

DİŞBUDAK (*Fraxinus Angustifolia Wall.*)
ODUNLARINDA DİKİM ARALIĞININ
BİYOLİFLENDİRME ve KAĞIT HAMURU
ÜRETİMİ ÜZERİNE ETKİSİ

Salih AKSOY

MAYIS 2010

DİŞBUDAK (*Fraxinus Angustifolia Wall.*)
ODUNLARINDA DİKİM ARALIĞININ
BİYOLİFLENDİRME ve KAĞIT HAMURU
ÜRETİMİ ÜZERİNE ETKİSİ

Salih AKSOY

DÜZCE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
ORMAN ENDÜSTRİ MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALINDA
YÜKSEK LİSANS DERECESESİ İÇİN GEREKLİ ÇALIŞMALARI
YERİNE GETİREREK
ONAYA SUNULAN TEZ

MAYIS 2010

Fen Bilimleri Enstitüsü'nün Onayı

Prof. Dr. Refik KARAGÜL

Enstitü Müdürü

Bu tezin Yüksek Lisans Derecesinde bir tez olarak gerekli çalışmaları yerine getirdiğini onaylarım.

Doç. Dr. Yalçın ÇÖPÜR

Orman Endüstri Mühendisliği

Anabilim Dalı Başkanı

Bu tezin Yüksek Lisans Derecesinde bir tez olarak onaylanması, düşüncemize göre, amaç ve kalite olarak tamamen uygundur.

Doç. Dr. Yalçın ÇÖPÜR

Tez Danışmanı

Jüri Üyeleri

1- Doç. Dr. Yalçın ÇÖPÜR

.....

2- Doç. Dr. Ahmet TUTUŞ

.....

3- Doç. Dr. Mehmet AKGÜL

.....

ÖZET

DİKİM ARALIĞININ BİYOLİFLENDİRME ve KAĞIT HAMURU ÜRETİMİ ÜZERİNE ETKİSİ

Aksoy SALİH

Yüksek Lisans, Orman Endüstri Mühendisliği Bölümü

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Yalçın ÇÖPÜR

Mayıs 2010, 75 sayfa

Biyoteknolojinin son dönemlerde özellikle mekanik kağıt hamuru üretimi olmak üzere kullanım alanı bulduğu endüstrilerden birisi de kağıt endüstrisidir. Biyoteknolojinin kağıt hamuru üretimi endüstrisinde kullanılmasında, beyaz çürüklük yapan bir grup mantarların; diğer çürüklük mantarlarının aksine, hücre çeperi bileşenlerinden lignini degrade edebilme yeteneğinden yararlanılmaktadır. Biyolojik kağıt hamuru üretimi (biyoliflendirme-biopulping) alternatif modifiye bir yöntem olup bu yöntemde odunda bulunan ligninin bir kısmı beyaz çürüklük mantarlarının biyolojik degradasyonu ile doğal yoldan çözünmektedir.

Bu çalışmada farklı dikim aralıklarına sahip dişbudak plantasyonu ormanından kesilen dişbudak odunları kullanılmıştır. Örnekler 4 farklı bölgeden ve bir de doğal olarak yetişmiş ortamdan olmak üzere toplam 5 farklı bölgeden alınmıştır (1. bölge (4x4m), 2. bölge (3x2m), 3. bölge (3.75x3.75m), 4. bölge (3x2.5m). Bu çalışmayla farklı dikim aralıklarına bağlı olarak odunda meydana gelen yoğunluk, sertlik gibi bazı değişikliklerin ağacın kimyasal yapısı üzerindeki etkisine, mantar muamelesine karşı verdiği dirence ve kağıt hamuru üretimi üzerindeki etkiler araştırmaya çalışılmıştır.

Anahtar Sözcükler: Biyoliflendirme, kraft, dikim aralığı.

İÇİNDEKİLER DİZİNİ

1. GİRİŞ	1
2. LİTERATÜR ÖZETLERİ	6
2.1. Biyolojik Degradasyon (Biodegradation) ve Odun Mikrobiyolojisindeki Terminoloji.....	6
2.2. Biyodegradasyonla Lignoselülozik Maddelerde Oluşturulan Çürüklükler	9
2.3. Odun Hücre Çeperinin Mantar Tarafından Modifikasyonunun Örneklenmesi.....	13
2.4. Beyaz Çürüklüğün Mikroskopik Yönü	14
2.5. Beyaz Çürüklük Mantarlarının Odun Bileşenleri Üzerine Etkileri.....	17
2.5.1. Ligninin Biyolojik Degradasyonu	17
2.5.2. Selülozun Biyolojik Degradasyonu	23
2.5.3. Hemiselülozların Biyolojik Degradasyonu	25
2.5.4. Ekstraktif Maddeler Üzerindeki Etkisi	26
2.6. Biyoliflendirme İşleminin Verimliliğini Etkileyen Faktörler	28
2.6.1. Mantar Türü	28
2.6.2. Rutubet ve Sıcaklık.....	29
2.6.3. İnkübasyon Süresi.....	30
2.6.4. Odun Yongalarının Sterilizasyonu.....	30
2.6.5. İnokulum (Aşılama).....	32
2.6.6. Besin İlavesi	34
2.6.7. Havalandırma.....	34
2.6.8. Odun Türü.....	35
2.6.9. Yaşlandırılmış Odun (wood aging) Kullanımı.....	36
2.6.10. Yonga Boyutları.....	36
2.6.11. Odun Yongalarının Hareketi.....	36
2.7. Mantarların Uygulama Yöntemleri	37
2.8. Hamur Üretim Yöntemleri Üzerindeki Araştırmalar	37
2.8.1. Biyomekanik Hamur Üretimi	37
2.8.2. Biyosülfite Hamur Üretimi	39
2.8.3. Biyokraft Hamur Üretimi.....	40
2.9. Pişirme Yöntemleri.....	41
2.9.1. Kraft Hamur Üretimi	41
2.9.2. Polisülfite Pişirmesi.....	42
2.10. Plantasyon Yöntemleri Üzerindeki Araştırmalar.....	50
3. MATERYAL VE METOD.....	51
4. BULGULAR ve TARTIŞMA.....	56
4.1. Kullanılan Odun Hammaddesine Bağlı Özellikler	56
4.2. Biyolojik Degradasyon Sonucunda Ağırlık Kaybı ve Kimyasal Değişim	56
4.3. Optimal İnkübasyon Süresi (OİS)'nin Belirlenmesine İlişkin Bulgular.....	63
4.4. Kağıt Hamuru Elde Edilmesiyle İlgili Bulgular	64
4.5. Üretilen Kağıtların Fiziksel Özellikleri	64
5. SONUÇ.....	68
KAYNAKLAR	69

1. GİRİŞ

Kağıt endüstrisi, temelde geleneksel yöntem ve tekniklere sahip olmakla birlikte, sürekli gelişmekte olup yöntemlerin değişikliğe uğratılması sonucunda daha kaliteli ürün eldesi amaçlanmaktadır. Geleneksel hamur üretim yöntemleri gelişen bilim ve teknolojiye bağlı olarak günümüze kadar bazı değişikliklere uğratılmıştır; ancak gerek makine ve iş akışı, gerekse kimyasal maddelerde yapılan hiçbir modifikasyon mevcut yöntemlerin temel prensiplerini bozacak nitelikte olmamıştır. Kağıt ve kağıt hamuru endüstrisi, mekanik, kimyasal veya bu metotların bileşimini kullanmaktadır. Hamur üretiminin yaklaşık olarak %25'i mekanik yöntemlerle elde edilmektedir. Mekanik hamur üretiminde hamur verimin yüksek olmasına karşılık, yüksek oranda elektrik enerjisi tüketmesi dezavantajdır. Mekanik hamurların kimyasal hamurlara nazaran daha düşük direnç özelliklerine sahip olması da mekanik yöntemin bir diğer dezavantajı olarak görülebilir.

Kimyasal yöntemlerde yaklaşım yüksek sıcaklık ve basınç altında, uygun kimyasal maddeler kullanılarak ligninin çözündürülmesi (delignifikasyon) ile odun liflerinin bireysel hale getirilmesidir. Kağıt hamuru üreticileri en az enerji ve kimyasal kullanarak mümkün olabilen en yüksek verimi ve lif kalitesini arzu etmektedirler. Üretimde daha düşük enerji ve kimyasal kullanımı karlılığı artıracak gibi kullanılan kimyasalların çevreye vermiş oldukları zararında en aza indirgenmesi her zaman arzu edilmektedir.

Hamur veriminin sadece %1 kadar artması durumunda daha yüksek karlılık sağlanması nedeniyle, kağıt hamuru üreticilerinin alternatif hamur üretim arayışları sürekli devam etmektedir. Bu doğrultuda günümüze kadar birçok pişirme metodu ve bu metotlarda modifikasyonlar geliştirilmiş olup halen daha bu çalışmalar devam etmektedir. Bu modifikasyon yaklaşımlarının başında biyoteknolojik uygulamaların

kağıt endüstrisinde değerlendirilme olanakları gelmekte olup bu alternatif modifiye yöntem üzerinde çalışmalar son zamanlarda hız kazanmıştır.

Biyoteknoloji günümüzde kimya, biyoloji, ziraat, çevre ve gıda mühendislikleri, tıp ve eczacılık gibi alanlarda başarıyla uygulanmaktadır. Bu bilim dallarında biyoteknolojinin kullanılması üzerine çalışmalar oldukça yoğun devam etmektedir. Kağıt endüstrisinde biyoteknolojinin kullanımı oldukça yeni olmasına karşın, bu endüstri kolunun ana sorunlarına iyileştirici yaklaşımı nedeniyle bu uygulama oldukça güncel bir duruma gelmiştir. Bu uygulamada amaç, odunda bulunan ligninin bir kısmını kimyasal pişirme öncesinde beyaz çürüklük mantarlarının biyolojik degradasyonu ile hammaddeden ayırma ve odun yongalarını yumuşatmaktır. Böylece yongalarda geri kalan ligninin uzaklaştırılması için daha az kimyasal madde ve enerji kullanılarak kağıt hamuru üretilmektedir. Bu işlem gerçekleştirilirken üretilen lif özelliklerinin artırılması ise bir diğer amaçtır. Son dönemlerde yapılan çalışmalar, biyoliflendirme konusuna dünyanın vermiş olduğu önemi göstermektedir. Buna karşılık ülkemizde bu konuda oldukça sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır.

