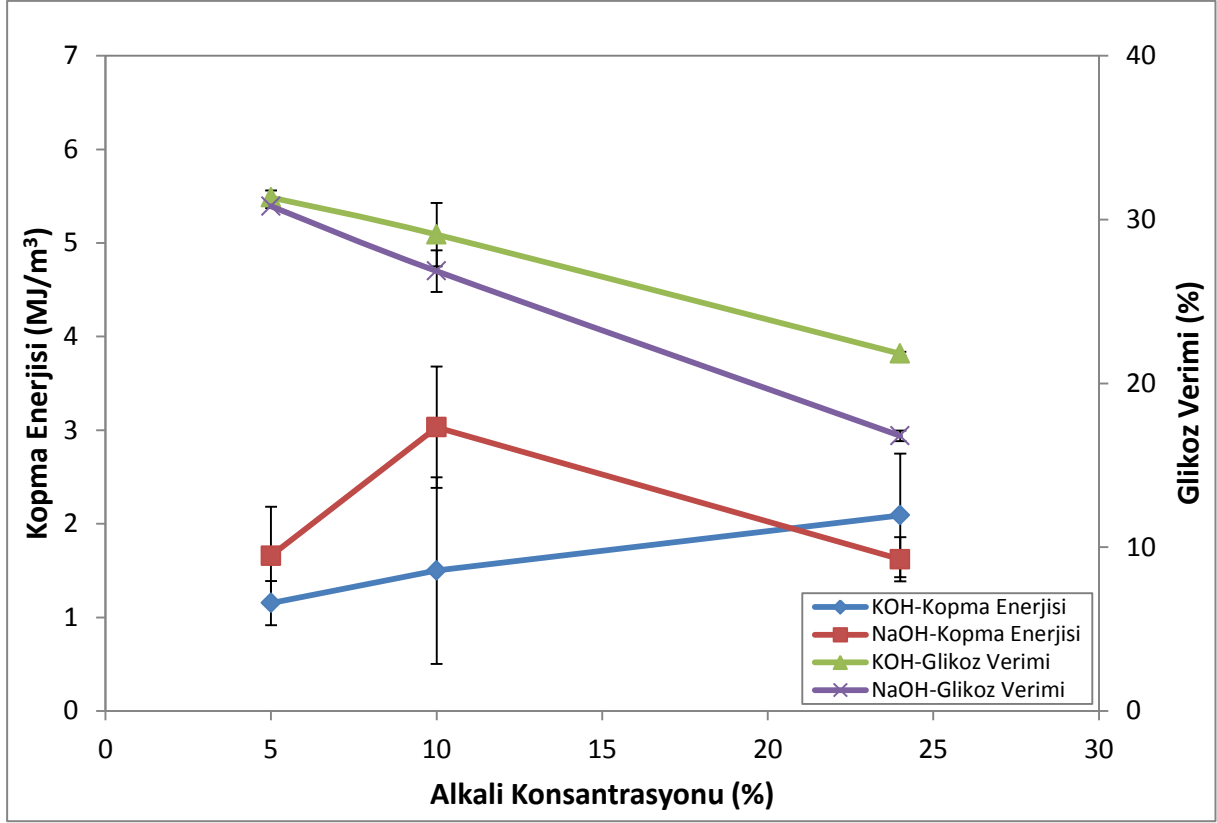
**Tablo 3.2** Ön işlem sırasında kullanılan NaOH konsantrasyonunun hemiselüloz temelli filmlerin mekanik özellikleri üzerindeki etkisi

| <b>NaOH konsantrasyonu (%)</b> | <b><math>\sigma_B</math> (MPa)</b> | <b><math>e_B</math> (%)</b> | <b>E (MPa)</b> | <b>Nem miktarı (%)</b> |
|--------------------------------|------------------------------------|-----------------------------|----------------|------------------------|
| <b>24</b>                      | 14.3 ± 2.0                         | 12.3 ± 1.8                  | 554.4 ± 176.4  | 16.5±0.3               |
| <b>10</b>                      | 45.0 ± 6.2                         | 7.6 ± 1.7                   | 2174.6 ± 304.8 | 14.4±0.1               |
| <b>5</b>                       | 46.6 ± 11.9                        | 4.7 ± 1.2                   | 2118.3 ± 492.4 | 14.8±0.6               |

### **3.1.4 Alkali cinsi ve konsantrasyonunun eş zamanlı olarak glikoz ve biyoplastik üretimi üzerindeki etkisinin değerlendirilmesi**

Mısır koçanına uygulanan ön işlem sırasında alkali konsantrasyonunun, glikoz verimi ve hemiselüloz temelli filmlerin mekanik özellikleri üzerindeki etkisinin incelenmesi amacıyla

selülozik kısımdan 48. saat sonunda enzimatik hidroliz vasıtasıyla elde edilen glikoz verimi ve filmlerin kopma enerjileri birlikte incelenmiştir. Karşılaştırma amacıyla hemiselüloz temelli filmlerin kopma enerjisinin seçilmesinin sebebi, kopma enerjisi değerinin, çekme dayanımı ve kopmada uzama değerini birlikte göz önüne almasıdır. Şekil 3.5’de görülebileceği üzere, ön işlem sırasında KOH ya da NaOH konsantrasyonunun artırılması, glikoz veriminde düşüşe neden olmaktadır ve bu bağlamda her iki alkali cinsi için de en uygun konsantrasyon %5 olarak ortaya çıkmaktadır. Hemiselüloz temelli filmlerin kopma enerjileri bağlamında ise, en yüksek alkali konsantrasyonu dışındaki (%24) diğer konsantrasyonlarda ön işlem sürecinde NaOH kullanımının KOH kullanımına kıyasla daha yüksek kopma enerjisine sahip filmlerin elde edilmesine neden olduğu belirlenmiştir. Ön işlem sırasında %10’luk NaOH çözeltisi kullanılması, %5’lik çözelti kullanılmasına kıyasla filmlerin kopma enerjilerinde artışa neden olmaktadır ancak istatistiksel olarak analiz edildiğinde bu artışın %95 güven düzeyinde ( $p < 0.05$ ) istatistiksel olarak ciddi bir artış olmadığı belirlenmiştir ( $p = 0.707$ ). Bu noktalar açısından ve glikoz verimi ile filmlerin mekanik özellikleri birlikte göz önüne alındığında, ön işlem sürecinde %5 konsantrasyona sahip NaOH çözeltisi kullanılmasının en uygun ön işlem koşullarını sağladığı belirlenmiştir.



