

Biyoliflendirme işleminde farklı beyaz çürüklük mantarlarının ve inkübasyon sürelerinin odunun kimyasal bileşimi üzerine etkisi

Effect of different white rot fungi and incubation period on the chemical composition of wood in the biopulping process

Ayhan TOZLUOĞLU^{1*} Recai ARSLAN²

¹Düzce Üniversitesi, Orman Fakültesi, Orman Endüstri Mühendisliği, Orman ürünleri Kimyası ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Düzce

²Düzce Üniversitesi, Rektörlük, Tarımsal Atıkların Endüstriye Geri Kazanımı Uygulama ve Araştırma Merkezi, Düzce

Eser Bilgisi / Article Info

Araştırma makalesi / Research article

DOI: 10.17474/artvinofd.1461776

Sorumlu yazar / Corresponding author

Ayhan TOZLUOĞLU

e-mail: ayhantozluoglu@duzce.edu.tr

Geliş tarihi / Received

30.03.2024

Düzeltilme tarihi / Received in revised form

14.04.2024

Kabul Tarihi / Accepted

15.04.2024

Elektronik erişim / Online available

15.05.2024

Anahtar kelimeler:

Biyoliflendirme

Beyaz çürüklük mantarları

Lignin

İnkübasyon süresi

Keywords:

Biopulping

White rot fungi

Lignin

Incubation time

Özet

Kâğıt hamuru üretiminde yüksek enerji ve kimyasal madde tüketimi gibi olumsuz etkilerin bertaraf edilmesi amacıyla son yıllarda geliştirilen alternatif yöntemlerden birisi de biyoteknolojik uygulamaların bu sektörde kullanılmaya başlanmış olmasıdır. Bu yöntemde odun yongaları beyaz çürüklük mantarları ile muamele edilmekte ve böylece ligninin ön delignifikasyonu sağlanarak daha çevreci bir yöntemle kâğıt hamuru üretimi gerçekleştirilebilmektedir. Biyolojik kâğıt hamuru üretimi (biyoliflendirme-biopulping) adı verilen bu alternatif modifiye yöntem sayesinde odunda bulunan ligninin bir kısmı beyaz çürüklük mantarlarının biyolojik degradasyonu ile yapıdan uzaklaştırılmaktadır. Çalışmamızda beyaz çürüklük mantarlarından aktif delignifikasyon etkisine sahip *Phanerochaete chrysosporium*, *Pleurotus ostreatus* ve *Ceriporiopsis subvermispora* mantarları ile karaçam yongaları aşılacak suretiyle biyolojik ön uygulama gerçekleştirilerek, biyolojik modifikasyon işlemlerinin odunun kimyasal bileşimi üzerindeki etkisi özellikle ligninin delignifikasyonu dikkate alınarak değerlendirilmiştir.

Mantar muamelesi sonrasında en hızlı ağırlık ve lignin kaybının 4. hafta sonunda gerçekleştiği belirlenmiştir. İnkübasyon süresine bağlı olarak mantar muamelesi sonrasında odundaki diğer bileşenlerin azalmasına bağlı olarak holoselüloz miktarları oransal olarak artış göstermiştir. Optimum inkübasyon süresinin belirlenmesi noktasında odunun kimyasal bileşimi üzerinde yapılan çalışmalara bağlı olarak *P. chrysosporium* için 4 hafta; *P. ostreatus* ve *C. subvermispora* için ise 6 haftalık inkübasyon sürelerinin optimum olduğu belirlenmiştir.

Abstract

One of the alternative methods developed in recent years to eliminate the negative effects such as high energy and chemical consumption in pulp production is the use of biotechnological applications in this sector. In this method, wood chips are treated with white rot fungi and thus, preliminary delignification of lignin can be achieved and pulp production can be achieved in a more environmentally friendly way. Thanks to this alternative modified method called biological pulp production (biopulping), some of the lignin in the wood is removed from the structure by biological degradation of white rot fungi.

In our study, biological pre-treatment was carried out by inoculating black pine chips with the *Phanerochaete chrysosporium*, *Pleurotus ostreatus* and *Ceriporiopsis subvermispora* fungi, which have an active delignification effect from white rot fungi, and the effect of biological modification processes on the chemical composition of wood was evaluated, especially considering lignin delignification.

Although there was a decreasing increase in weight loss depending on the incubation period, it was determined that the fastest weight loss occurred at the end of the 4th week. The fastest lignin loss was observed at the end of the 4th week. The fastest increase in the holocellulose ratio occurred after the 2nd week, and this increase continued with a decreasing acceleration until the 8th week, depending on the incubation period. As a result of studies on the chemical composition of wood depending on different incubation periods, 4 weeks for *P. chrysosporium* and 6 weeks for *P. ostreatus* and *C. subvermispora* were determined to be optimum.

GİRİŞ

Kâğıt üretiminde mekanik, kimyasal veya yarı kimyasal hamur üretim metotları kullanılmaktadır. Hamur üretim yöntemlerinin ise yaklaşık olarak %25'ini mekanik hamur üretim yöntemleri oluşturmaktadır. Mekanik yöntemlerle

lif üretiminde en büyük dezavantaj yüksek enerji tüketimi olmakla birlikte, elde edilen hamurun verimi yüksektir. Öte yandan mekanik hamur üretim yöntemlerinde liflerde meydana gelen hasar dolayısıyla elde edilen kâğıtların mukavemet özellikleri düşük olmaktadır. Bunun dışında kimyasal hamur üretim yöntemlerinde ise odun

yongaları yüksek sıcaklık ve basınç altında çeşitli kimyasal maddeler ile muamele edilerek lignin delignifikasyonu sağlanmakta ve böylece yüksek kalitede lif elde edilerek üretilen kâğıtların mukavemet özellikleri yüksek olmaktadır. Kimyasal yöntemlerde ise en büyük dezavantaj kimyasal madde kullanımına bağlı olarak meydana gelen çevresel problemlerdir (Jianming ve ark. 2021).