Biyoteknoloji son yıllarda kağıt endüstrisinin ana sorunlarına yaklaşımı nedeniyle oldukça güncel bir duruma gelmiş olup, bu teknolojinin kağıt endüstrisinde uygulanabileceği başlıca alanlar kağıt hamuru üretimi ve ağartılması, atık lignoselülozik maddelerin muamelesi ve yan ürünlerin işlenmesi olarak görülebilir. Tüm bunların neticesinde biyoteknolojinin kağıt endüstrisinin ana sorunlarına yaklaşımı, biyoteknoloji destekli kağıt hamuru üretiminin endüstriyel ölçekte uygulama alanı bulması sonucunda enerji ve kimyasal tasarruf sağlanacağı, pişirmelerde verim artışına bağlı olarak seçiciliğin artırılması ile daha yüksek kağıt özelliklerine sahip lif üretiminin gerçekleştirileceği ümit edilmektedir. Bu amaçla

çalışmamızda beyaz çürüklük mantarlarından aktif delignifikasyon etkisine sahip *Ceriporiopsis subvermispora* mantarı ile doğal ortamda yetişmiş ve farklı dikim aralıklarına sahip dişbudak plantasyonlarından kesilen ağaçların yongaları aşılınmak suretiyle biyolojik ön uygulama gerçekleştirilmiştir.

Dikim aralıkları, yetiştirilecek ormanın kalite ve kitle üretimi ile tesis maliyetine etki yapan önemli bir konudur. Dikim aralıkları her şeyden önce ağaçların yetiştirme ortamından faydalanma derecesini belirler. Aralıklı yetişen ağaçlar, sık olanlardan daha hızlı büyümektedir. Sonuçta ağaçlar arası mesafe, yoğunluk, direnç özellikleri ve ağaç kalitesi üzerinde etkili olmaktadır.

Geniş aralıklı dikimde, halkalı traheli geniş yapraklı ağaçlarda yoğunluk maksimum olmakta, buna bağlı olarak da direnç özellikleri artmaktadır. İğne yapraklılarda aralıklı dikim ile yoğunluk azalmaktadır. Yıllık halkaların ilk yaşlarda geniş olması, genç odun oranını da artırmaktadır. Genç odun düşük yoğunlukta olduğundan, malzemede bulunuş oranına göre, yoğunluğun azalmasına neden olacaktır. Her ne kadar geniş aralıklı meşcerelerde, sık meşcerelere nazaran daha kısa sürede ticari büyüklükte ağaçlar elde edilirse de, hektarda yıllık lif üretim miktarı arzu edildiği kadar yüksek olmamaktadır. Çünkü böyle meşcerelerde ortalama hacim ağırlık değerinin daha düşük olduğu belirlenmiştir (Bozkurt ve Erdin, 1997). Geniş aralıklı yetiştirilen bir meşcerede, sık yetişenlere nazaran daha kalın dallar ve fazla sayıda budaklar bulunabilmektedir. Yani fazla ışık alan ağaçlarda doğal budama azalır ve dalların kalınlaşmasına neden olunabilir. Böylece geniş aralıklı büyümüş ağaçları kesip bölmeden çıkardıktan ve biçme işlemi uygulandıktan sonra, sık kapalılıkta yetişenlere göre daha az randıman elde olunmaktadır. Ayrıca, açıkta yetişmiş ağaçlarda konikleşme fazla olmaktadır. Buna karşılık sık meşcerelerde yetişenlerde çap düşüşü daha yavaş olup, gövdeler dolgundur. Silindirik

tomruklardan, konik olanlara nazaran daha fazla randıman elde olunmaktadır (Bozkurt ve Erdin, 1997).

Üretime yönelik ağaçlandırmalarda dikim aralıkları, üretim amacına göre değişmelidir. Kalitenin ön planda olduğu kaplamalık, doğramalık, kereste ve tel direği gibi üretim amaçlarında daha sık dikim aralıkları öngörülür. Bu durumda toprağa gelen ışık süratle azalır ve kapalılığa bağlı olarak boy büyümesi hızlanır. Gövde dolgunluğu artar, cılız, konik gövde oluşumu önlenmiş olur. Dal hacmi azalır. Ağaçlar tabii dal budanmasına erken yaşta girerler. Bu kullanım yerlerinden başka, selüloz ve kâğıt endüstrisi için istenilen kalite ve ağırlıktaki odun, seyrek dikim ve hızlı büyüme ile sağlanamaz. Çünkü selüloz verimi bakımından ağaçların hektardaki kg üretimi, m³ üretiminden daha büyük önem taşımaktadır. Ancak, kalitenin ikinci planda kaldığı birçok kullanım yeri için hızlı büyüyen türlerde daha geniş dikim aralıkları önerilmektedir. Ayrıca, türlere göre de dikim aralıklarında büyük farklılıklar söz konusu olmaktadır. Örneğin; çam, meşe ve kayın türleri gibi gençlikten itibaren dallı geniş tepeler oluşturan türler kaliteli odun üretimi için daha sık dikilmelidir. Ladin, göknar ve sedir türleri gibi doğal olarak dar tepe gelişimi gösteren türlerde dikim aralıkları daha geniş alınmalıdır. Kavak, okaliptüs, sahil çamı gibi hızlı büyüyen türler ise yine geniş aralıklı dikilmelidir (Bozkurt ve Erdin, 1997).

Sonuç olarak geniş aralıklı dikimlerde, fazla oranda genç odun, daha kalın ve çok sayıda budak ile konik gövdeler oluşmaktadır. Kerestelik ağaç yetiştirmede kalite söz konusu ise ilk 5-10 yıl yavaş büyüme sağlanması uygun olmakta, daha sonraki yıllarda ise artımı yükseltmek gerekmektedir (Bozkurt ve Erdin, 1997). Bu çalışmanın amacı; Adapazarı Süleymaniye Ormanının da yetişen Sivri Meyveli Dişbudak (*Fraxinus Angustifolia Wall.*) ağacının kâğıt hamuru özelliklerinin farklı plantasyonlarda nasıl değişiklik göstereceği ve bu değişikliklere nelerin sebep

olacağının araştırılmasıdır. Bu amaçla 4 farklı dikim aralıklarına sahip plantasyon örnekleri ile yine aynı bölgede doğal olarak yetişmiş dişbudak ağacı örnekleri kullanılmıştır. Plantasyondan alınan örneklerin dikim aralıkları; 1. bölgede (4x4m), 2. bölgede (3x2m), 3. bölgede (3,75x3,75m), 4. bölgede (3x2,5m) dir. Bu alışma ile Sivri Meyveli Dişbudak odununun hem kağıt hamuru özellikleri hem de biyoliflendirme özellikleri belirlenerek farklı yetişme şartları altında bu özelliklerinde meydana gelen değişim tespit edilmiştir. Sivri Meyveli Dişbudak odununun bu özelliklerinin bilinmesi literatüre katkıda bulunarak yapılacak olan çalışmalara da ışık tutacaktır.

2. LİTERATÜR ÖZETLERİ

Yapılan çalışma ile ilgili literatür özetleri konularına göre gruplandırılarak aşağıda alt başlıklar halinde verilmiştir.

2.1. Biyolojik Degradasyon (Biodegradation) ve Odun Mikrobiyolojisindeki Terminoloji

Odunun ve diğer lignoselülozik maddelerin mikrobiyolojik yoldan çürütülmesine “Biyolojik Degradasyon” veya kısaca “Biyo-Degradasyon” denilmektedir. Bu terim negatif bir etkiye sahip olmakla birlikte cansız materyallerin özelliklerinde bir takım yaşayan organizmaların aktiviteleri sonucu meydana gelen, arzu edilmeyen değişiklikler olarak tanımlanabilir. Bu organizmalar kuşlar ve kemirgenler gibi omurgalıları ile bakteriler, algler, mantarlar ve omurgasızları kapsamaktadır. Bu organizmaların gerçekleştirmiş olduğu ana işlem odun ve tekstil gibi organik materyallerin çürütülmesini kapsayan asimilasyon yani sindirim işlemidir. Bu gruba dahil olan mantarlar özellikle organik maddelerin çürütülmesinde önemli rol oynarlar. Örneğin, yiyecek maddelerini, ağaç malzemeyi, tekstil, deri vb. maddeleri çürütebildikleri gibi bitki, insan ve hayvan hastalıklarına dahi neden olabilirler. Odundaki biyodegradasyonun çürüme ve renklenme olmak üzere iki farklı mekanizması bulunmaktadır. Çürüme, mikroorganizmaların enzimatik aktiviteleri sonucu odunun kimyasal ve fiziksel özelliklerinde meydana gelen değişiklikleri ifade eder. Enzimler, metabolizasyon sırasında oluşan tüm reaksiyonların çok yumuşak koşullarda gerçekleşmesini sağlayan ve bu reaksiyonları koordine eden protein yapısındaki katalizörlerdir (Telefoncu, 1986). Renklenme ise odun üzerinde mantarın büyümesi veya hücre veya hücre çeperi bileşenlerindeki

kimyasal değişimler sonucu odunun normal renginde meydana gelen değişimleri ifade etmektedir (Zabel ve Morrell, 1992).

Lignoselülozik maddelerde biyodegradasyona neden olan en önemli mikroorganizma grubunu oluşturan mantarlar; çekirdekleri olan, spor üreten, klorofilsiz, genellikle seksüel veya aseksüel üreyen, çoğunlukla filamentli (ipliksi), dallı yapıda, tipik olarak selüloz veya kitin veya her ikisini de içeren bir çeperle sarılmış organizmalar olarak tanımlanmaktadır (Bozkurt ve ark., 1995). Mantarların tek bir filament parçası genel olarak “hüf” olarak isimlendirilir ve hüfler de bir araya gelerek miselyumu oluşturmaktadırlar. Mantarlar sporlar yardımı ile üremektedirler. Mantarların üremesinde rol oynayan sporlar bir-çok hücreli ünitelerdir. Sporlar miselyumdan serbest bırakılır ve her bir hücre mantarın üremesini sağlayacak kapasitededir (Haygreen ve Bowyer, 1996).