Şekil 3. 5 Ön işlem sırasında kullanılan KOH ve NaOH konsantrasyonunun hemiselüloz temelli filmlerin kopma enerjileri ve glikoz verimi üzerindeki etkisi.<sup>1</sup>

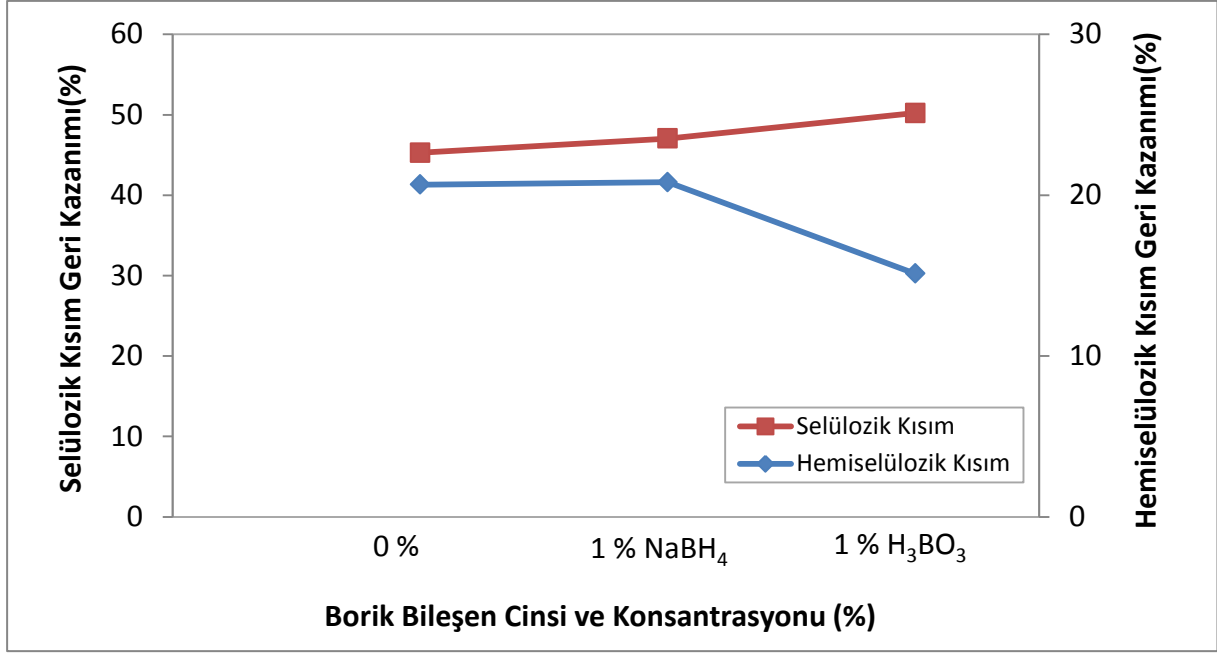
### 3.2 Borik bileşen cinsi ve konsantrasyonunun eş zamanlı glikoz ve biyoplastik üretim sürecine etkisi

Alkali cinsi ve konsantrasyonu üzerine yapılan çalışmalar neticesinde, ön işlem sırasında %5 oranında NaOH kullanılmasının bu kapsamda en uygun parametre olduğu ortaya çıkartılmıştır. Bu durumda ön işlem sırasında %1 oranında sodyum borohidrat ( $\text{NaBH}_4$ ) kullanılmaktadır. Çalışmanın bu ikinci aşamasında ön işlem sırasında  $\text{NaBH}_4$  yerine daha ucuz ve daha az toksik olan borik asit ( $\text{H}_3\text{BO}_3$ ) kullanılmış ayrıca herhangi bir borik bileşen kullanılmadan ön işlemler gerçekleştirilmiştir. Borik bileşenle ilgili bu değişikliklerin elde edilen ürünler üzerindeki etkileri incelenmiştir.

<sup>1</sup> Glikoz verimi ön işlem görmemiş mısır koçanlarının ağırlığı bazında hesaplanmıştır.

### **3.2.1 Borik bileşen cinsi ve konsantrasyonunun hemiselülozik ve selülozik kısımların geri kazanımı üzerindeki etkisi**

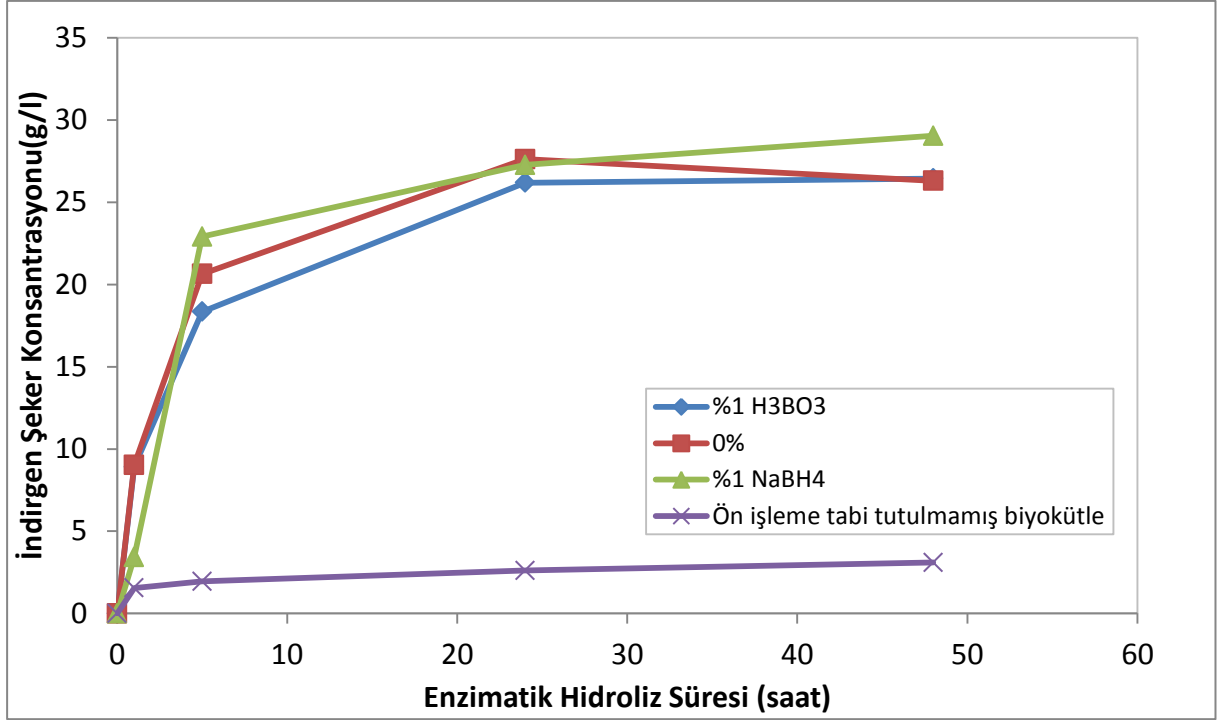
Ön işlemler %1 ve %0 NaBH<sub>4</sub> ve H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> kullanılarak gerçekleştirilmiş ve ön işlem sırasında kullanılan borik bileşen cinsi ve konsantrasyonunun hemiselülozik ve selülozik kısımların geri kazanım miktarları üzerindeki etkisi incelenmiştir. Şekil 3.6'da görülebileceği üzere borik bileşen kullanımı elde edilen selülozik kısım miktarında artışa sebep olmaktadır. Ön işlem sırasında NaBH<sub>4</sub> yerine H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> kullanımı elde edilen selülozik kısım miktarında yaklaşık %7 oranında bir artışa sebep olmakta ve selülozik kısım geri kazanım yüzdesi %47.0'den %50.4'e çıkmaktadır. Ön işlem sırasında NaBH<sub>4</sub> yerine H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> kullanımı elde edilen hemiselülozik kısım miktarında ise yaklaşık %27'lik bir kayba neden olmakta ve hemiselülozik kısım geri kazanım yüzdesi %20.8'den %15.1'e düşmektedir. Ön işlem sırasında herhangi bir borik bileşen kullanılmadığı durumda elde edilen hemiselülozik kısım miktarında ise mevcut duruma göre (%1 NaBH<sub>4</sub>) ciddi bir değişiklik olmamaktadır. Ön işlem sırasında 1% NaBH<sub>4</sub> ve 0% NaBH<sub>4</sub> kullanılması durumunda elde edilen hemiselülozik kısım geri kazanım yüzdeleri sırasıyla %20.8 ve %20.7'dir.