Genel olarak kâğıt hamuru üretiminde üreticiler tarafından yüksek lif kalitesi, yüksek verim, düşük enerji ve kimyasal madde kullanımı arzu edilmektedir. Hamur veriminin minimal artması dahi kâğıt üreticileri tarafından her zaman arzu edilmekle birlikte üreticiler bu noktada alternatif hamur üretim yöntemlerini yakından takip etmektedirler. Günümüze kadar birçok hamur üretim yöntemi çeşitli araştırmacılar tarafından denenmiş olmakla birlikte bu modifikasyon yaklaşımlarının başında biyoteknolojik uygulamalar ile kâğıt hamuru üretim metotları gelmektedir (Copur ve Tozluoglu 2008, Fonseca ve ark. 2014).

Biyoteknolojik çalışmalar kimya ve biyoloji alanlarında; ziraat, çevre ve gıda mühendislikleri; tıp ve eczacılık gibi çeşitli sektörlerde kullanılmaktadır. Kâğıt endüstrisinde ise biyoteknolojik çalışmalar yeni olmakla birlikte yukarıda bahsedilen geleneksel hamur üretim metotlarının olumsuz etkilerini ortadan kaldırma potansiyelleri nedeniyle gerek araştırmacılar gerekse kâğıt üreticileri tarafından oldukça cazip hale gelmiştir. Kâğıt endüstrisinde biyoteknolojik araştırmalar ile kimyasal yöntemlerle lif üretimi öncesinde odun yongaları lignini degrade edici beyaz çürüklük mantarlarının etkisine maruz kalmakta ve böylelikle akabinde yapılacak pişirme öncesinde ligninin büyük bir kısmı yapıdan uzaklaştırılarak sonraki proseslerde daha düşük kimyasal madde ve enerji kullanarak lif üretimi mümkün olabilmektedir. Bahsedilen bu uygulamalar biyoliflendirme olarak adlandırılmakta olup, bu yönüyle çevre dostu kâğıt hamuru üretim uygulamaları olarak bilinmektedir (Calvo-Flores ve Martin-Martinez 2022).

Biyoteknoloji, kâğıt endüstrisinde kâğıt hamuru üretiminde kullanılabileceği gibi, ağartma atık lignoselülozik maddelerin muamelesi ve yan ürünlerin işlenmesi gibi alanlarda da başarıyla uygulanabilmektedir. Biyoteknolojik uygulamaların kâğıt endüstrisine sağlayacağı faydalar ile birlikte daha düşük kimyasal madde kullanımı, enerjiden tasarruf, yüksek verim ve yüksek kalitede lif üretimine bağlı olarak mukavemet

özellikleri artırılmış kâğıt ürünlerinin üretilmesi mümkündür (Tozluoglu 2007).

Literatür çalışmaları incelendiğinde (Akhtar ve ark. 1996, Young ve Akhtar 1998, Hatakka ve ark. 2000, İstek ve ark. 2005) biyolojik ön muamele işlemlerinin lignoselülozik hammadde kaynaklarının kimyasal yapısı üzerindeki etkileri genel olarak incelenmiş olmakla birlikte, bu çalışmada ilk kez beyaz çürüklük mantarlarından aktif delignifikasyon etkisine sahip *Phanerochaete chrysosporium*, *Pleurotus ostreatus* ve *Ceriporiopsis subvermispora* mantarları ile kâğıt üretiminde özellikle tercih edilen uzun lifli ağaç türlerinden biri olan karaçam odun yongaları farklı inkübasyon sürelerinde aşılacak suretiyle, hem farklı mantar muamelelerinin hem de farklı inkübasyon sürelerinin bir arada odunun kimyasal bileşimi üzerindeki etkisi özellikle lignin delignifikasyonu dikkate alınarak değerlendirilmiştir.

MATERYAL VE YÖNTEM

Materyal

Bu araştırmaya konu olan karaçam (*Pinus nigra* Arnold.) odunu Düzce ilinin Darıyeri bölgesinden temin edilmiştir. Tomruklar sahada kabukları uzaklaştırıldıktan sonra eşit parçalara bölünerek Divapan Entegre Ağaç Panel San. Tic. A. Ş.'ye getirilmiş ve buradaki yongalama ünitesinde öz-diri odun ayrımı yapılmaksızın yongalama işlemi gerçekleştirilmiştir. Sonrasında yongalar laboratuvara getirilerek elenmiş ve böylece homojen yonga boyutları(1-3 cm uzunluk ve 3-6 mm kalınlık) sağlanarak elde edilen yongalar paketlenmiştir.

Ormancılık Araştırma Merkezinden (Wisconsin, USA) mantar muamelesi için temin edilen *Phanerochaete chrysosporium* BKM-F-1767, *Pleurotus ostreatus* IBUG-8, *Ceriporiopsis subvermispora* (Pilat) Gilb. & Ryvarden FP-90031-sp mantarlarının çalışmamız için yeterli miktara artırılması aşağıdaki şekilde gerçekleştirilmiştir.

40 gr patates dekstrozu-PDA+960 ml destile su kullanılarak hazırlanan besi ortamı otoklav içerisinde 121 °C'de 15 psi'lik basınçta, 20 dakika süreyle sterilize edilmiştir. Ardından petri kapları 200 °C'de 2 saat sterilize edilmiş ve bu kaplara hazırlanan besi ortamı yüksekliği 3-5 mm geçmeyecek şekilde aktararak belli bir süre soğumaya bırakılmıştır. Sonrasında içinde besi ortamı bulunan petri kaplarına mantar ekimi (inokulasyon) yapılmıştır. Mantar aşılmasının ardından petri kapları

27±2 °C sıcaklık ve %65±5 nisbi nem içeren inkübatörde 10 gün boyunca bekletilmiştir. Petri kaplarında yeteri kadar mantar gelişmesi gözlemlendiğinde petri kapları

Yöntem

P. chrysosporium, *P. ostreatus* ve *C. subvermispora* ile 12 paket yonga örnekleri optimum inkübasyon süresinin (OİS) belirlenmesi amacıyla 2, 4, 6 ve 8 haftalık süreyle işleme tabi tutulmuş (Blanchette ve ark. 1991) ve her iki hafta sonunda odun yongalarının kimyasal analizleri gerçekleştirilmiştir.