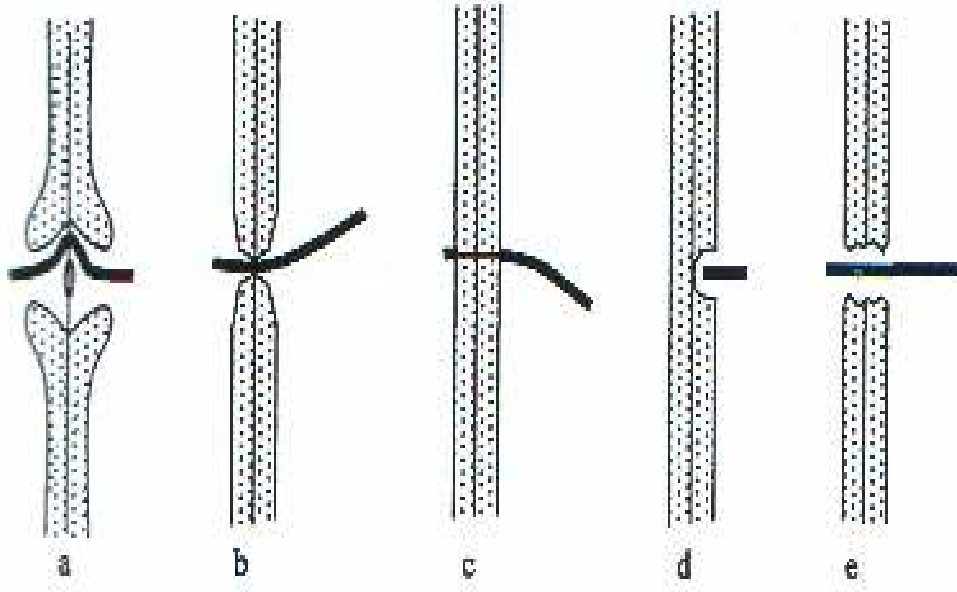
Mantarlar yeşil bitkilerin aksine klorofilsiz olup “özümleme” yapamadıklarından, gerek duydukları besin maddelerini kendileri oluşturmamakta ve hazır olmak üzere canlı ve ölü diğer organik maddelerden sağlamaktadırlar. Böylece; bu organik maddelerin değişimleri sonucu çürüklükler, renklenmeler ve diğer bazı bozunmalar ortaya çıkmaktadır.

Mantardaki hüf sistemi penetre ederek, absorbe ederek veya dıştan sindirim yolu ile organik materyallerin geniş bir kısmının metabolizasyonunu gerçekleştirmektedir. Mantarların lignoselülozik biyodegradasyonu kompleks bir işlemdir. Oundaki hücrelerin çeperlerindeki geçitler, mikroorganizmaların bir hücreden diğerine geçişinde rol oynayan önemli geçiş yollarıdır. Geçit zarında fazla miktarda pektin bulunması enzimlerin etkisini arttırdığından mikroorganizmaların tahribatı kolaylaşmaktadır. Ancak hüflerin liglinleşmiş hücre çeperlerini delerek geçişleri mantar türlerine göre değişiklik göstermektedir. Örneğin beyaz çürükçül

mantarı *Inonotus hispidus* 'un hüflerinin çok ince olan uç kısmı, hücre çeperine doğru dik açı ile ilerler. Çeperle temas ettiği anda küçük bir delik açılmaya başlar ve hücre içerisine ince hüf girer. Deliğin oluşumu ancak enzimatik bir etki ile açıklanabilmektedir (Bozkurt ve ark., 1995). Mantar ile odun arasındaki etkileşim odunun bütün karakteristik özelliklerinden etkilenmekte olup, odun yapısına, ultra yapısına, yoğunluğuna, türüne ve ayrıca lignin ve ekstraktif madde miktarına bağlıdır (Zabel ve Morrell, 1992).

Pleurotus ostreatus, *Lentinula erodes*, *Phanerochaete chrysosporium* ile muamele edilen kırmızı meşe, ladin ve kavakta, lignin içeriğinde meydana gelen düşüşler istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. En fazla lignin otuz günlük inkübasyon süresi sonunda *P. chrysosporium* tarafından tüketilmiştir (% 12). Odun türleri arasında çürüme oranının farklı olması, hücre çeperi ultra yapısındaki lignin dağılımlarının farklı olmasından kaynaklanabilmektedir (Oriaran ve ark., 1989).

Odunda çürüklük yapan mantarların hüfleri sadece hücre çeperinin ince olduğu kısımda değil, herhangi bir noktada hücreden hücreye geçebilmektedir. Hüf ucundan salgılanan enzimler, hüf çepere girmeden önce hücre çeperinde küçük bir kanal oluşturur. Daha sonra hüfler buradan hücreye girerler, yani çürüklük yapan mantarların hüflerinin odunlaşmış hücre çeperinden geçişi hüflerin yaptığı mekanik bir basınç sonucu olmamaktadır (Şekil 1) (Reese, 1977)



Şekil 1. Hüf sel penetrasyon (Villalba, 2003).

(a ve b) Geçitler vasıtasıyla hüflerin ilerleyişi, (c) Hüfün hücre çeperinin herhangi bir noktasından geçerek ilerleyişi, (d ve e) Penetrasyondan önceki enzimatik hidroliz.

2.2. Biyodegradasyonla Lignoselülozik Maddelerde Oluşturulan Çürüklükler

Değişik mantar türleri, farklı tiplerde çürüklüklere neden olurlar. Bunlar; beyaz (white-corrosion rot), esmer veya kahverengi (brown-destruction rot) ve yumuşak (soft rot) çürüklüktür. Bunlardan yumuşak çürüklükte öncelikle polisakkaritler bozundurulmakta, her ne kadar lignin de degrade edilmekteyse de, lignindeki degradasyon karbonhidratlardan çok daha yavaş bir seyir izlemektedir. Çürüklüğe bu adın verilmesinin nedeni odunun yüzeysel olarak yumuşatılmasıdır.

Esmer (kahverengi-destrüksiyon çürüklüğü) çürüklük mantarları, artan depolimerizasyon yoluyla polisakkarit fraksiyonlarını degrade eden Basidiomycetes sınıfına ait kahverengi çürütücüler olarak bilinirler (Nilsson, 1985). Bu mantarların selüloz üzerine olan etkileri tüm çeperde yaygın bir şekilde olmakta ve çürümenin son safhasına kadar çeperde kalan lignin az tahrip edilmektedir. Çürüme neticesinde

geriye esası lignin olan ve küp şeklinde parçacıklara ayrılıp parmaklar arasında kolayca ezilip toz haline gelen bir madde kalmaktadır. Kahverengi çürüklüğe uğratılmış odunların suda ve özellikle %1'lik NaOH'de çözünürlükleri önemli derecede artmaktadır. Bu ise çürütme sırasında mantarların başlıca polisakkaritleri depolimerize ederek düşük molekül ağırlıklı çözünebilir moleküller haline dönüştürdüğü sonucunu vermektedir (Kirk, 1973).

Beyaz çürüklük (korozyon çürüklüğü) yapan mantarlar ise; yapraklı ağaç lifleri ile iğne yapraklı ağaç traheidlerinde hem lignin, hem de selülozu lümeninden, hücre çeperinin dışına doğru ilerleyen bir çürütme mekanizması ile tahrip etmektedir. Ancak bu iki kimyasal bileşimin dekompozisyona uğrama hızı farklı olmaktadır. Basidiomycetes sınıfına giren bu mantarların odunda meydana getirdiği zararlar çok önemlidir (Gilbertson, 1980). Çürüme ile odunda görülen beyaz renklenme, sadece selülozun serbest kalması sonucu değil, bilhassa beyaz çürüklük yapan mantarların salgıladığı özel oksidasyon enzimlerinin odun kompozisyonundaki renk maddelerine etkisi sonucu olmaktadır (Bozkurt ve ark., 1995). Beyaz çürüklük mantarlarının neden olduğu çürüme makroskopik özelliklere bağlı olarak beyaz-cep (white-pocket) beyaz-benek (white-mottled) beyaz-lif (white-stringy) olarak kategorize edilebilir (Villalba, 2003). Beyaz çürüklükte çürüklüğe uğratılan odunlar uzun süre strüktür ve hacmini korur ve uzun parçalar halinde koparılabilir. Odunda önceden mevcut veya sonradan oluşan çatlaklar içerisinde mantar misellerinin yığılma yaptığı görülür, böyle odunlarda çoğu kez koyu renkli ve düzensiz çizgiler de göze çarpar (Yalınkılıç, 1990).

Beyaz çürüklük yapan mantarlar (BÇM), gerçekten çok heterojen bir gruptur. Bu mantarlar diğer çürüklükleri yapan mantarların aksine, diğer bileşenlerin yanı sıra lignini de degrade etme yeteneğine sahiptirler. Ancak değişik cins ve türdeki

BÇM'nın hücre çeperi ana bileşenlerini tahrip etme oranlarında büyük farklılıklar görülmektedir. Örneğin, *Polyporus berkeleyi* özellikle çürüklüğün ilk aşamalarında lignini, selüloz ve hemiselüloza oranla daha hızlı degrade ederken, *Polyporus versicolor* gibi diğer birçok mantar her üç bileşeni de yaklaşık olarak aynı oranlarda bozuşuma uğratmaktadır. *Fomes applanatum* gibi küçük bir mantar grubu ise, bir dereceye kadar karbonhidratları ligninden daha süratli bir şekilde tahrip etmektedir. Çizelge 1'de çeşitli BÇM'nın *Pinus taeda* yongalarının hücre çeperi bileşenlerinde neden oldukları kayıplar ve ağırlık kayıpları, 12 haftalık inkübasyon (ön muamele) süresine bağlı olarak verilmektedir.

Çizelge 1. Bazı beyaz çürüklük mantarlarının 12 haftalık ön muamele süresinden sonra değişik odunların hücre çeperi bileşenlerinde yaptığı degradasyon oranları ve ağırlık kayıpları (Blanchette ve ark., 1991).