Şekil 3. 6 Borik bileşen cinsi ve konsantrasyonunun geri kazanılan selülozik ve hemiselülozik kısımların miktarları üzerindeki etkisi

### 3.2.2 Borik bileşen cinsi ve konsantrasyonunun elde edilen indirgen şeker miktarı üzerindeki etkisi

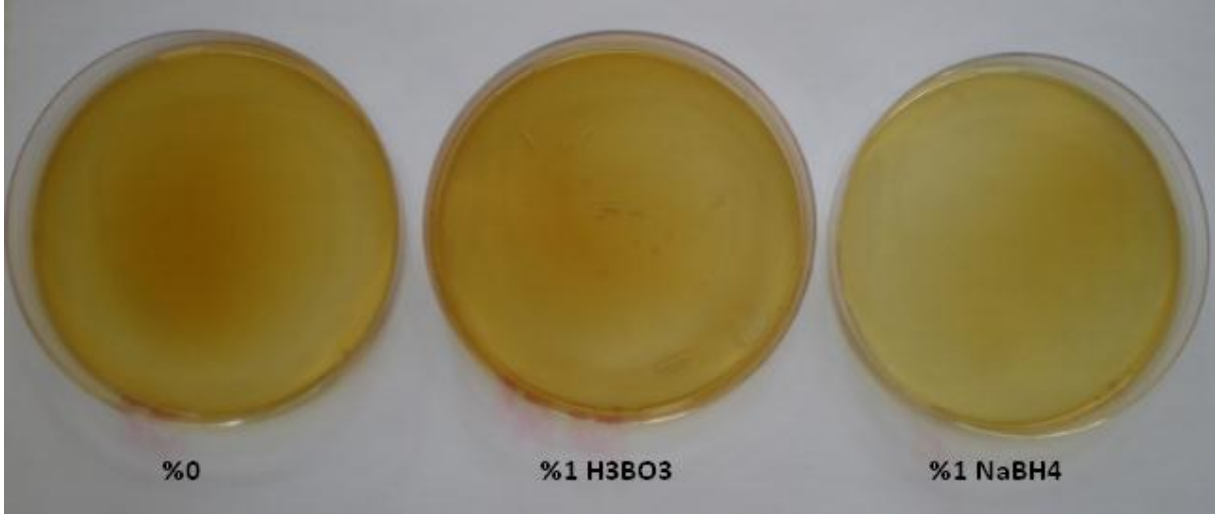
Şekil 3.7'de görülebileceği üzere ön işlem sırasında %1 NaBH<sub>4</sub>, %1 H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> ve %0 borik bileşen kullanılması, enzimatik hidrolizin 48. saati sonunda sırasıyla 29.0, 26.4 ve 26.3 g/l indirgen şeker oluşumuna neden olmuştur. Ön işlem sırasında %1 H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> kullanımının elde edilen indirgen şeker konsantrasyonu üzerinde ciddi bir etkiye sahip olmadığı elde edilen bu veriler sonucunda anlaşılmıştır zira ön işlem sırasında herhangi bir borik bileşen kullanılmaması durumunda da hemen hemen aynı miktarda indirgen şeker oluşumu gözlenmektedir. Ön işlem sırasında %1 NaBH<sub>4</sub> kullanılmasının ise kısmen de olsa enzimatik hidroliz sürecine olumlu bir katkıda bulunduğu anlaşılmaktadır.



Şekil 3. 7 İndirgen şeker konsantrasyonunun enzimatik hidroliz süresine karşı grafiği

### 3.2.3 Borik bileşen cinsi ve konsantrasyonunun elde edilen hemiselüloz temelli filmlerin mekanik özellikleri üzerindeki etkisi

Şekil 3.8’de ön işlem sırasında borik bileşen kullanılması veya herhangi bir borik bileşen kullanılmaması sonucunda elde edilen hemiselüloz temelli filmlerin fotoğrafları görülmektedir. Aşağıda görüldüğü üzere filmlerin görsel özellikleri arasında ciddi bir farklılık bulunmamaktadır.



Şekil 3. 8 Ön işlem sırasında kullanılan borik bileşen cinsinin hemiselüloz temelli filmlerin görünüşleri üzerindeki etkisi

Ön işlem sırasında %1 NaBH<sub>4</sub>, %1 H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> kullanılması veya herhangi bir borik bileşen kullanılmaması sonucunda elde edilen hemiselüloz temelli biyoplastik filmlerin mekanik özellikleri Tablo 3.3’de verilmiştir. Tablo 3.3’de ki veriler incelendiğinde ön işlem sırasında borik bileşen cinsi olarak NaBH<sub>4</sub> kullanımının filmlerin mekanik özellikleri üzerinde önemli etkiye sahip olduğu görülmektedir. Ön işlem sırasında %1 NaBH<sub>4</sub> kullanılması sonucunda elde edilen filmlerin çekme dayanımı değerlerinde ön işlem sırasında herhangi bir borik bileşen kullanılmadığı veya %1 H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> kullanıldığı durumlara kıyasla ciddi bir iyileşme gözlemlenmektedir. Ön işlem sırasında %1 H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> kullanılması durumunda ise en yüksek yüzdesel uzama değerine sahip filmler elde edilmiştir. Tablo 3.3 incelendiğinde görülebileceği üzere, elde edilen filmlerin yüzdesel uzama değerleri sahip oldukları nem miktarları ile doğru orantılı olarak değişmektedir.