Mantar aşılamaı öncesinde odun yongaları mantar muamelesinin etkisini artırmak amacıyla %65 nem içeriğine sahip oluncaya kadar suda bekletilmiş ve ayrıca %0.5 CSL (mısır nişastası çözeltisi) ile muamele edilmiştir. Odun yongaları 121 °C'de 15 psi'lık basınçta, 20 dakika süreyle kontaminasyonun önlenmesi amacıyla otoklavlanmıştır. Sonrasında odun yongaları laminar hava kabini (flow bench) içerisine alınmış ve %0.0005 konsantrasyonda (5 g mantar/ton odun) olacak şekilde aşılama işlemi gerçekleştirilmiştir.

Mantar ile aşılama yongalar büyük cam şişeler içerisine yerleştirilmiş ve cam şişelerin ağzı hava girişini sağlamak amacıyla gazlı bezle kapatılmıştır. Inkübasyon süresince mantar muamelesinin etkinliğini artırmak adına optimal koşulların sağlandığı 27±2 °C sıcaklık ve %65±5 nisbi neme sahip bir odada yongalar biyolojik ön muameleye tabi tutulmuşlardır.

Inkübasyon süresi sonunda odun yongaları üzerindeki mantar miselleri elle temizlenmiş ve sonrasında yonga kütlesinin yaş haldeki ağırlığı tespit edilerek ve yongalar büyük bir poşet içerisinde 10 dakika karıştırılarak homojen rutubet dağılımı sağlanmaya çalışılmıştır. Farklı inkübasyon sürelerinde meydana gelen ağırlık kaybı aşağıdaki formülle hesaplanarak belirlenmiştir (Yalınkılıç 1987).

$$W1 = \frac{(Wi - Wf) \times 100}{Wi}$$

W1= Ağırlık kaybı (%)

Wi= İlk ağırlık (fırın kuru, gr)

Wf= Mantar muamelesi sonrası ağırlık (fırın kuru, gr).

odun yongaları ile muamele edileceği süreye kadar buzdolabında +4 °C'de saklanmıştır.

Ayrıca denemelerde mantar muamelesinin etkisini net bir şekilde ortaya koyabilmek amacıyla bir adet yonga paketi mantar ile aşılama yapılmamış ve kontrol numunesi olarak değerlendirilmiştir. OİS'nin belirlenmesinde holoselüloz/lignin oranı baz alınmıştır. Kimyasal analizlerin gerçekleştirilmesinde kontrol örneği ve mantar muameleli karaçam yonga örnekleri hava kurusu hale getirildikten sonra, Tappi T 11 M-45 standart yöntemine göre laboratuvar tipi bir Wiley değirmeninde öğütülmüş ve 40 meshin altına geçen örneklerde kuru madde (Tappi T 11 M-45), holoselüloz (Wise 1952) ve lignin (Tappi T 222 om-02) miktarları tayini gerçekleştirilmiş, alkol-benzen (Tappi T 204 cm-97) ve % 1NaOH (Tappi T 212 om-98) çözünürlük oranları belirlenmiştir.

BULGULAR VE TARTIŞMA

Biyolojik Degradasyon İle Meydana Gelen Ağırlık Kaybı ve Kimyasal Değişim

Karaçam yongaları farklı inkübasyon sürelerinde *P. chrysosporium*, *P. ostreatus* ve *C. subvermispora* mantarlarıyla biyolojik degradasyona maruz bırakıldığında ortaya çıkan ağırlık kaybı ve kimyasal içeriklerindeki değişimler Çizelge 1'de verilmiştir.

Karaçam yongaları *P. chrysosporium*, *P. ostreatus* ve *C. subvermispora* mantarları ile muamele edildikten sonra inkübasyon süresine göre yüzde ağırlık kayıpları Şekil 1'de verilmiştir. Mantar muamelesi ile besince zengin paraşima hücreleri degrade olurken (Villalba 2003), mantar miselleri hücre çeperi bileşenlerini metabolize veya modifiye ederek ağırlık kayıplarına sebep olmaktadır (Highley ve Murmanis 1987).

Mevcut çalışmada 2, 4, 6 ve 8 haftalık mantar muamelesi sonucunda *P. chrysosporium* için sırasıyla %1.30, %6.80, %7.20 ve %7.40; *P. ostreatus* için sırasıyla %2.20, %7.20, %7.90 ve %8.00 ve *C. subvermispora* için sırasıyla %3.10, %7.90, %8.20 ve %8.30 ağırlık kaybı belirlenmiştir. Inkübasyon süresi ile ağırlık kayıplarının doğru orantılı ilerlediği ve inkübasyon süresi arttıkça ağırlık kayıplarında azalan bir artış olduğu görülmüştür. Tüm mantar türlerinde de en hızlı ağırlık kaybı sonuçları 4. haftada tespit edilmiştir (Şekil 1). Mantar türleri içerisinde ise en yüksek ağırlık kayıpları *C. subvermispora* ile elde edilmiştir (Çizelge 1, Şekil 1).

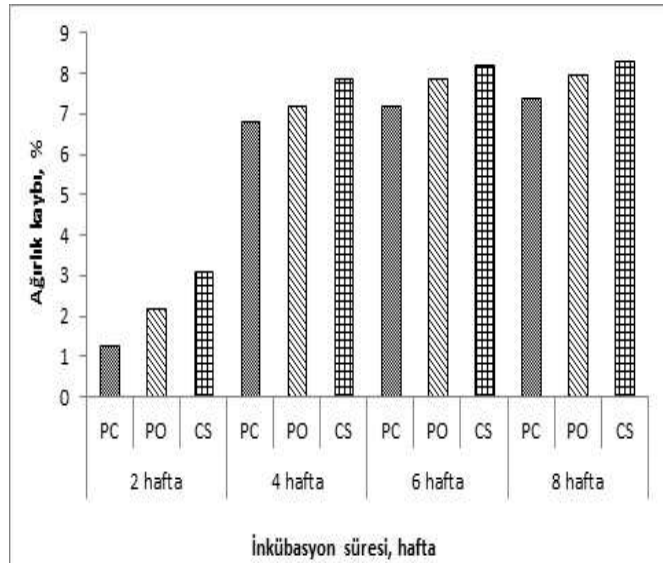
Farklı inkübasyon sürelerine bağlı olarak karaçam yongalarında meydana gelen ağırlık kayıpları literatür ile uyumludur. Akhtar ve ark. (1992) tarafından yapılan çalışmada, 2 ve 8 hafta *C. subvermispora* ile muamele edilen *Pinus taeda* yongaları için sırasıyla %2 ve %9'luk ağırlık kaybı olduğu belirlenmiştir. Benzer çalışmalarda, 4 haftalık mantar uygulaması sonucu *P. taeda* yongalarında Villalba (2003) %5.9, Mendonça ve ark. (2002) ise %3 ağırlık kaybı belirlemişlerdir.