Tür	<i>Pinus taeda</i> 'nın Fungal Degradasyonu				
	Ağırlık kaybı, %	Lignin kaybı (%)	Glukoz kaybı (%)	Xylose kaybı (%)	Mannose kaybı (%)
<i>Ceriporiopsis subvermispora</i>	23	38	14	30	16
<i>Hyphodontia setulosa</i>	13	25	6	15	18
<i>Mycoacia fusco-atra</i>	21	30	17	25	18
<i>Phlebia brevispora</i>	21	40	10	29	21
<i>Dichomitus squalens</i>	30	39	18	39	18
<i>Ganoderma sp.</i>	14	20	14	21	8
<i>Phanerochaete chrysosporium</i>	11	17	15	29	3
<i>Phellinus pini</i>	14	30	9	33	12
<i>Phlebia tremellosa</i>	17	36	13	29	10.1
<i>Trametes versicolor</i>	20	27	21	27	9

Çizelge 1'den görüleceği üzere değişik cins ve türdeki BÇM'nın hücre çeperi ana bileşenleri üzerindeki etkileri farklı olabileceği gibi, aynı mantarın farklı türleri arasında dahi farklılıklar görülebilmektedir (Çizelge 2).

Çizelge 2. 12 haftalık ön muamele süresi sonunda *Ceriporiopsis subvermispora*'nın farklı türleri ile muamele edilen *Pinus taeda* yongalarında meydana gelen kayıplar (Blanchette ve ark., 1991).

Tür	<i>Pinus taeda</i> yongalarının <i>Ceriporiopsis subvermispora</i> Türleri Tarafınca Fungal Degradasyonu				
	Ağırlık Kaybı (%)	Lignin Kaybı (%)	Glukoz Kaybı (%)	Xylose Kaybı (%)	Mannose Kaybı (%)
<i>ME-485</i>	22.8	31.0	20.3	0	24.2
<i>L-14807</i>	22.5	37.0	14.7	33.2	29.9
<i>L-15225</i>	23.7	38.2	12.4	27.2	28.1
<i>Fp-104027</i>	28.3	40.6	18.8	33.8	26.9
<i>L-3292</i>	29.0	42.2	22.4	31.1	26.2
<i>Fp-105752</i>	19.6	33.9	7.1	27.0	10.1
<i>Lz-3</i>	21.3	31.8	14.0	31.0	20.3
<i>L-6133</i>	30.1	34.1	26.2	34.0	18.9
<i>Fp-90031</i>	22.7	38.2	14.1	30.0	15.9

BÇM'nın odunun ana bileşenleri üzerine farklı oranlarda etki etmeleri, bu mantarların enzimatik aktivitelerinin de birbirinden farklı olduğu sonucunu vermektedir (Kirk, 1973).

Diğer yandan, bu mantarların odundaki ligninle ilişkide olan fenolik bileşenleri okside edebilen hücre dışı enzim sentezleme yetenekleri de bulunmaktadır (Eriksson ve Kirk, 1985).

Böylece BÇM'ı; odundaki lignini degrade edebilmeleri, fenolik bileşenlerin oksidasyonu için gerekli enzimleri sentezlemeleri ve bunlara ilave olarak biyolojik degradasyon sırasında ortama katılan maddelerle seçici enzim sentezlemedeki yönlendirilebilme gibi özellikleri nedeniyle odun ve diğer lignoselülozik hammaddeleri kullanan endüstri alanlarında kullanılmaya konu olmuştur. Bu alanların başlıcaları şunlardır:

1. Biyolojik kağıt hamuru üretimi ve ağartılması,
2. Endüstriyel enzim üretimi; protein, etanol, metan, fenolik ve diğer enerjice zengin kimyasalların fermentasyon yoluyla üretimi,

3. Birçok farklı biyolojik yöntemde kullanılarak orman ürünleri endüstrisinin atıklarının temizlenmesi veya saflaştırılması (Eriksson, 1985).

2.3. Odun Hücre Çeperinin Mantar Tarafından Modifikasyonunun Örneklendirilmesi

Sachs ve arkadaşları (1990) mekanik hamur üretiminden önce *P. chrysosporium* ile üç hafta süresince muamele edilen kavak yongalarının modifikasyonunu izlemişler ve bu mantar türü hüflerinin odun içerisindeki ilerleyişini takip etmişlerdir. Elektron mikroskobu ile yapılan araştırmalar beyaz çürüklükte dekompozasyonun genellikle yeni çeper tabakalarına yayılmadan önce hücre çeper yüzeylerinde tamamlandığını göstermiştir. Yapılan bu çalışma neticesinde hüflerin beklenildiği gibi, çürüklüğün belirli safhalarında geçitleri kullanarak oduna nüfuz ettiği belirli aşamalarda ise hücre çeperinde salgıladıkları enzimler yardımı ile delikçikler açarak ilerleme kaydettikleri görülmüştür.

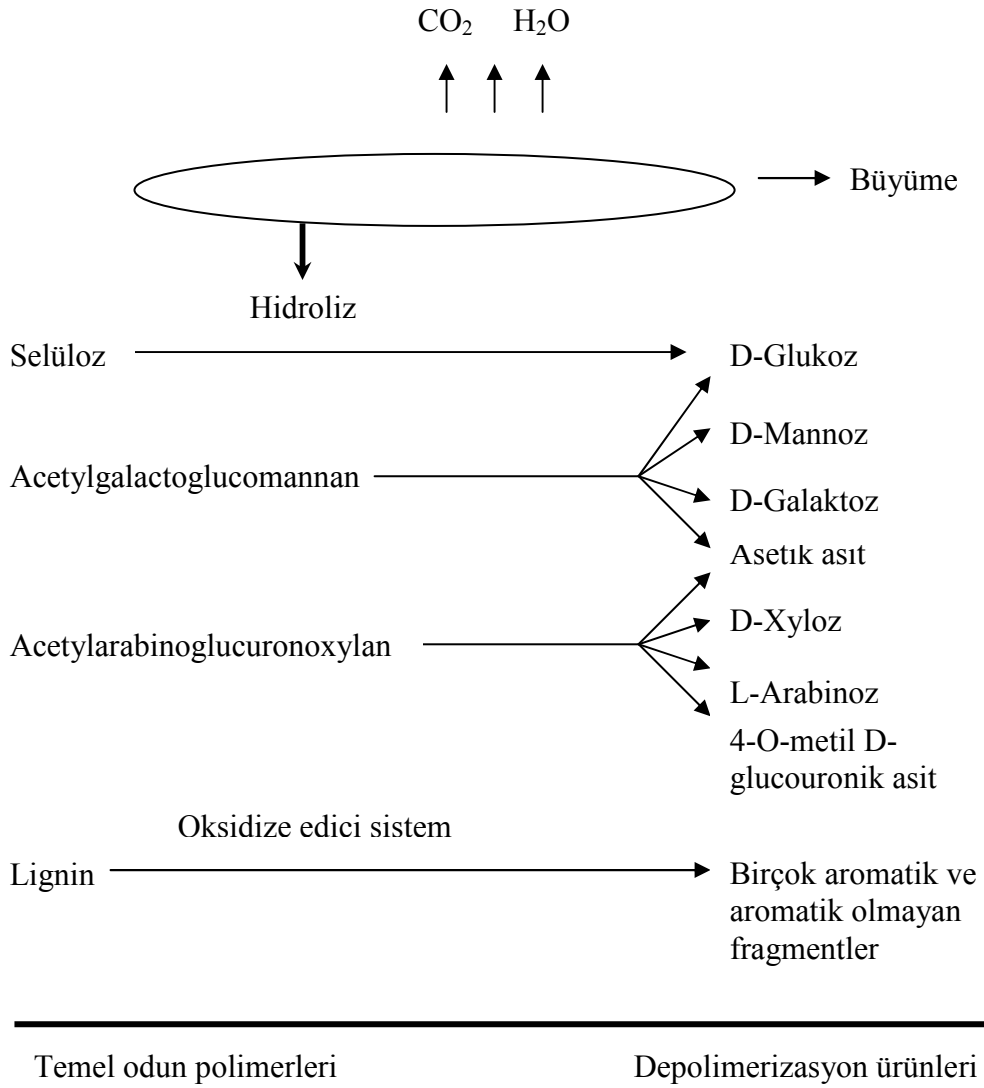
P. chrysosporium hüflerinin hücre eksenine az çok dikey delikçikler açma kapasitesine sahip olduğu görülmüş olup hücre çeper tabakalarından ziyade lümen boşluklarında daha fazla erozyona neden oldukları belirtilmiştir.

Huş ağacının enine kesiti üzerinde *Trametes versicolor*, *P. chrysosporium* ve *Phellinus pini* mantarlarının etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada farklı degradasyon tipleri ile karşılaşılmıştır (Yu ve ark., 1990). *T. versicolor*'un çürümenin başlangıç safhalarında geçitlerden, daha ileri safhalarda ise çeperden geçtiği ve çeperlerde oldukça küçük çapta delikçikler açtığı gözlenmiştir. Hücre çeperini çok inceltmiş olmaları, çeperi lümeninden dışarı doğru tedricen tükettiklerini göstermiştir. Ayrıca bu mantar türünün odunda seçici olmayan bir degradasyona neden olduğu ifade edilmiştir. Bunun aksine *P. chrysosporium* ve *P. pini*'nin lignini seçici bir şekilde

tahrip ettiği ve delignifiye olmuş bölgelerde bileşik orta lamenin geniş ölçüde degrade edildiği; ancak sekonder çeperin bileşik orta lamele oranla değişmeden kaldığı gözlenmiştir. Yapılan lignin ve şeker analizi sonuçları *P. chrysosporium* ve *P. pini*'nin lignini seçici olarak degrade ettiğini göstermiştir. Bunun aksine *T. versicolor*'un lignin ve selülozu birlikte tahrip ettiği ve çürüklüğün bütün safhalarında lignin ve selüloz tahribatının hızları arasında bir orantı olduğu ifade edilmiştir (Yu ve ark., 1990).