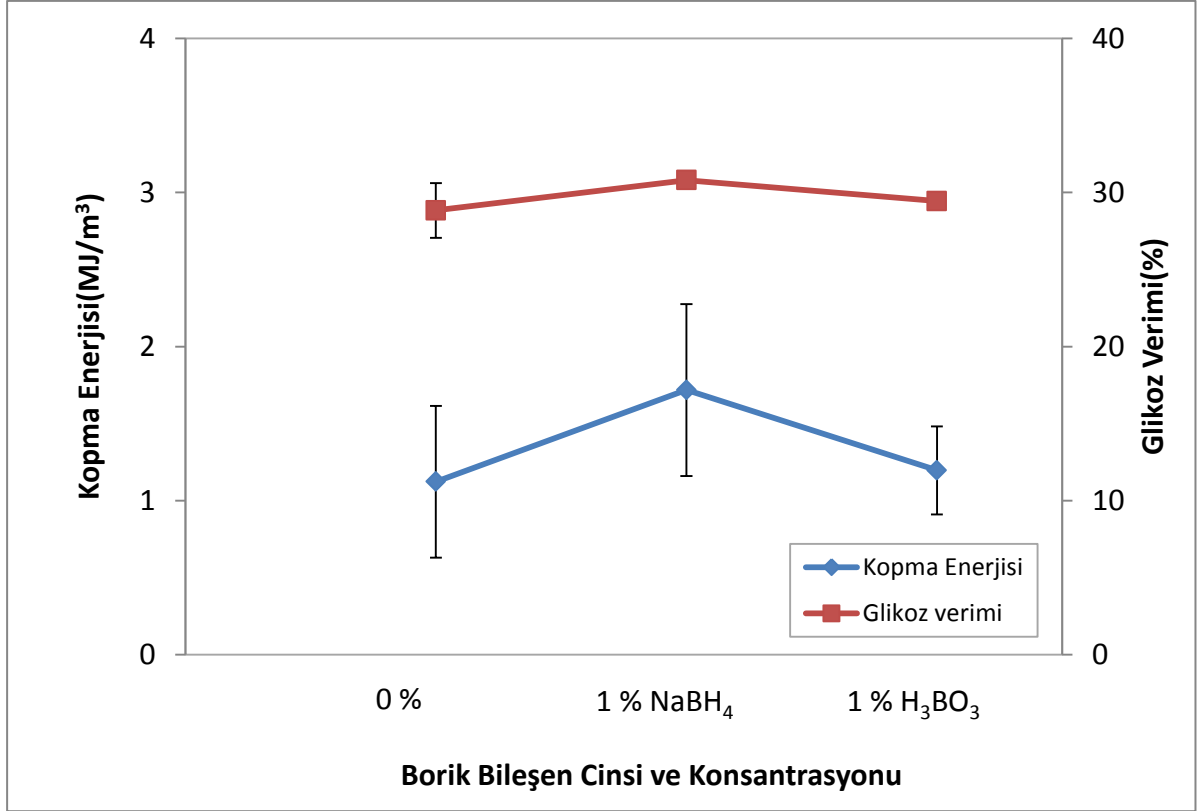


**Tablo 3.3** Borik bileşen cinsi ve konsantrasyonunun hemiselüloz temelli filmlerin mekanik özellikleri üzerindeki etkisi

| <b>Borik Bileşen Cinsi ve Konsantrasyonu (%)</b> | <b>E (MPa)</b> | <b><math>\sigma_B</math> (MPa)</b> | <b><math>e_B</math> (%)</b> | <b>Nem miktarı (%)</b> |
|--|----------------|------------------------------------|-----------------------------|------------------------|
| <b>Borik bileşen yok</b>                         | 364.2±315.2    | 9.7±6.0                            | 14.4±4.0                    | 16.4±1.6               |
| <b>%1 H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub></b>            | 246.1±188.6    | 8.6±4.6                            | 18.5±6.3                    | 17.3±0.6               |
| <b>%1 NaBH<sub>4</sub></b>                       | 1742.5±517.1   | 38.8±11.4                          | 5.5±1.3                     | 13.6±0.1               |

### **3.2.4 Borik bileşen cinsi ve konsantrasyonunun eş zamanlı olarak glikoz ve biyoplastik film üretimi üzerindeki etkisinin değerlendirilmesi**

Şekil 3.9’da görüldüğü üzere, ön işlem sırasında mevcut durumda kullanılan %1 NaBH<sub>4</sub> yerine %1 H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> kullanılması durumunda glikoz veriminde ciddi bir düşüş yaşanmamakta ve elde edilen glikoz verimi %30.8’den %29.4’e düşmektedir. Ön işlem sırasında herhangi bir borik bileşen kullanılmaması durumunda ise glikoz verimi %28.8’e düşmektedir. Bu sonuçlar bağlamında ön işlem sırasında kullanılan borik bileşen cinsinin ya da konsantrasyonunun, sürecin glikoz üretim kısmı üzerinde kayda değer bir etkiye sahip olmadığı belirlenmiştir. Buna karşın borik bileşen cinsi ve konsantrasyonu sürecin hemiselülozik kısmı üzerinde önemli etkiye sahiptir. Elde edilen hemiselüloz temelli filmler kopma enerjileri bağlamında kıyaslandığında en yüksek kopma enerjisi değeri ön işlem sırasında %1 NaBH<sub>4</sub> kullanılması sonucunda elde edilmiştir. Ön işlem sırasında %1 H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> kullanılması veya herhangi bir borik bileşen kullanılmaması durumunda ise elde edilen filmlerin kopma enerjisi değerlerinde düşme gözlenmektedir. Elde edilen bu sonuçlar göz önüne alındığında, ön işlem sırasında %1 oranında NaBH<sub>4</sub> kullanılmasının, glikoz ve hemiselüloz temelli biyoplastik filmlerin eş zamanlı üretim süreci açısından en uygun koşulları sağladığı ortaya çıkmaktadır.