Karaçam yongaları farklı inkübasyon sürelerinde *P. chrysosporium*, *P. ostreatus* ve *C. subvermispora* mantarlarıyla biyolojik degradasyona maruz bırakıldığında lignin miktarlarında meydana gelen değişimler Çizelge 1'de verilmiştir. Karaçam yongaları *P. chrysosporium*, *P. ostreatus* ve *C. subvermispora* mantarları ile muamele edildikten sonra inkübasyon süresine göre lignin miktarları Şekil 2'de verilmiştir. Lignin, yapısı gereği kompleks bir polimer olup, hidrolizi kolay olmadığı için degradasyonu da tam olarak açıklanamamaktadır (Hammel 1996).

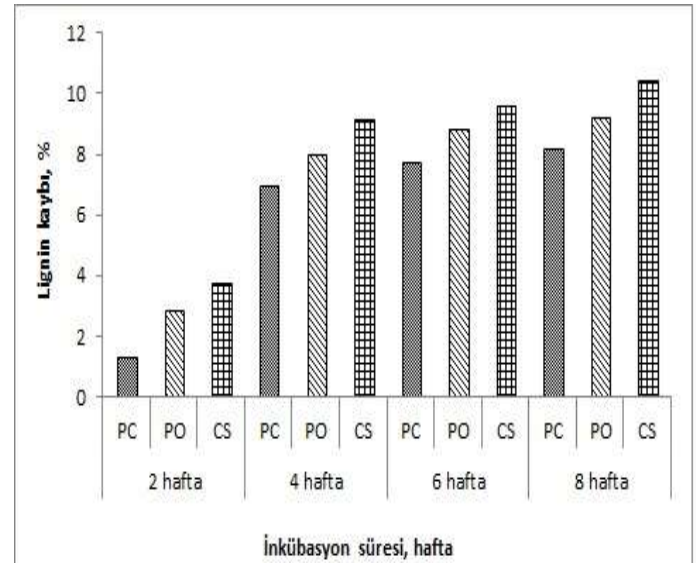
Çizelge 1. Odunda kimyasal içerik ve ağırlık kayıplarında meydana gelen değişimlerde farklı inkübasyon sürelerinin etkileri

Hammadde *	Kontrol	İnkübasyon süresi (haftta)											
		2 hafta			4 hafta			6 hafta			8 hafta		
		<i>P. chrysosporium</i>	<i>P. ostreatus</i>	<i>C. subvermispora</i>	<i>P. chrysosporium</i>	<i>P. ostreatus</i>	<i>C. subvermispora</i>	<i>P. chrysosporium</i>	<i>P. ostreatus</i>	<i>C. subvermispora</i>	<i>P. chrysosporium</i>	<i>P. ostreatus</i>	<i>C. subvermispora</i>
Ağırlık kaybı %	-	1.30 (0.01)	2.20 (0.03)	3.10 (0.03)	6.80 (0.01)	7.20 (0.07)	7.90 (0.06)	7.20 (0.02)	7.90 (0.03)	8.20 (0.01)	7.40 (0.01)	8.00 (0.09)	8.30 (0.01)
Lignin %	29.6 (0.47)	29.6 (2.10)	29.4 (0.43)	29.4 (0.78)	29.6 (2.05)	29.3 (1.26)	29.2 (1.17)	29.4 (0.05)	29.3 (0.54)	29.1 (0.01)	29.3 (1.11)	29.2 (1.19)	28.9 (0.97)
Holoselüloz %	71.5 (0.65)	72.6 (0.41)	73.2 (0.65)	73.8 (1.24)	78.2 (2.01)	79.0 (1.65)	79.9 (0.87)	78.6 (2.18)	79.9 (0.71)	80.7 (1.14)	79.0 (0.78)	80.1 (0.21)	81.0 (2.17)
Ekstraktif madde %	7.22 (1.22)	5.16 (0.46)	5.10 (0.22)	5.07 (0.14)	5.01 (0.77)	5.01 (0.01)	4.85 (0.09)	4.69 (0.09)	4.61 (0.11)	4.58 (0.18)	4.65 (0.81)	4.54 (0.03)	4.51 (0.04)
%1 NaOH	10.8	13.8	13.8	13.6	16.6	16.6	16.5	17.8	17.7	17.8	18.5	18.2	18.0
Çözünürlüğü %	(1.03)	(1.19)	(1.09)	(0.99)	(0.11)	(0.14)	(0.56)	(1.22)	(1.10)	(0.99)	(0.04)	(0.04)	(0.05)

* Kimyasal değişim ve ağırlık kaybı sonuçları iki tekrarlı olarak gerçekleştirilmiş ve sonuçlar ortalama olarak verilmiştir (Parantez içindeki veriler standart sapma değerlerini göstermektedir).



Şekil 1. Karaçam yongalarının farklı inkübasyon sürelerinde *P. chrysosporium*, *P. ostreatus* ve *C. subvermispora* ile muamele edilmesi sonucu ortaya çıkan ağırlık kayıpları (PC: *P. chrysosporium*, PO: *P. ostreatus* ve CS: *C. subvermispora*)



Şekil 2. Karaçam yongalarının farklı inkübasyon sürelerinde *P. chrysosporium*, *P. ostreatus* ve *C. subvermispora* ile muamele edilmesi sonucu tespit edilen lignin kayıpları (PC: *P. chrysosporium*, PO: *P. ostreatus* ve CS: *C. subvermispora*)

Sonuçlar incelendiğinde, inkübasyon süresi arttıkça lignin miktarlarının azaldığı görülmektedir. Mevcut çalışmada 2, 4, 6 ve 8 haftalık mantar muamelesi sonucunda lignin kayıpları *P. chrysosporium* için sırasıyla %1.30, %6.96, %7.76 ve %8.21; *P. ostreatus* için sırasıyla %2.86, %8.02, %8.83 ve %9.21 ve *C. subvermispora* için sırasıyla %3.75, %9.14, %9.63 ve %10.4'tür.