2.4. Beyaz Çürüklüğün Mikroskobik Yönü

Sporlardan veya yakınındaki kolonilerden meydana gelen hüfler hızlı bir şekilde odun hücrelerine saldırmakta ve lümen boşlukları boyunca uzanmaktadırlar. Bu pozisyonda hemiselüloz ve selülozların depolimerizasyonuna ve ligninin parçalanmasına neden olan enzim ve metabolitleri salgılamaktadırlar (Şekil 2). Enzimler, polisakkaritleri monosakkaritlere ve asetik aside, lignini de düşük moleküler ağırlıktaki fragmentlere dönüştürmektedirler. Tüm bunların neticesinde mantar faaliyeti ile organik atıkların parçalanması sırasında açığa çıkan karbondioksit ise, fotosentezde kullanılmak üzere atmosfere verilmektedir.(Kirk ve Cullen, 1998).



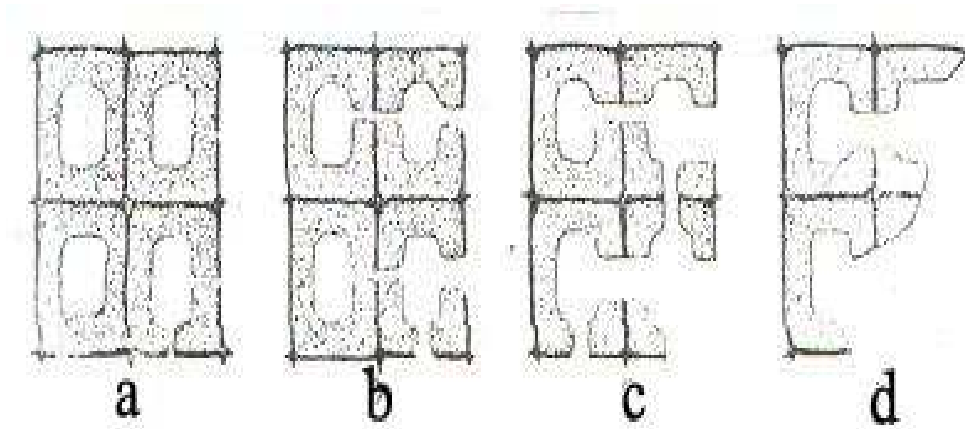
Şekil 2. Odunun yapısal polimerleri üzerinde ekstraselüler hidrolitik ve oksidatif enzimlerin etkisi (Villalba, 2003).

BÇM'nın hüfleri hücre çeperinde S₃ tabakasından orta lamele doğru aşamalı bir şekilde ilerlemektedir. Hüfler çoğunlukla hücre çeperine tutunmayı sağlayan jelatinimsi bir tabaka ile kaplanmış durumdadır. Bu tabaka ile hüfler arasında belirli bir mesafe bulunmakta ve hücre çeperleri bu jelatinimsi tabakanın altında bozuşuma uğratılmaktadır. Hücre çeperinin tümüyle tahrip edilmesine her ne kadar yüzeyden başlanmakta ise de, yapılan enzimatik çalışmalar BÇM'nın polimer-degrade edici enzimlerinin hüfler hücre çeperine girmeden de difüze olabildiklerini göstermiştir. Yani, bu enzimler sentezlendikleri hüflerden bir miktar (3–4 nm. gibi) uzaklıklarda

hücre çeperine girerek burada ana bileşenleri etkilemektedir. Highley ve Murmanis (1987) yaptıkları elektromikrografik çalışmalarla BÇM'nin enzimlerinin hüflerden uzak bölgelerde ligninin polimer yapısını modifiye ederek geriye granül halde atıklar bıraktıklarını belirlemişlerdir (Highley ve Murmanis, 1987).

Beyaz çürüklükte oksidatif ve hidrolitik enzimler değişik hız ve şiddette olduğundan, anatomik bakımdan odunun degradasyonu belirgin olarak iki esas tipe ayrılmaktadır:

(1) Birinci tip beyaz çürüklük mantarları, odunun polisakkarit bileşenini ligninden önce veya her ikisini birlikte tahrip etmektedir. Eş zamanlı çürüklüğe neden olan bu mantarların hücre çeperinde oluşturduğu küçük delikçikler tedricen büyüyüp, sayıları artmakta, sonunda delikçikler birleşerek hücre çeperi kompleksini ortadan kaldırmaktadır. Böylece odunda çıplak gözle görülebilecek büyüklükte boşluklar oluşmaktadır. (Şekil 3).

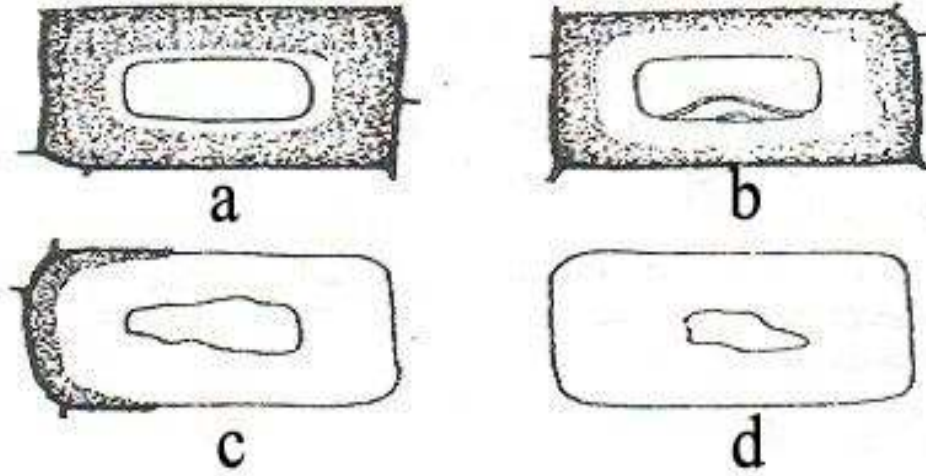


Şekil 3. Birinci tip beyaz çürüklüğün şematik görünümü (Bozkurt ve ark., 1995).

(a) Hüflerin hücre çeperlerini delerek geçmesi sonucu oluşan küçük kanallar, (b-c) Kanalların tedricen büyümesi, (d) Son safhada hücre çeper kompleksi tamamen degrade edilir ve bu kısımlarda odunun hücre yapısı tamamen tahribe uğrar.

(2) İkinci tip beyaz çürüklükte hücre çeperinin S₃ (iç) tabakasından başlanarak önce lignin alınmaktadır. Pektin tabakasının erimesinden sonra, lignini ortadan kaldırılan

hücreler birbirinden ayrılmakta, selüloz degradasyonu daha sonraki bir safhada başlamaktadır. Böylece sağlam odun içerisinde genellikle birbirinden ayrı boşluklar oluştuğundan, bu görünüşe Delikçikli Çürüklük adı verilmiştir (Şekil 4).



Şekil 4. İkinci tip beyaz çürüklüğün şematik görünümü (Bozkurt ve ark., 1995).

(a) Lignin degradasyonu hücrenin lümeninden başlar, (b) Genel olarak hücre çeperi tabakalarını birer birer gevşetmesi ile ilerler, (c) Lignin kaybı tedricen bütün hücre çeperinde orta lamele kadar ilerler; orta lamelin degradasyonu bunu takip eder, (d) Hücreler birbirinden tamamen ayrılırlar. Lignini alınmış hücre çeperi oldukça şişer ve en sonunda tamamen degradasyona uğrar.

Delignifikasyon olarak da isimlendirebileceğimiz bu çeşit degradasyonda önce lignin, daha sonrada karbonhidrat komponentleri yok edilmekte, selülozun tümü degradasyona uğramamaktadır.

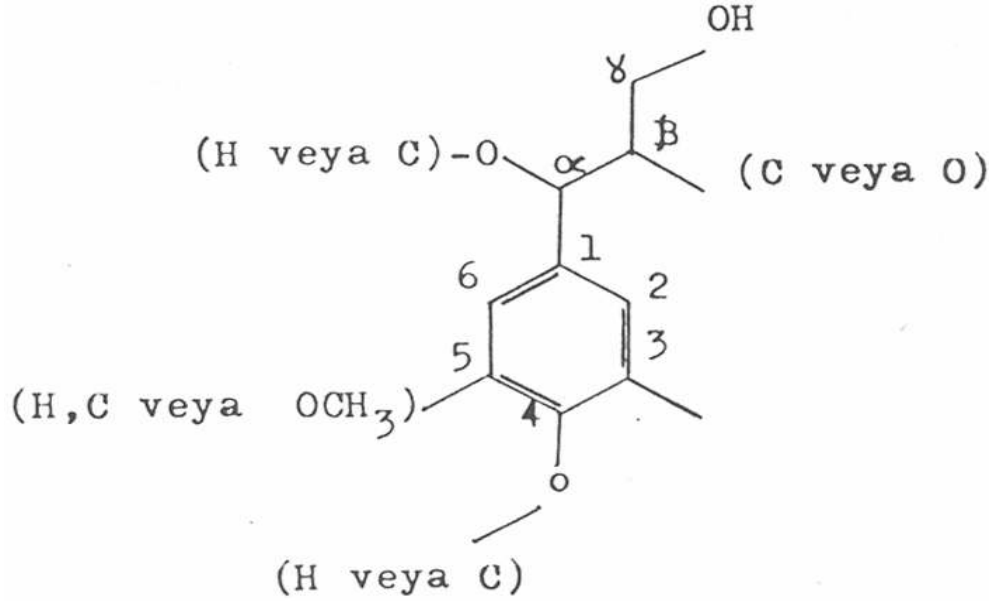
Farklı degradasyon tiplerinin ortaya çıkmasına neden olan faktörler henüz bilinmemektedir ancak, biyoliflendirme açısından en faydalı oluşumun delignifikasyon işlemi olduğu açıktır.