Şekil 3. 9 Ön işlem sırasında kullanılan borik bileşen cinsi ve konsantrasyonunun hemiselüloz temelli filmlerin kopma enerjileri ve glikoz verimi üzerindeki etkisi.<sup>2</sup>

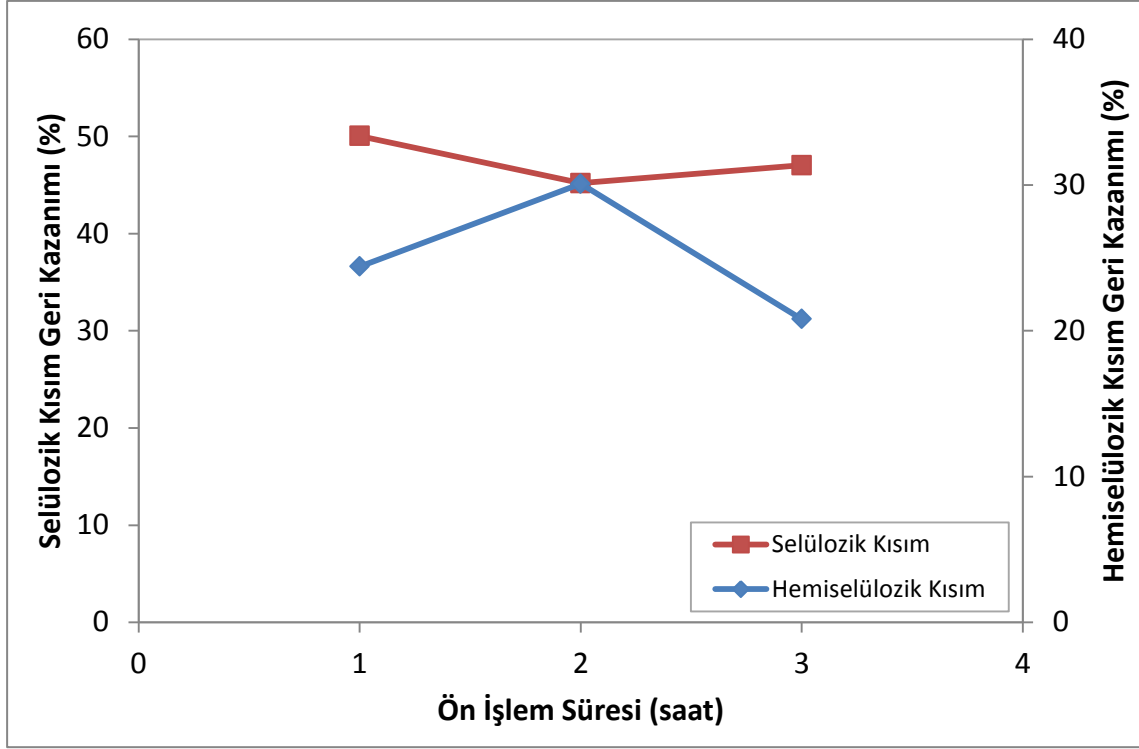
### 3.3 Ön işlem süresinin eş zamanlı glikoz ve biyoplastik üretim sürecine etkisi

Ön işlem sırasında kullanılan alkali cinsi ve konsantrasyonu ile borik bileşen cinsi ve konsantrasyonunun elde edilen ürünler üzerindeki etkilerinin incelenmesi sonucunda, en uygun koşulların ön işlem sırasında %5 NaOH ve %1 NaBH<sub>4</sub> kullanılmasıyla sağlandığı belirlenmiştir. Proje kapsamında incelenen son ön işlem parametresi ise ön işlem süresidir. Mevcut durumda 3 saat olan ön işlem süresi 2 saat ve 1 saate düşürülmüş ve bu değişimin ürünler üzerindeki etkisi incelenmiştir.

<sup>2</sup> Glikoz verimi ön işlem görmemiş mısır koçanlarının ağırlığı bazında hesaplanmıştır.

### **3.3.1 Ön işlem süresinin hemiselülozik ve selülozik kısımların geri kazanımı üzerindeki etkisi**

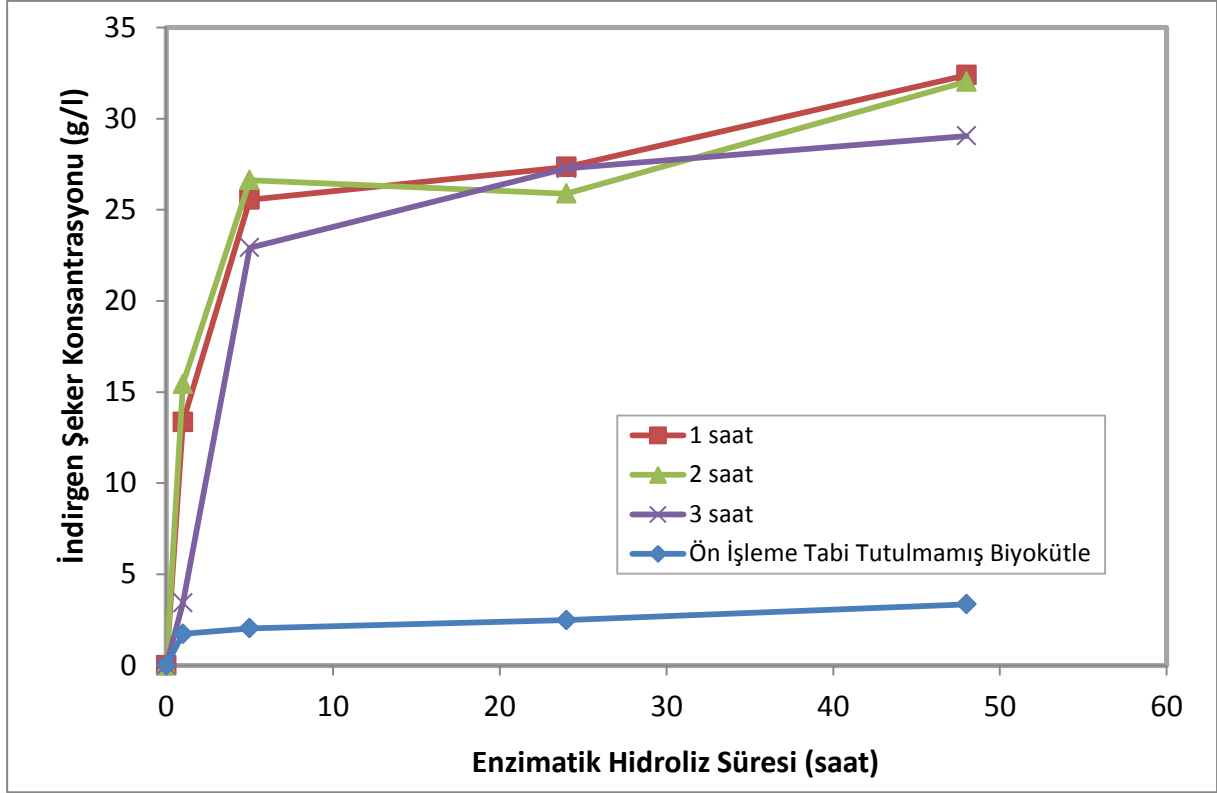
Şekil 3.10' da görülebileceği üzere mısır koçanlarının 2 saat boyunca ön işleme tabi tutulması sonucunda elde edilen hemiselülozik kısım miktarı 3 saat boyunca ön işleme tabi tutulmuş mısır koçanlarından elde edilen hemiselülozik kısım miktarına kıyasla ciddi şekilde artmakta ve hemiselülozik geri kazanım değeri %20.8'den %30.1'e çıkmaktadır. Fakat ön işlem süresinin 2 saatten 1 saate düşürülmesi sonucu elde edilen hemiselülozik kısım miktarında ciddi bir düşüş gözlenmekte ve hemiselülozik geri kazanım değeri %30.1'den %24.4'e düşmektedir. Ön işlem süresinin 3 saatten 2 saate düşürülmesi sonucu elde edilen selülozik kısım miktarı ise azalmakta ve mevcut durumda elde edilen selülozik kısım geri kazanım değeri % 47.0'den %45.2'ye düşmektedir. Ön işlem süresinin 1 saate düşürülmesi sonucu elde edilen selülozik kısım miktarı ise 3 saat boyunca ön işleme tabi tutulan mısır koçanlarından elde edilen selülozik kısım miktarına kıyasla artmış ve elde edilen selülozik kısım geri kazanım değeri %47.0'dan %50.1'e çıkmıştır.