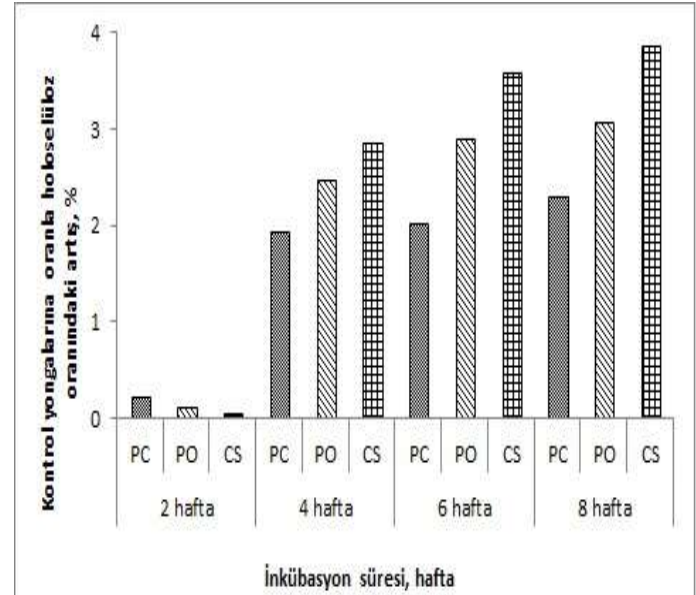
Tüm mantar türlerinde de en hızlı lignin kaybı 4. haftanın sonunda gözlemlenmiştir. Mantar türleri içerisinde ise en yüksek lignin kayıpları *C. subvermispora* ile elde edilmiştir.

Literatürde rastlanılan bir çalışmada, 2, 4 ve 6 hafta *C. subvermispora* ile muamele edilen *P. taeda* yongalarında meydana gelen lignin kayıplarının sırasıyla %4.66, %6.77 ve %10.6 olduğu belirtilmiştir (Villalba ve ark. 2000). Benzer başka bir çalışmada ise lignin kayıplarının 2, 4 ve 8 haftalık inkübasyon sürelerinde sırasıyla %9.6, %10.7 ve %16.6 olduğu ifade edilmiştir (Mendonça ve ark. 2002). Dahası, 2 haftalık inkübasyon süresinde çok fazla lignin degradasyonu gerçekleşmediği için lignin miktarındaki kayıp oranı oldukça düşüktür. Fakat bu süreçte odunun kimyasal yapısında meydana gelen değişim hamur özellikleri üzerinde etkilidir (Villalba 2003).

Karaçam yongaları farklı inkübasyon sürelerinde *P. chrysosporium*, *P. ostreatus* ve *C. subvermispora* mantarlarıyla biyolojik degradasyona maruz bırakıldığında holoselüloz miktarlarındaki değişimler Çizelge 1'de verilmiştir. Karaçam yongaları *P. chrysosporium*, *P. ostreatus* ve *C. subvermispora* mantarları ile muamele edildikten sonra inkübasyon süresine göre holoselüloz miktarları Şekil 3'te verilmiştir. Odunun yapısında bulunan düşük molekül ağırlıklı karbonhidratların mantar muamelesi sonucu degrade olduğu ve holoselüloz miktarının düştüğü belirtilmiştir (Eriksson ve Kirk 1985). Buna bağlı olarak inkübasyon süresi ile doğru orantılı bir şekilde holoselüloz miktarı azalır. Diğer yandan, kontrol yongaları esas alındığında mantar muamelesi ile örneklerin lignin miktarlarındaki yüksek oransal azalmaya bağlı olarak odundaki holoselüloz oranı artış göstermektedir. Yani 2, 4, 6 ve 8 haftalık mantar muamelesi sonucunda örneklerin holoselüloz oranında *P. chrysosporium* için sırasıyla %0.22, %1.95, %2.02 ve %2.31; *P. ostreatus* için sırasıyla %0.13, %2.47, %2.91 ve %3.08 ve *C. subvermispora* için sırasıyla %0.06, %2.86, %3.59 ve %3.87 oranında kontrol yongalarına kıyasla artış tespit edilmiştir. Tüm mantar türlerinde de holoselüloz oranındaki en hızlı artışın

2. haftadan sonra gerçekleştiği görülmüştür. Inkübasyon süresi arttıkça bu artış azalan bir ivmeyle 8. haftaya kadar devam etmiştir. Mantar türleri içerisinde ise holoselüloz oranındaki en yüksek artışlar *C. subvermispora* ile elde edilmiştir.

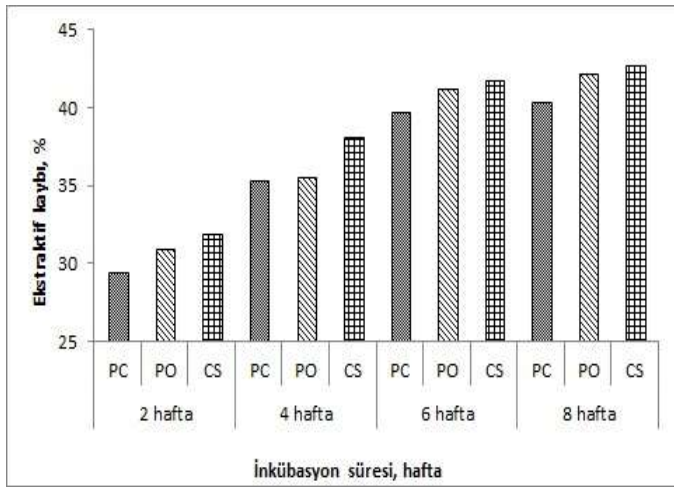
Sonuçlar incelendiğinde, holoselüloz oranlarında görülen artışlar literatür ile uyumludur. Bajpai ve ark. (2001) tarafından yapılan çalışmada, *Eucalyptus teretecornis* yongaları 2 hafta *C. subvermispora* mantarı ile muamele edildiğinde holoselüloz oranının %1.75'lik artış gösterdiği belirtilmiştir. Başka bir çalışmada ise, 85 günlük inkübasyon sürecinde *C. subvermispora* mantar muamelesinin *Pinus radiata* kütüklerinde holoselüloz miktarını %3.41 oranında artırdığı tespit edilmiştir (Molina ve ark. 2002).