2.5. Beyaz Çürüklük Mantarlarının Odun Bileşenleri Üzerine Etkileri

2.5.1. Ligninin Biyolojik Degradasyonu

Ligninin biyodegradasyonu, biyoteknolojinin kağıt endüstrisinde potansiyel uygulamalarının temelini oluşturmaktadır. Bilindiği gibi lignin, birçok ağaç türü odununda ana bileşenlerin %20-30'unu, tarımsal artıkların da %5-25 gibi bir kısmını

oluşturan, kompleks yapıda; Şekil 5'te gösterildiği gibi 5–6 ana tipte C-C ve C-O-C bağlarıyla birbirine bağlanmış fenil propan ünitelerinden oluşmuştur (Sjostrom, 1981; Kirk, 1987). Bu doğal polimerdeki aromatik halkaların substitüentleri metoksil grupları olup, üniteler arası bağlar stereo-düzenlemeden yoksundur (Kirk, 1987).



Şekil 5. Ligninin genel bağ yapısının basitleştirilmiş görünümü (Villalba, 2003).

Mikroorganizmalar tarafından kullanılması son derece güç olan ligninin, tek başına çürükçül organizmalar için yeterli bir enerji kaynağı oluşturmadığı kesinlik kazanmıştır. Ancak karbonhidrat varlığında belirli bir kısım mikroorganizmanın lignini tahrip ettiği de bilinmektedir (Kirk, 1987). Ligninin polimerik yapısının anlamlı biyokimyasal çalışmalara engel olacak derecede karmaşık olması ve denemelerde kullanılan yapay lignin modellerinin, ligninin doğal halde selüloz ve hemiselülozlarla iç içe bulunduğu besin ortamından farklı durumlarda bulunması sebebiyle biyolojik yoldan ligninin degradasyon mekanizmasının belirlenmesi amacıyla yapılan çalışmalarda güçlüklerle karşılaşmaktadır.

Lignin, BÇM için doğrudan bir besin ortamı olmayıp, ancak ortamda başka bir karbon kaynağı varlığında modifikasyona uğratılmaktadır. Ligninle birlikte bulunan selüloz ve hemiselülozlar ile birlikte ortama sonradan katılan karbonhidratlar ise daima bu mantarlarca tüketilmektedir (Kirk, 1987).

Degradasyon ortamında bulunan O₂ miktarının artması ile birlikte;

- a. Ligninolitik sistemin aktivitesi artmakta,
- b. H₂O₂ üretici sistemler çoğalmakta,
- c. Ligninaz ve diğer lignin degrade edici enzimlerin sentezlenmeleri artmaktadır (Kirk, 1987).

BÇM’na ligninin degradasyonu, öncelikle bir kısım karbonhidratların besin maddesi olarak kullanılmasının ardından, “ikincil metabolizma (secondary metabolism)” olarak gerçekleştirilmektedir. İkincil metabolizmayı başlatıcı görevini ise özellikle N ve C, daha az olarak da S oranları üstlenmiştir. Doğal halde de, BÇM’nın odunu degrade etmesinin hemen ardından azot tüketilmekte ve azot miktarı belli bir oranın altına düşünce “ikincil metabolizma” reaksiyonları başlamaktadır (Highley ve Murmanis, 1987). Diğer yandan ikincil metabolizma, bir kısım amino asitlerle son derece baskı altına alınmaktadır (Eriksson ve Kirk, 1985).

Eser elementlerden, inorganik maddeler ve metallerin ortamdaki dengesiyle ligninolitik aktivite son derece ilgilidir. Örneğin, Zn, Fe ve Mo gibi maddelerin varlığı belirli oranları aştığında ligninolitik aktivite 10 kat azalmakta, 1mM konsantrasyonda Ca tercih edilirken, ligninaz üretimini artırdığından Cu ve Mn’in ortamda çokça bulunması istenmektedir (Kirk, 1987).

Biyolojik ön muamele süresince lignindeki yapısal değişiklikler incelenmiş olup beyaz çürüklük mantarlarının β -O-aril bağlarını biyodegradasyona uğrattığı; ancak β - β , β -5, β -1 ve 4-O-5 bağlarının biyolojik atağa karşı dayanıklı oldukları

belirlenmiştir (Guerra ve ark., 2004). Salgılanan enzimler aril eter bağlarını oksidatif parçalamakta ve demetoksilasyon sonucu bu bağlar zayıflamakta ve/veya modifiye olmaktadır (Chen ve ark. 1982, 1983). Bu ise ön muameleye tabi tutulmuş lignin molekülünü kâğıt hamuru üretiminde kullanılan kimyasal etkisine karşı daha hassas hale getirmektedir. Mantar ön muamelesi ayrıca odun yongalarının porozitesini artıracığından (Anonim, 2006a) pişirme çözeltisinin oduna nüfuzu daha kolay olmakta olup böylece yongalar daha az enerji ve kimyasal madde kullanılarak hamura dönüştürülebilmektedirler. Buna bağlı olarak pişirme süresi de kısalmaktadır. Kullanılan pişirme çözeltisindeki azalmaya bağlı olarak pişirme sonrasında oluşan atık çözelti miktarı azalacağından çevre kirlenmesi de daha az olacaktır (Anonim, 2006b). Az miktarda kullanılan kimyasal üretilen hamur özelliklerinde iyileşmeye neden olmaktadır (Oriaran ve ark. 1991). Sonuç olarak farklı birçok etkene bağlı olarak mantar muamelesi odundaki lignin içeriğini, inkübasyon süresi ile doğrusal orantılı olarak azaltmaktadır. (Villalba ve ark., 2000; Oriaran ve ark., 1990; Oriaran ve ark., 1991; Molina ve ark., 2002; Blanchette ve ark., 1991; Dawson-Andoh ve ark., 1991).

Lignin degradasyonunu sağlayan enzimler:

a. Ligninaz veya lignin peroksidaz (LiP): Lignini degrade edici enzim olarak bilinen ligninaz ilk olarak *P. chrysosporium* adlı beyaz çürüklük mantarında keşfedilmiştir (Glen ve ark., 1983; Eriksson ve Kirk, 1985). Diğer peroksidazlar gibi lignin peroksidaz da tam olarak spesifik değildir. Lignin peroksidaz lignin moleküllerini oksidize ederken meydana gelen ürünler baskın reaksiyonların C_α-C_β kopmaları olduğunu göstermektedir (Kirk ve ark., 1983).

1983'te bulunan monomerik, 42.000 molekül ağırlığına sahip olan bu enzimin reaksiyonlarının mantarlarca besin ortamlarında oluşturulan H_2O_2 varlığında oksidatif olduğu belirlenmiştir (Eriksson, 1985).

Ortamda H_2O_2 varlığı devam ettiği sürece ligninin oksidasyonu da sürmektedir. Yalnız ligninaz yüksek molekül ağırlığına sahip olduğundan hücrelerin içine fazla difüze olamamakta ve yüzeysel olarak lignindeki aromatik halkaları çoğunlukla tek-elektron oksidasyonu yoluyla aryl katyon radikalleri verecek şekilde oksitlemektedir (Kirk, 1989).

Diğer bir görüşe göre H_2O_2 varlığında ortamı ayarlayan öge Veratryl alkol olmaktadır. Ligninaz veratryl alkolü radikal katyonlara oksitleyerek, bu katyonları enzimden uzakta ligninin kenar zincirlerini oksitleyen tek-elektron oksidantı haline getirmektedir (Highley ve Murmanis, 1987).

b. Manganez peroksidaz (MnP): Manganez peroksidaz (MnP) düşük moleküler ağırlıklı yayılabilir oksidantlar temin edebilmektedir (Glen ve Gold, 1985; Glen ve ark., 1986). MnP birçok beyaz çürüklük mantarında olmakla birlikte *C. subvermispora*'da da rastlanmıştır. LiP'lerden biraz daha büyük (50-60 kDa) ancak LiP gibi glukozludurlar ve asidik izoelektrik noktalarına ($pI =$ enzimin net yükünün olmadığı pH noktası) ve pH optimaya sahiptirler. MnP için tahmin edilen rol Mn^{2+} 'yi Mn^{3+} 'e oksidize etmektir. Böylece bu oksidasyon neticesinde lignindeki farklı fenolik yapılar oksidize olur. Bunun dışında MnP'nin siringil lignin ünitelerini guayasil lignin ünitelerinden çok daha iyi oksidize ettiği belirlenmiştir (Gold ve ark., 1984).

1984'te keşfedilen bu enzim bir glikoprotein olup, ligninaz gibi aktivite gösterebilmek için H_2O_2 'ye gerek duyar. Katalitik çevrimi ligninaz'a benzemekte olup, lignin polimerindeki fenoller; a. Durgun Faz, b. Bileşik I Oluşum Fazı ve c.

Bileşik II Oluşturma Fazı olmak üzere 3 adımda fenoksi radikallerine oksitledikleri bildirilmektedir (Kirk, 1987).

c. Lakkaz: Lakkazlar fenoliklerin, aromatik amin ve diğer elektronca zengin maddelerin 1-elektron oksidasyonlarını katalize eden mavi bakır oksidazlardır (Muheim ve ark., 1992). Mn (III) lignin içindeki fenolik birimleri fenoxyl radikallerine oksidize eder ki buda aryloxy- C_α kopmalarına neden olabilir. Lakkaz 4 ardışık 1-elektron oksidasyonlarını katalizler, sonra bu elektronları suya indirgeyerek moleküler oksijene transfer eder ve enzimleri onların orijinal hallerine dönüştürür. Lakkazlar tipik olarak 60-80 kDa büyüklüğünde olup glukozludurlar ve asidik izoelektrik noktalarına (pI) ve pH optimaya sahiptirler. Birçok beyaz çürüklük mantarı bu enzime sahip olmakla birlikte *C. subvermispora*'nın da bu enzimi içerdiği belirtilmiştir (Villalba, 2003).

d. H₂O₂- üretici Enzimler: H₂O₂ üretici enzimler (Yalınkılıç, 1990);

Mantar hücresi içinde sentezlenenler (Intracellular): 1. glukoz-1-oksidad

2. glukoz-2- oksidad

3. fatty acyl koenzim oksidad

4. methanol oksidad

Mantar hücresi dış kısmından sentezlenenler (Extracellular): 1. mn- peroksidad

2. glioksal oksidad

Ligninin biyodegradasyonu konusunda şu noktalar üzerinde görüş birliği sağlandığı belirtilmektedir:

- Lignin polimerindeki metoksil, fenolik ve alifatik hidroksil grupları azaltılmakta,
- Aromatik halka, alifatik karboksil içeren gruplara indirgenmekte,
- Yeni C_α-karbonil ve karboksil grupları ile,

d. Alkoksiasetik asit, fenoksi asetik asit ve fenoksi etanol oluşturulmaktadır (Kirk, 1987).