Şekil 3. 10 Ön işlem süresinin geri kazanılan selülozik ve hemiselülozik kısımların miktarları üzerindeki etkisi

### 3.3.2 Ön işlem süresinin elde edilen indirgen şeker miktarı üzerindeki etkisi

Şekil 3.11’de görülebileceği üzere ön işlem süresinin 3 saat yerine 2 saat veya 1 saate düşürülmesinin 48. saatin sonunda elde edilen indirgen şeker konsantrasyonu üzerinde ciddi bir etkisi bulunmamaktadır. Ön işlem süresinin azaltılması sonucunda elde edilen indirgen şeker konsantrasyonu değerinde yaklaşık %10’luk bir artış gözlenmektedir. Mısır koçanlarının 3 saat, 2 saat ve 1 saat boyunca ön işleme tabi tutulması sırasıyla 29.1, 32.0 ve 32.4 g/l indirgen şeker oluşumuna sebep olmaktadır.



Şekil 3. 11 İndirgen şeker konsantrasyonunun enzimatik hidroliz süresine karşı grafiği

### 3.3.3 Ön İşlem süresinin elde edilen hemiselüloz temelli filmlerin mekanik özellikleri üzerindeki etkisi

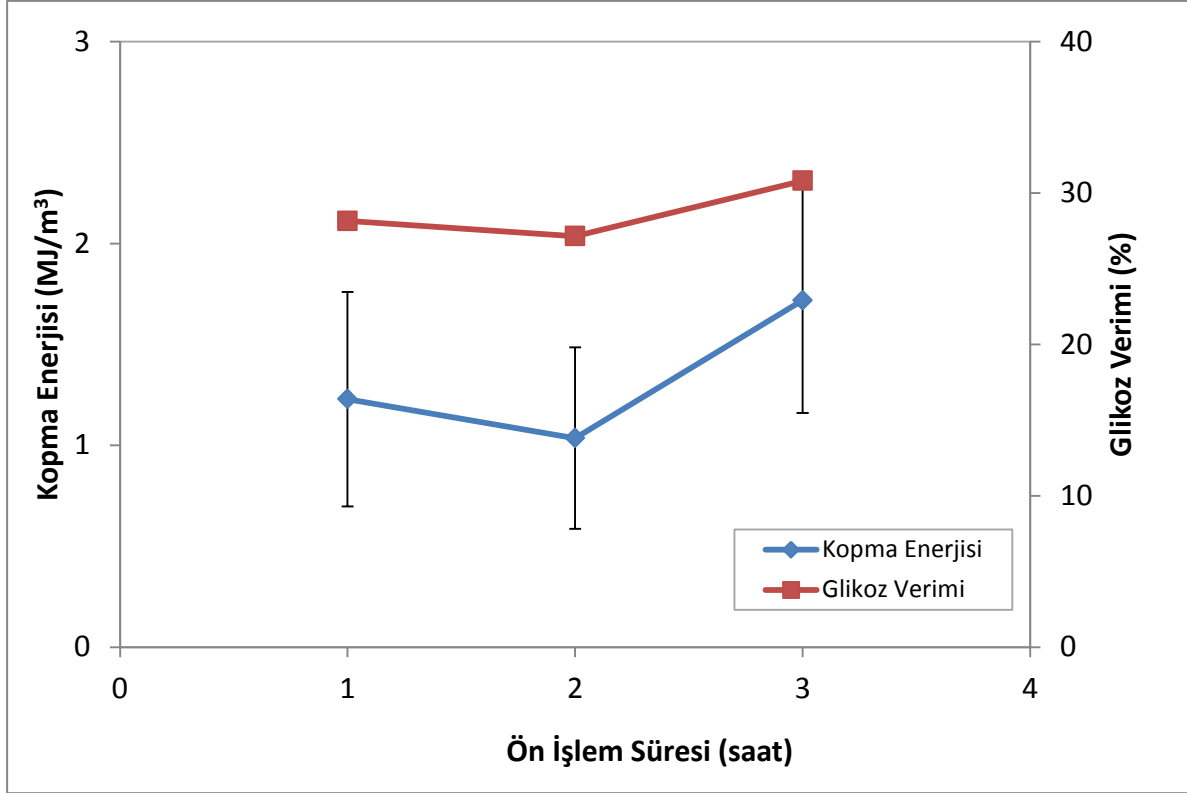
Tablo 3.4’de görülebileceği üzere farklı ön işlem sürelerinin elde edilen filmlerin mekanik özellikleri üzerinde önemli etkisi bulunmaktadır. Mevcut durumda uygulanan 3 saat ön işlem süresinin düşürülmesi sonucu elde edilen filmlerin çekme dayanımı ve elastik modül değerlerinde ciddi oranda düşüş meydana gelmiştir. Filmlerin çekme dayanımı ve lignin miktarlarında ise ön işlem süresinin azalmasına bağlı olarak düşüş gözlenirken, filmlerin yüzdesel uzama değerlerinde artış gözlenmiştir.