Şekil 3. Karaçam yongalarının farklı inkübasyon sürelerinde *P. chrysosporium*, *P. ostreatus* ve *C. subvermispora* ile muamele edilmesi sonucu ortaya çıkan holoselüloz oranındaki değişim. (PC: *P. chrysosporium*, PO: *P. ostreatus* ve CS: *C. subvermispora*)

Karaçam yongaları farklı inkübasyon sürelerinde *P. chrysosporium*, *P. ostreatus* ve *C. subvermispora* mantarlarıyla biyolojik degradasyona maruz bırakıldığında alkol benzen ekstraksiyonu sonucu ekstraktif madde miktarlarındaki değişimler Çizelge 1'de verilmiştir. Karaçam yongaları *P. chrysosporium*, *P. ostreatus* ve *C. subvermispora* mantarları ile muamele edildikten sonra inkübasyon süresine göre alkol benzen ekstraksiyonu sonucu ekstraktif madde miktarlarındaki kayıplar yüzdesel olarak Şekil 4'te verilmiştir. Burada 2, 4, 6 ve 8 haftalık mantar muamelesi sonucunda ekstraktif madde miktarlarındaki kayıp *P. chrysosporium* için

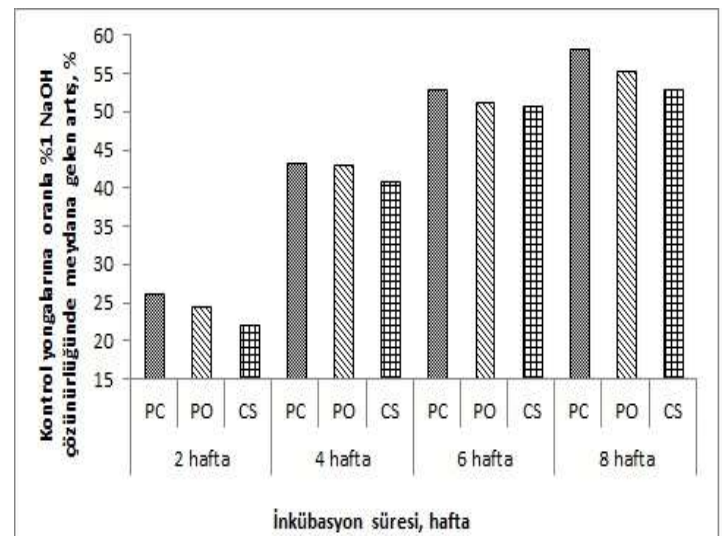
sırasıyla %29.5, %35.3, %39.7 ve %40.4; *P. ostreatus* için sırasıyla %30.9, %35.6, %41.2 ve %42.1 ve *C. subvermispora* için %32.0, %38.1, %41.8 ve %42.7'dir. Tüm mantar türlerinde de ekstraktif madde kaybındaki en hızlı artış 2 haftalık inkübasyon sürecinde gerçekleşmiştir. İnkübasyon süresi arttıkça bu artış azalan bir ivmeyle 8. haftaya kadar devam etmiştir. Bu azalmanın sebebi ise mantarın ekstraktif maddeleri besin kaynağı olarak görmesi ile ilişkilendirilmiştir (Villalba ve ark. 2000). Mantar türleri içerisinde ise en yüksek ekstraktif kayıpları *C. subvermispora* ile muamele edilen örnekte elde edilmiştir.



Şekil 4. Karaçam yongalarının farklı inkübasyon sürelerinde *P. chrysosporium*, *P. ostreatus* ve *C. subvermispora* ile muamele edilmesi sonucu ortaya çıkan ekstraktif madde miktarındaki değişim. (PC: *P. chrysosporium*, PO: *P. ostreatus* ve CS: *C. subvermispora*)

Sonuçlar incelendiğinde, ekstraktif madde miktarlarında meydana gelen değişimleri literatür ile uyumludur. Yapılan bir çalışmada, 2, 4 ve 6 hafta *C. subvermispora* ile muamele edilen *P. taeda* yongalarında aseton ile yapılan ekstraksiyon işlemi sonrasında elde edilen ekstraktif madde miktarlarında sırasıyla %38.8, %40.9 ve %42.0 oranlarında azalma olduğu belirtilmiştir (Villalba ve ark. 2000). Benzer başka bir çalışmada ise, *P. taeda* yongalarının *C. subvermispora* ve *O. piliferum* (ticari ekstraktif madde indirgeyici) mantarları ile muamele edildiğinde ekstraktif madde miktarlarının azaldığı tespit edilmiştir. Çalışmada, ekstraktif madde miktarları 2 haftalık inkübasyon süresinde %18-27, 4 haftalık inkübasyon süresinde ise %33-35 oranında azalmıştır (Fischer ve ark. 1994). Bu sonuçlara göre *C. subvermispora*'nın odundaki ekstraktifleri degrade edebilme kabiliyetinin olduğu görülmektedir.