2.5.2. Selülozun Biyolojik Degradasyonu

BÇM ile yapılan çalışmalarda belirlenen selüloz degrade edici enzimlerin başlıcaları şunlardır (Kirk, 1987):

endo-1, 4- β -glucanaz,

exo-1, 4- β -glucanaz,

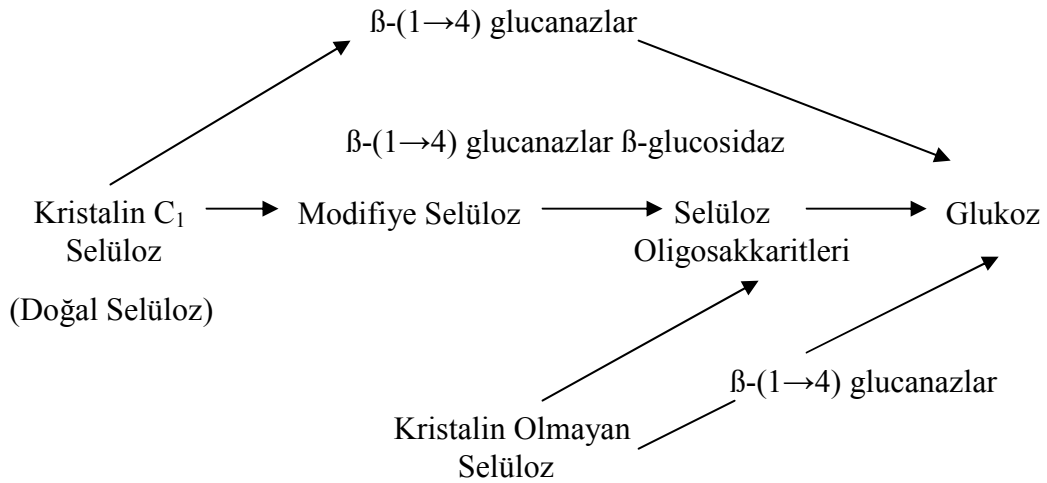
β -glukosidaz,

sellobioz oksidaz,

sellobioz-quinone oksidoredüktaz,

glukoz oksidaz.

Şekil 6'da selülozun glukoz'a indirgenmesinde izlenen enzimatik reaksiyonlar gösterilmiştir.



Şekil 6. Beyaz çürüklük mantarlarının selüloz üzerindeki enzimatik degradasyonun mekanizması (Kirk, 1973).

C₁ komponenti yüksek moleküllü bir glukoproteindir. Bilindiği gibi enzimlerin yapı taşı da aminoasitlerin değişik peptid bağlarıyla oluşturduğu

proteinlerdir. C₁ komponentinin kristalin selülozda yaptığı değişikliğin ne olduğu tam olarak bilinmemekle birlikte, β -(1→4) glucanaz'ların zincirdeki hidrolizi gerçekleştirebilmesi için lokal parçalanmalara neden olduğu sanılmaktadır (Kirk, 1973).

Ayrıca, bir veya daha fazla endo-1, 4- β -glucanaz enziminin selüloz mikrofibrilleri yüzeyinde rasgele ortaya çıktığı gözlenmiştir. Ardından indirgenmemiş kısımlar exo-1, 4- β -glucanazlar tarafından "Sellobioz" a indirgenmektedir. Sellobioz ise büyük olasılıkla β -glukosidaz enzimiyle glukozu parçalanmaktadır. Exoglukanaz ve belirli bir kısım endoglukanazlar böylece sinergistik (birbirlerinin katalizlediği reaksiyonları kolaylaştırıcı) bir etkileşime girmektedirler. Glukanazlar genellikle yüksek konsantrasyonlardaki basit şekerlerle baskı altında tutulabilmektedir. Molekül ağırlıkları 75.000 civarındadır. Ancak, β -glukosidazlar daha fazla molekül ağırlığına sahiptir (Highley ve Murmanis, 1987).

BÇM'nın selüloz üzerindeki degradasyonunda etkili olan enzimlerin bazıları da oksidatifdir. Bir hemoprotein olan sellobioz oksidaz, oksijeni elektron alıcı olarak kullanıp sellobioz'u sellobionolacton'a oksitlemektedir. N₂'li ortamdan ziyade O₂'li ortamda selülozun çok daha süratli hidrolize olmasının ana nedeninin sellobioz oksidaz enzimi olduğu bildirilmektedir (Highley ve Murmanis, 1987).

Sellobioz ayrıca, sellobioz-quinone oxidoredüktaz enziminin quinon'lar elektron alıcı yapılarak sellobionolacton'a okside edilmektedir. Bu reaksiyonların yanı sıra, glukozun glukoz oksidaz enziminin gluconolacton'a oksitlendiği de saptanmıştır. Bu çok çeşitli oksidasyon aktivitelerinin; glukoz ile sellobioz'un ve sonuçta selülozun hidroliz ürünlerinin (end products) metabolizasyonda koordine edilebileceğini gösterdiği bildirilmektedir (Highley ve Murmanis, 1987).

2.5.3. Hemiselülozların Biyolojik Degradasyonu

BÇM’na hemiselülozların degradasyonunda selülozdekine benzer bir sıra izlendiği, ancak degradasyon mekanizmasının detaylı olarak incelenmediği bildirilmektedir. Yapılan çalışmalar neticesinde hemiselüloz zincirlerinin önce glikosidazlar (mannosidazlar, ksilosidazlar ve glukosidazlar) tarafından hidrolizlenen basit şekerlere dönüştürülmek üzere endo-enzimlerin saldırısına uğradığı bildirilmektedir (Highley ve Murmanis, 1987).

Son yıllarda yapılan çalışmalarda ise mantar ön muamelesinin odundaki holoselüloz/lignin oranını artırdığı *Quercus rubra* odun yongalarının *P. chrysosporium* mantarı ile yapılan çalışma ile belirlenmiş olup inkübasyon süresine bağlı olarak bu oran 10 günde %6.25; 20 günde %18.75 ve 30 günde %25 olarak belirlenmiştir (Oriaran ve ark., 1991). Bir diğer çalışmada ise *Pinus radiata* tomrukları 85 gün boyunca *C. subvermispora* mantarı ile muamele edilmiş olup holoselüloz oranının kontrol örneğine oranla %2.3 oranında daha fazla olduğu tespit etmiştir (Molina ve ark., 2002). Aynı mantar türü ile yapılan bir başka çalışmada ise ökaliptus odunun 2 hafta mantarla muamelesi sonucunda selüloz içeriğinde %1.9 ve hemiselüloz içeriğinde ise %1.4 oranında artış olduğu gözlemlenmiştir (Bajpai ve ark., 2001). Hemiselüloz içeriğindeki değişimin izlendiği bir diğer çalışmada ise biyolojik ön muamelenin mannoz, glukoz ve xylose içeriğinde düşüşe ve galaktoz içeriğinde artışa neden olduğu belirtilmiştir (Hunt ve ark., 2003). *C. subvermispora* mantarı ile yapılan bir diğer çalışmada ise biyokraft hamurunda glucose ve mannose oranlarında bir azalmaya karşılık xylose oranında kontrol hamuruna nazaran bir artış olduğu belirlenmiştir (Çöpür ve ark., 2003). Biyolojik ön muameleye bağlı olarak odun yongalarının selüloz ve hemiselüloz içeriğinin oransal olarak artmasındaki

sebepler, mantar muamelesi neticesinde odundaki ligninin daha çok tüketilmesinden kaynaklanmaktadır.

2.5.4. Ekstraktif Maddeler Üzerindeki Etkisi

Kağıt yapımında zift problemlerine yol açan bileşikler, kağıt bobininde kopmalara, kağıt makinesinde duraklamaların artmasına, son üründe hatalara ve kağıt direnç özelliklerinde azalmalara neden olmaktadır (Allen, 1980; Smook, 1992). Mantarla ön muamele kağıt üretiminde problem olarak bilinen reçine asitleri, yağ asitleri ve trigliseritler gibi ekstraktiflerin miktarını azaltmaktadır (Blanchette ve ark., 1992).

Cartapip 97® kağıt hamuru ve kağıt endüstrisine pazarlanan fungal bir inokulum olmakla birlikte *Ophiostoma piliferum* mantarının renksiz bir alt türünden meydana gelir ve hamurun ekstraktif içeriğini düşürücü etkiye sahiptir. *Cartapip ®*; *Pinus pinaster*, *Pinus banksiana*, *Pinus resinosa*, *Liriodendron tulipifera*, *Populus nigra*, *Populus fremontii*, *Populus deltoides*, *Acer saccharum*, *Betula* ve *Douglas* gibi birçok ağaç türü üzerinde etkili olmaktadır (Wall ve ark., 1994). Rocheleau ve ark. (1998) kavak yongaları üzerinde *Cartapip ®* ve *Phlebia tremelosa* mantar muamelelerinin etkisini belirlemiş ve 3 haftalık inkübasyon süresi sonunda odunun reçine içeriğinin %15 azaldığını tespit etmiştir.

Bununla beraber, yapılan çalışmalar farklı mantar türlerinin ekstraktif maddeler üzerindeki etkilerinin de farklı olabileceği göstermiştir. Gutierrez ve ark. (1999) yaptıkları çalışmada *Phlebia radiata*, *Funalia trogii*, *Bjerkandera adusta* ve *Poria subvermispora* gibi mantar türlerinin okaliptüs odununda lipofilik bileşikleri %75–100 oranında degrade ettiğini; ancak *O. piliferum* mantarının zift kontrolünde ticari olarak kullanılıyor olmasına rağmen okaliptüs odununda serbest sitosterollerin (zift depolayan ana bileşiklerden biri) miktarını artırarak olumsuz bir etki

gösterdiğini belirtmiştir. Benzer bir çalışmada dört farklı mantar türü ile (*B. adusta*, *P. radiata*, *Pleurotus pulmonaris*, *P. subvermispora*) muamele edilen *Eucaliptus globulus* yongalarında ekstraktif madde içeriğinin önemli derecede azaldığı belirtilmiş olup mantar muamelesinin okalıptüs odunundan elde edilen kraft hamurlarında sitosterol ve sterol esterlerin miktarını düşürdüğü gözlenmiştir (Gutierrez ve ark., 2000).