**Tablo 3.4** Ön işlem süresinin hemiselüloz temelli filmlerin mekanik özellikleri üzerindeki etkisi

| Ön işlem süresi (saat) | E (MPa)      | $\sigma_B$ (MPa) | $e_B$ (%) | Nem miktarı (%) |
|------------------------|--------------|------------------|-----------|-----------------|
| 1 saat                 | 192.0±160.9  | 7.3±4.7          | 20.2±3.4  | 18.0±0.8        |
| 2 saat                 | 123.3±88.0   | 5.4±2.7          | 22.0±6.6  | 17.9±0.6        |
| 3 saat                 | 1742.5±517.1 | 38.8±11.4        | 5.5±1.3   | 13.6 ± 0.1      |

### 3.3.4 Ön işlem süresinin eş zamanlı olarak glikoz ve biyoplastik üretimi üzerindeki etkisinin değerlendirilmesi

Şekil 3.12 incelendiğinde görülebileceği üzere farklı ön işlem sürelerinin uygulanması sonucu elde edilen glikoz verimleri ve kopma enerjisi değerlerindeki değişimler benzerlik göstermektedir. Mevcut durumda uygulanan 3 saatlik ön işlem süresinin 2 saate düşürülmesi sonucunda elde edilen glikoz verimi yaklaşık %12 oranında azalmakta ve glikoz verimi %30.8'den %27.2'ye düşmektedir. Ön işlem süresinin mevcut durumda uygulanan 3 saat yerine 1 saate düşürülmesi sonucunda ise elde edilen glikoz verimi %30.8'den %28.2'ye düşmektedir. Ön işlem süresinin kısaltılması özellikle hemiselüloz temelli filmlerin mekanik özellikleri üzerinde olumsuz bir etkiye sahiptir. Mevcut durumda 3 saat boyunca uygulanan ön işlem süresinin düşürülmesi durumunda elde edilen filmlerin kopma enerjisi değerlerinde ciddi bir düşüş gözlenmektedir. Bu bilgiler kapsamında, %5 NaOH ve %1 NaBH<sub>4</sub> kullanılarak gerçekleştirilen ön işlem süresinin 3 saat olması durumunda en uygun koşulların elde edileceği anlaşılmıştır.

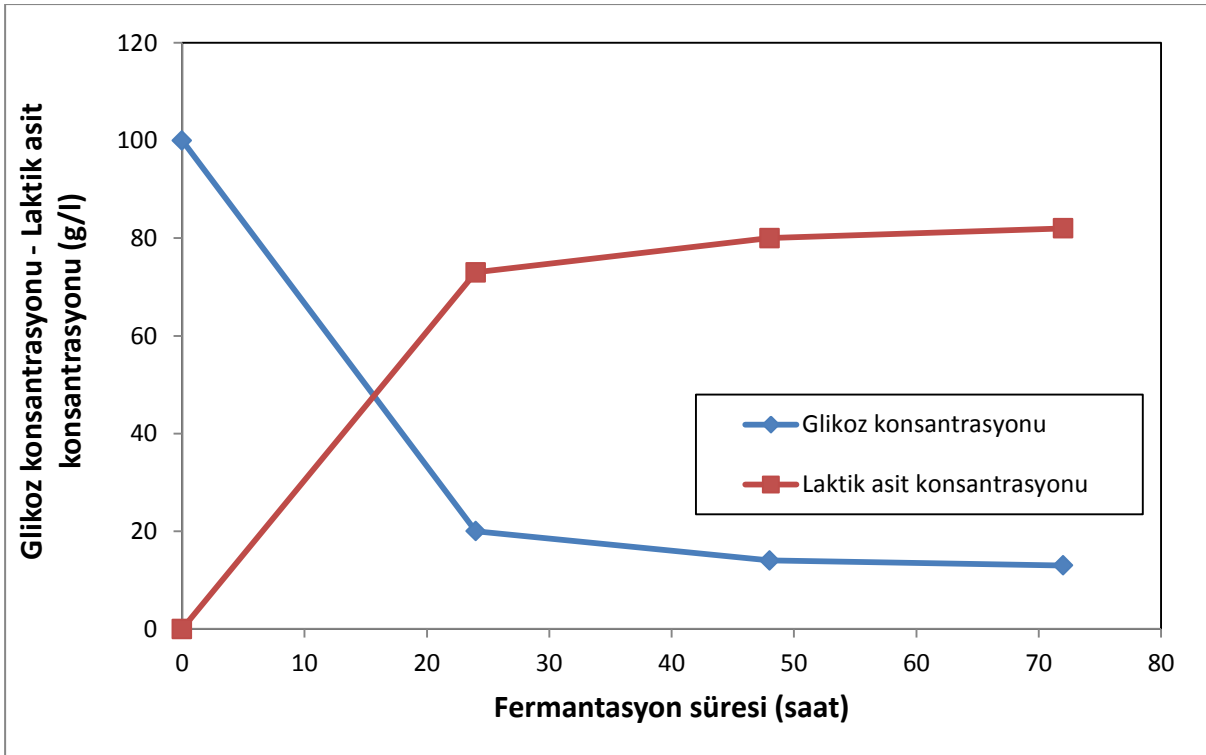


Şekil 3. 12 Ön işlem süresinin hemiselüloz temelli filmlerin kopma enerjileri ve glikoz verimi üzerindeki etkisi.

### 3.4 Belirlenen en uygun ön işlem koşulları sonrasında elde edilen glikozdan fermantasyon vasıtasıyla laktik asit elde edilmesi

Proje kapsamında gerçekleştirilen optimizasyon çalışmaları sonucunda mısır koçanlarından glikoz ve hemiselüloz temelli biyoplastik filmlerin üretilmesi için en uygun koşulların, mısır koçanlarının 3 saat süreyle %5 NaOH ve %1 NaBH<sub>4</sub> içeren alkali ön işlem çözeltisinde 3 saat süreyle ön işlem görmeleriyle ortaya çıktığı belirlenmiştir. Bu parametrelerde ön işlem görmüş mısır koçanlarından elde edilen selülozik kısım enzimatik hidrolize tabi tutularak glikoz elde edilmiş ve bu glikozun fermantasyona uygunluğunun belirlenmesi açısından elde edilen glikoz şurubundan fermantasyon vasıtasıyla laktik asit üretimi gerçekleştirilmiştir.

Şekil 3.13’de görülebileceği üzere mısır koçanlarının alkali ön işleme tabi tutulması sonrasında enzimatik hidroliz vasıtasıyla elde edilen glikoz fermantasyon için uygun bir karbon kaynağı teşkil etmektedir. Fermantasyon sürecinin büyük kısmı 24. saat sonunda tamamlanmıştır zira 24. saatten sonra laktik asit miktarında önemli bir artış gerçekleşmemiş ve buna paralel olarak da glikoz konsantrasyonundaki düşüş oldukça az olmuştur. 72 saatlik fermantasyon sonucunda mısır koçanlarından elde edilen ve 100 g/l konsantrasyona sahip glikoz şurubundan elde edilen laktik asit konsantrasyonu 82 g/l olarak belirlenmiştir. Bir diğer deyişle mısır koçanlarına uygulanan ve optimize edilen parametrelerde gerçekleştirilen ön işlem sonrasında elde edilen glikozun %82’si fermantasyon vasıtasıyla laktik aside dönüştürülmüştür.