Karaçam yongaları farklı inkübasyon sürelerinde *P. chrysosporium*, *P. ostreatus* ve *C. subvermispora* mantarlarıyla biyolojik degradasyona maruz bırakıldığında %1 NaOH (sıcak alkali) çözünürlükleri Çizelge 1'de verilmiştir. Karaçam yongaları *P. chrysosporium*, *P. ostreatus* ve *C. subvermispora* mantarları ile muamele edildikten sonra inkübasyon süresine göre sıcak alkali çözünürlüğündeki artışlar Şekil 5'te verilmiştir. Sıcak alkali çözeltiler degrade olmuş selüloz ve hemiselüloz gibi düşük moleküler ağırlıktaki karbonhidratları ekstrakte edebilmekte ve böylece mantar muamelesine bağlı olarak alkali çözünürlüğü artmaktadır (Villalba ve ark. 2000). Odun yapısında lignin ve lignin ile komşu hemiselülozlar arasında sıkı bir bağ vardır. Mantar muamelesi ligninin yanında bazı hemiselülozları da degrade edebilmektedir. Buna bağlı olarak serbest kalan karbonhidratlar sıcak alkali ile ekstrakte edilir ve sıcak alkali çözünürlüğü artar. Mevcut çalışmada 2, 4, 6 ve 8 haftalık mantar muamelesi sonucunda kontrol yongalarına kıyasla sıcak alkali çözünürlüğündeki artış *P. chrysosporium* için sırasıyla %26.1, %43.3, %53.0 ve %58.4; *P. ostreatus* için sırasıyla %24.5, %43.0, %51.3 ve %55.4 ve *C. subvermispora* için sırasıyla %22.0, %40.9, 50.9 ve % 53.0'dır. Tüm mantar türlerinde de sıcak alkali çözünürlüğündeki en hızlı artış 4 haftalık inkübasyon sürecinde gerçekleşmiştir. İnkübasyon süresi arttıkça bu artış azalan bir ivmeyle devam etmiştir. Mantar türleri içerisinde ise sıcak alkali çözünürlük oranındaki en yüksek artışlar *P. chrysosporium* ile muamele edilmiş yonga örneklerinde elde edilmiştir.



Şekil 5. Karaçam yongalarının farklı inkübasyon sürelerinde *P. chrysosporium*, *P. ostreatus* ve *C. subvermispora* ile muamele edilmesi sonucu ortaya çıkan sıcak alkali çözünürlüğündeki değişim (PC: *P. chrysosporium*, PO: *P. ostreatus* ve CS: *C. subvermispora*)

Sonuçlar incelendiğinde sıcak alkali çözünürlüklerinin literatüre göre daha düşük olduğu görülmüştür. 2, 4 ve 6 hafta *C.subvermispora* ile muamele edilen *P. taeda* yongalarında kontrol yongalarına göre alkali çözünürlüklerinin sırasıyla %84.2, %78.3 ve %112.8 oranlarında arttığı belirtilmiştir (Villalba ve ark. 2000). Bu sonuç, mantar muamelesi sırasında karbonhidratların daha az bozunması ile açıklanabilir. Kahverengi çürüklük ve beyaz çürüklük mantarlarının alkali çözünürlüğü üzerindeki etkisinin incelendiği çalışmada ise, beyaz çürüklük mantarlarının alkali çözünürlüğünü maksimum bir noktaya getirdikten sonra düşürmeye başladığı gözlenmiştir. Aynı zamanda ağırlık kaybı ile alkali

çözünürlüğü arasında doğrusal bir ilişki olduğu belirtilmiştir (Campbell 1952).

Optimum inkübasyon Süresi (OİS)'nin Belirlenmesi

OİS belirlenirken holoselüloz/lignin oranı referans alınmıştır. Çizelge 2'de verilen kimyasal analiz sonuçları incelendiğinde, holoselüloz oranı artarken lignin oranının azaldığı görülmekte, buna bağlı olarak holoselüloz/lignin oranının arttığı görülmektedir. Bu oranın *P. chrysosporium* ile muamele edilmiş örnekler için 4 hafta; *P. ostreatus* ve *C. subvermispora* ile muamele edilmiş örnekler için ise 6 haftalık inkübasyon süresi sonunda optimum olduğu belirlenmiştir.

Çizelge 2. Karaçam yongaları için OİS'in belirlenmesinde referans alınan kimyasal analiz sonuçları

Kimyasal analiz sonuçları*	2 hafta			4 hafta			6 hafta			8 hafta		
	<i>P. chrysosporium</i>	<i>P. ostreatus</i>	<i>C. subvermispora</i>	<i>P. chrysosporium</i>	<i>P. ostreatus</i>	<i>C. subvermispora</i>	<i>P. chrysosporium</i>	<i>P. ostreatus</i>	<i>C. subvermispora</i>	<i>P. chrysosporium</i>	<i>P. ostreatus</i>	<i>C. subvermispora</i>
Holoselüloz oranındaki artış(%)	0.22	0.13	0.06	1.95	2.47	2.86	2.02	2.91	3.59	2.31	3.08	3.87
Lignindeki azalma (%)	1.30	2.86	3.75	6.96	8.02	9.14	7.76	8.83	9.63	8.21	9.21	10.4
Holoselüloz/Lignin oranı	0.17	0.04	0.02	0.28	0.31	0.31	0.26	0.33	0.37	0.28	0.33	0.37

* Kontrol örneğine oranla meydana gelen değişim

SONUÇ VE ÖNERİLER

Biyolojik degradasyona uğratılan karaçam yongalarında 8 haftalık mantar uygulamaları sonucunda ağırlık kayıplarının *P. chrysosporium* için %7.40; *P. ostreatus* için %8.00 ve *C. subvermispora* için %8.30 olduğu belirlenmiştir. Ağırlık kayıpları inkübasyon süresi ile doğru orantılı olarak ilerlemiş ve bu süreye bağlı olarak azalan bir artış görülmüştür. Tüm mantar türleri için en hızlı ağırlık kaybı ve lignin kaybının 4 haftalık inkübasyon süresinde gerçekleştiği belirlenmiştir. Tüm mantar türleri için holoselüloz oranındaki en hızlı artışın ve en hızlı ekstraktif madde kaybının 2 haftalık inkübasyon süresinde gerçekleştiği belirlenmiştir. Sıcak alkali çözünürlüğünün tüm mantar türleri için 4 haftalık inkübasyon süresine kadar hızla arttığı, daha sonra ise azalan ivmeyle devam ettiği belirlenmiştir. OİS belirlenirken inkübasyon süresince, holoselüloz/lignin oranı referans alınmıştır. Bu oranın *P. chrysosporium* için 4 hafta; *P. ostreatus* ve *C. subvermispora* için ise 6 haftalık inkübasyon süresi sonunda optimum olduğu belirlenmiştir. Beyaz çürüklük mantarıyla muamele edilen karaçam odun yongalarının kimyasal analiz sonuçları genel olarak

değerlendirildiğinde *C. subvermispora*'nın daha etkin sonuçlar ortaya koyduğu ve bu yongaların biyoliflendirme işlemi için daha optimal olduğu sonucuna varılmıştır.