Şekil 3. 13 Fermantasyon süreci boyunca glikoz ve laktik asit konsantrasyonlarında meydana gelen değişim



### **Proje kapsamında elde edilen sonuçlar**

Lignoselülozik tarımsal bir atık olan mısır koçanından, glikoz ve biyoplastik filmlerin eş zamanlı üretimi amacıyla gerçekleştirilen ön işlem sürecinde daha ekonomik şekilde mümkün kılacak ve en iyi özelliklere sahip ürünleri ortaya çıkartmak amacıyla, ön işlem parametrelerinin optimizasyonuna yönelik bir çalışma gerçekleştirilmiştir. Bu bağlamda farklı alkali cinsi ve konsantrasyonu, borik bileşen cinsi ve konsantrasyonu ile farklı ön işlem sürelerinin ürün miktarları ve özellikleri üzerindeki etkileri incelenmiştir. Proje kapsamında en uygun ön işlem koşullarının belirlenebilmesi amacıyla enzimatik hidrolizin 48. saati sonundaki glikoz verimleriyle hemiselüloz temelli filmlerin kopma enerjileri ve ön işlem sonrasında elde edilen hemiselülozik kısmın geri kazanımı bir arada değerlendirilmiştir. Bu kapsamda projede başlangıç noktası olarak kabul edilen, %24 KOH ve %1 NaBH<sub>4</sub> kullanılarak 3 saat süreyle gerçekleştirilen ön işlem, aynı ön işlem süresinde %5 NaOH ve %1 NaBH<sub>4</sub> kullanılmasıyla gerçekleştirilebilir hale getirilmiştir. Belirtilen bu parametrelerle gerçekleştirilen ön işlem sonrasında elde edilen selülozik kısmın enzimatik hidrolize tabi tutulması sonrasında elde edilen glikozdan laktik üretimi gerçekleştirilmiş ve bu şekilde elde edilen glikozun fermantasyona uygun olduğu belirlenmiştir. Özetle ön işlem sürecinde başlangıç noktasına kıyasla kullanılan alkali miktarında yaklaşık 5 kat azalma sağlanmış ve daha ucuz bir alkali cinsi kullanılmıştır. Bu şekilde glikoz ve biyoplastik filmlerin eş zamanlı üretimi amacıyla gerçekleştirilen ön işlem sürecinin, ekonomik olarak daha uygulanabilir hale getirilmesi sağlanmıştır.

#### 4. REFERANSLAR

BAHÇEGÜL E., Tatli E., Haykir N.I., Apaydin S., Bakir U., Selecting the right blood glucose monitor for the determination of glucose during the enzymatic hydrolysis of corncob pretreated with different methods, *Bioresource Technology*, 102, 9646–9652, (2011).

LAWTHER J.M., Sun R., Banks W.B., Effects of Extraction Conditions and Alkali Type on Yield and Composition of Wheat Straw Hemicellulose, *Journal of Applied Polymer Science*, 60, 1827–1837, (1996).

MILLER G.L., Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Analytical Chemistry*, 31, 426–428, (1959).

ZHANG Y.H.P., Reviving the carbohydrate economy via multi-product lignocellulose biorefineries, *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 35, 367–375, (2008).

ZILLIOX C., Debeire P., Hydrolysis of wheat straw by a thermostable endoxylanase: Adsorption and kinetic studies, *Enzyme and Microbial Technology*, 22, 58–63, (1998).

**TÜBİTAK**  
**PROJE ÖZET BİLGİ FORMU**

|  |
|--|
| <b>Proje No:</b> 110M789   |
| <b>Proje Başlığı:</b> MISIR KOÇANINDAN EŞ ZAMANLI OLARAK GLİKOZ VE BİYOPLASTİK ÜRETİMİ SÜRECİNDE ÖN İŞLEM PARAMETRELERİNİN İNCELENMESİ   |
| <b>Proje Yürütücüsü ve Araştırmacılar:</b> Prof. Dr. UFUK BAKIR BÖLÜKBAŞI (Proje Yürütücüsü)   |
| <b>Projenin Yürütüldüğü Kuruluş ve Adresi:</b> ORTA DOĞU TEKNİK ÜNİVERSİTESİ Kimya Mühendisliği Bölümü Üniversiteler Mah. 06800 Ankara   |
| <b>Destekleyen Kuruluş(ların) Adı ve Adresi:</b> Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK)   |
| <b>Projenin Başlangıç ve Bitiş Tarihleri:</b> 15/02/2011 – 15/02/2012  |
| <b>Öz (en çok 70 kelime)</b><br>Proje kapsamında mısır koçanlarından eş zamanlı olarak glikoz ve biyoplastik filmlerin üretilmesi sürecinde uygulanan ön işlem koşullarının optimizasyonu gerçekleştirilmiştir. Mısır koçanlarına uygulanan ön işlem sırasında kullanılan alkali bileşen cinsi ve konsantrasyonu, borik bileşen cinsi ve konsantrasyonu ve ön işlem süresi, incelenen ön işlem parametreleri arasında yer almaktadır. Çalışmalar sonucunda %5 NaOH ve %1 NaBH <sub>4</sub> kullanımıyla sağlandığı ve ön işlem süresinin bu koşullarda 3 saat olması gerektiği belirlenmiştir. |
| <b>Anahtar Kelimeler:</b> Lignoselülozik, Tarımsal atık, Selüloz, Hemiselüloz, Glikoz, Biyoplastik   |
| <b><a href="#">Fikri Ürün Bildirim Formu</a> Sunuldu mu?</b> Evet <input type="checkbox"/> Gerekli Değil <input checked="" type="checkbox"/><br><small>Fikri Ürün Bildirim Formu'nun tesliminden sonra 3 ay içerisinde patent başvurusu yapılmalıdır.</small>  |
| <b>Projeden Yapılan Yayınlar:</b> BAHÇEGÜL E., Toraman H.E., Özkan N., Bakır U., Evaluation of alkaline pretreatment temperature on a multi-product basis for the co-production of glucose and hemicellulose based films from lignocellulosic biomass, <i>Bioresource Technology</i> , 103, 440–445, (2012). (Bu çalışma, proje kapsamında alımı yapılan santrifüj cihazı ve sarf malzemelerinin bir kısmı kullanılarak gerçekleştirilmiştir.)   |