Biyolojik degradasyon işleminin verimliliğinde inkübasyon süresi dışında, sıcaklık, rutubet, besi ortamı, sterilizasyon, havalandırma vb. birçok etken etkili olmakta olup, bu çalışma kapsamında uygulanan metodolojik çalışmanın diğer parametreler üzerinde yapılacak optimizasyon işlemleriyle daha da geliştirilebileceği düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

- Akhtar M, Attridge MC, Blanchette R, Myers R, Wall M, Sykes M, Koning JR, Burgess T, Wegner T, Kirk TK (1992) The white rot fungus *Ceriporiopsis subvermispora* saves electrical energy and improves strength properties during biomechanical pulping of wood in Biotechnology in the pulp and paper industry, 3-8. Kuwahara, M. Shimada, M., Eds., Tokyo: UNI Publishers Company, LTD.
- Akhtar M, Kirk TK, Blanchette R (1996) Biotechnology in the pulp and paper industry, recent advances in applied and fundamental research. Sixth International Conference, 187-192.
- Bajpai P, Bajpai PK, Akhtar M, Jauhari MB (2001) Biokraft pulping of eucalyptus with selected lignin-degrading fungi. Journal of Pulp and Paper Science, 27(7): 235-239.

- Blanchette RA, Leatham GF, Attridge MC, Akhtar M, Myers GC (1991) Biomechanical pulping with *C. Subvermispora*. U. S. Patent No. 5, 055, 159.
- Calvo-Flores FG, Martin-Martinez FJ (2022) Biorefineries: achievements and challenges for a bio-based economy. Front. Chem, 10: 973417.
- Campbell WG (1952) The biological decomposition of wood. In: Wood Chemistry, Ed. Wise and EC. Jahn, 2nd Edn, Reinhold Publisher Corp., NY.
- Copur Y, Tozluoglu A (2008) A comparison of kraft, PS, kraft-AQ and kraft-NaBH₄ pulps of Brutia pine. Bioresource Technology, 99(5): 909-913.
- Eriksson EK, Kirk TK (1985) Biopulping, biobleaching and treatment of kraft bleaching effluents with white-rot fungi. In: The Principles of Biotechnology; Engineering Considerations. In: Comprehensive Biotechnology: The Principles, Applications and Regulations of Biotechnology in Industry, Agriculture and Medicine, Pergamon Pres, New York, pp 271-294.
- Fischer K, Akhtar M, Blanchette R, Burgess T, Messner K, Kirk K (1994) Reduction of resin content in wood chips during experimental biological pulping processes. Holzforschung, 48: 285-290.
- Fonseca MI, Farina JJ, Castrillo ML, Rodriguez MD, Nunez CE, Villalba LL (2014) Biopulping of wood chips with *Phlebia brevispora* BAFC 633 reduces lignin content and improves pulp quality. International Biodeterioration & Biodegradation, 90: 29-35.
- Hammel K (1996) In driven by nature: plant litter quality and decomposition. 3- 6. Gadisch G and Giller G Eds. CAB International.
- Hatakka A, Mettala A, Maijala P, Ellmen J (2000) Evaluation of fungi for bio-kraft pulping of softwood. 2000 Tappi Pulping/Process & Product Quality Conference, Nov. 5-8, Boston, MA.
- Highley TL, Murmanis LL (1987) Micromorphology of degradation in western hemlock and sweetgum by the white-rot fungus *Coriolus versicolor*. Hozforschung, 41: 67-71.
- Jianming L, Shuaiming H, Lihuan M, Shasha G, Pengcheng L, Xi Z, Jun L, (2021) Mass-production of high-yield and high-strength thermomechanical pulp fibers from plant residues enabled by ozone pretreatment. J. Clean. Prod., 296: 126575.
- İstek A, Sivrikaya H, Eroğlu H, Gülsoy SK (2005) Biodegradation of *Abies bornmülleriana* (Mattf.) and *Fagus orientalis* (L.) by the white rot fungus *Phanerochaete chrysosporium*. International Biodeterioration & Biodegradation, 55(1): 63-67.
- Mendonça R, Guerra A, Ferraz A (2002) Delignification of *Pinus taeda* wood chips treated with *C. subvermispora* for preparing high-yield kraft pulps. J. Chem. Tech. Biotechnology, 77: 411-418.
- Molina JG, Allison B, Valenzuela C (2002) Characteristics and results of radiata pine kraft bleached biopulp. Iberoamerican Congress on Pulp and Paper Research.
- Tappi T 11 M-45 (1992) Sampling and preparing wood for analysis. TAPPI Test Methods. Atlanta (GA): TAPPI Press.
- Tappi T 222 om-02 (2002) Acid-insoluble lignin in wood and pulp. TAPPI Test Methods. Atlanta (GA): TAPPI Press.
- Tappi T 204 cm-97 (1997) Solvent extractives of wood and pulp. TAPPI Test Methods. Atlanta (GA): TAPPI Press.
- Tappi T 212 om-98 (1998) One percent sodium hydroxide solubility of wood and wood pulp. TAPPI Test Methods. Atlanta (GA): TAPPI Press.
- Tozluoglu A (2007) Kraft, biyo-kraft, biyo-kraft-AQ, biyo-polisülfür ve biyo-kraft-sodyum borhidrür metotları ile kızılçamdan (*Pinus brutia* Ten.) kâğıt hamuru üretimi üzerine bir araştırma. Bolu İzzet Baysal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Orman Endüstrisi Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Bolu.
- Villalba LL (2003) Biological modification of loblolly pine chips with *Ceriporiopsis subvermispora* prior to kraft pulping, State University College of Environmental Science and Forestry Doctorate Thesis, New York.
- Villalba L, Scott GM, Schroeder LR (2000) An update on biokraft pulping. ESPRA Research Report, 113: 21-28.
- Wise LE (1952) Wood chemistry. Reinhold Publishing Corporation, Vol.: 1-2, New York.
- Yalınkılıç MK (1987) *Pleurotus ostreatus* Jacq. mantarının bazı kâğıtlık maddelerde yaptığı biyolojik degradasyon. Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi, Trabzon.
- Young RA, Akhtar M (1998) Environmentally friendly technologies for the pulp and paper industry. John Wiley & Sons. Inc., New York, pp 577.