Behrendt ve Blanchette (1997) *Pinus resinosa* kütüklerinin zift içeriğini düşürme noktasında *Phlebiopsis gigantea* adlı beyaz çürüklük mantarının ne kadar etkili olabileceğini araştırmışlardır. 8 haftalık inkübasyon süresi sonunda çam kütüklerinin diri odun kısmının % 80'inden fazlasının mantar kolonizasyonuna maruz kaldığı gözlenmiş olup laboratuvar ölçekli denemelerde % 9, açık alanda gerçekleştirilen denemelerde ise % 71'e varan oranda zift içeriğinde düşüş tespit edilmiştir. Ayrıca mantar muamelesi sonrasında odundan kabuğun uzaklaştırılmasının çok daha rahat olduğu belirtilmiştir.

Sonuç olarak biyolojik hamur üretiminin hamur ve kağıdın özellikleri üzerine gösterdiği olumlu etkiler şu şekilde sıralanabilmektedir: Hamur veriminde artış, kappa numarasında azalma, kimyasal madde kullanımında azalma, pişirme çözeltilisinin yongalara penetrasyonunda artış, toplam pişirme süresinde kısalma, liflerin su tutma kapasitesinde artış, dövme süresinde kısalma, yongaların holoselüloz/lignin oranında artış, yongaların ekstraktif madde miktarında azalma, liflendirme esnasındaki enerji tüketiminde azalma, kağıdın direnç özelliklerinde (Kopma sağlamlığı, patlama sağlamlığı vb.) artış (Oriaran ve ark., 1990; Oriaran ve ark., 1991; Dawson-Andoh ve ark., 1991; Molina ve ark., 2002) olarak özetlenebilir.

2. 6. Biyoliflendirme İşleminin Verimliliğini Etkileyen Faktörler

Günümüze kadar yapılan çalışmalar biyolojik hamur üretimi üzerine birçok değişkenin etki ettiğini göstermiştir. Biyoliflendirme işleminin verimliliği üzerinde etkin olan faktörler aşağıda başlıklar halinde verilip, değerlendirilmiştir.(Akhtar ve ark., 1999).

2.6.1. Mantar Türü

Mantar ön muameleli biyolojik kağıt hamuru üretiminin ardında kahverengi veya yumuşak çürüklük oluşturan mantarların aksine beyaz çürüklük yapan mantarların hücre çeperi ana bileşenlerinden lignini tahrip edebilme özelliklerinden yararlanılması amaçlanmıştır. Yapılan çalışmalarda beyaz çürüklük oluşturan mantarların lignoselülozik materyallerin hücre çeperi bileşenleri üzerinde etkilerinin farklı olduğu tespit edilmiş olup bu mantarların bir bölümünün “selektif delinifikasyon” denilen lignin seçici degradasyonu gerçekleştirirken, bir bölümü de “eş zamanlı çürüklük” denilen selüloz ve lignin birlikte etkilendiği bir çürüklüğe neden oldukları gözlemlenmiştir. Hatta bir kısım beyaz çürüklük mantarının aynı substratın bir bölgesinde seçici, diğer bir bölgesinde ise eş zamanlı degradasyona neden olduğu da verilen bilgiler arasındadır (Kirk, 1973). Bu nedenle, biyolojik degradasyonda kullanılan mantar türlerinin lignoselülozik materyaller üzerinde inkübasyon süresine bağlı olarak nasıl bir degradasyona neden oldukları araştırılmaktadır. Lignini hangi zaman süreci içerisinde en fazla degrade ettiği ve buna karşın selüloz ve hemiselülozlara verdiği zarar derecelerinin ne kadar olduğu gibi özelliklerinin bilinmesi önemlidir (Kirk, 1987; Otjen ve Blanchette, 1987).

Bu noktada biyolojik muamele aşamasında hangi mantar türünün kullanılacağına karar vermek önem kazanmakta olup biyolojik liflendirmede kullanılması düşünülen bütün mantar türleri için bu araştırmalar öncelikle

yapılmaktadır. Beş farklı mantar türüyle muamele edilen huş odun yongalarından elde olunan kağıt hamurunun kappa numaraları değerlendirildiğinde kullanılan mantar türleri içerisinde en etkin olanının *C. subvermispora* olduğu gözlemlenmiş olup bu mantar muamelesi ile üretilen kağıt hamurunun kappa numarası %50 oranında azalmıştır. Ayrıca diğer mantarlardan *P. tremellosa*, *P. brevispora* ve *D. squalens* kappa numarasında dikkate değer azalmalara sebep olurken *P. chrysosporium* en az etkiyi göstermiştir (Young ve Akhtar, 1998).

2.6.2. Rutubet ve Sıcaklık

Rutubet, mantarların gelişmelerini sağlayan en önemli etkenlerden biridir. Hem mantarın yaşadığı ortamın nem içeriği, hem de havanın bağıl nemi mantarların gelişmesine uygun sınırlar içinde bulunmalıdır. Bu sınır mantarlar için daha çok % 80–90 oranında bulunmaktadır (Yalınkılıç, 1987). Mantarların aktivitesi üzerine etkili olan diğer bir faktör de sıcaklıktır. Mantarlar genel olarak -5°C ile $+40^{\circ}\text{C}$ arasında aktivitelerini sürdürürler. $+40^{\circ}\text{C}$ 'nin üzerindeki sıcaklıklara dayanamayarak ölürler (Yalınkılıç, 1987). Yapılan literatür çalışmaları incelendiğinde çalışmamızda kullanılan mantar türünün rutubet isteğinin 65 ± 5 RH (Relative Humidity), sıcaklık isteğinin ise $27\pm1^{\circ}\text{C}$ olduğu gözlenmiştir (Scott ve ark., 1995; Akhtar ve ark., 1997; Villalba ve ark., 2000; Bajpai ve ark., 2001; Bajpai ve ark., 2004).

Güçlü bir havalandırma olmaksızın 1 ton yonga yığnında biyolojik hamur üretimi yapıldığında, yonga yığnının merkezindeki sıcaklığın mantarın metabolik ısı üretiminin bir sonucu olarak inkübasyondan 48 saat sonra 42°C 'ye ulaştığı ifade edilmektedir. Bu sıcaklık mantarın büyümesini engellemekte ve bu bölgede yeterli biyolojik bozulma görülmemektedir. Bu sonuçlar itibariyle sıcaklığın mantar gelişimini sınırlayan bir faktör olabileceği düşünülebilir. Ancak sıcaklık mantarın

gelişimi ile yakından ilişkili olup, sınırlayan bir faktör değildir. Bu noktada mantar gelişimindeki azalmaya neden olan artan sıcaklık nedeniyle ortaya çıkan CO₂ gazı olmaktadır (Young ve Akhtar, 1998). Bu sebeple, güçlü bir havalandırma, yonga yığınının her yerinde rutubet ve sıcaklığın kontrolü açısından oldukça önemlidir (Akhtar ve ark., 1999). Bununla birlikte, mantarın üreteceği ısı, mantarın yonga yapısında meydana getirdiği değişiklikler, mantar için gerekli oksijen ve besleyici madde miktarı bu tip büyük ölçekli uygulamalarda iyi bilinmelidir.

2.6.3. İnkübasyon Süresi

Biyolojik ön muamele süresi olarak da isimlendirilen inkübasyon süresinin optimizasyonu üretilecek kağıt hamuru ve kağıt özellikleri açısından önem arz etmektedir. Bu noktada mantarın gelişme devreleri boyunca belirli periyotlarda alınan örneklerin kimyasal analizleri yapılarak biyolojik degradasyonun seyri belirlenmeli ve böylece ligninin en çok etkilenirken, diğer bileşenlerin en az zarar gördüğü optimal inkübasyon süreleri tespit edilmelidir.

Yapılan bir çalışmada *Pinus taeda* odun yongaları 2, 4 ve 6 hafta süresince *C. subvermispora* ile inkübe edilmiş ve artan inkübasyon süresine bağlı olarak odunda klason lignin içeriğinin sürekli düşüş gösterdiği gözlenmiştir. Ancak meydana gelen bu düşüşler 2. hafta sonunda daha hızlı iken, 4. haftadan sonra sabit hızla devam etmiştir (Villalba ve ark., 2000).

2.6.4. Odun Yongalarının Sterilizasyonu

Odun yongalarının yüzeyleri birçok mikroorganizmanın hücre ve sporları ile kontamine olabilmektedir. Arzu edilmeyen bu mikroorganizmalar biyoliflendirme işlemini engellediğinden dolayı odun yongaları üzerinde gerekli dekontaminasyonun sağlanması gerekmektedir. Birçok beyaz çürüklük mantarı endüstriyel olarak üretilmiş odun yongaları üzerindeki fungal ve bakteriyel flora ile rekabet edebilecek

kabiliyette değildir. Basidiomycetes'lerin büyümesini durduran başlıca mantarlar sıcaklığa bağlı olarak *Trichoderma sp.* türleri veya *Aspergillus fumigatus* olmaktadır (Hatakka ve ark., 2000). Yapılan birçok araştırma neticesinde, mantar inokulasyonundan önce odun yongalarının kısmi dekontaminasyonunun veya sterilizasyonunun gerekli olduğu, aksi halde sterilize edilmemiş odun yongaları üzerindeki mikroorganizmaların biyoliflendirici mantarın etki mekanizmasını önemsiz hale getirdiği belirlenmiştir.

Kontaminasyonu önleyici çeşitli kimyasallar kullanılmakta ise de, bir yandan pahalı olmaları, diğer yandan arzu edilen mikroorganizmaların gelişimini önledikleri için fazlaca önem kazanmamışlardır. Bu amaç doğrultusunda çeşitli kimyasallar test edilmiş ve sodyum bisülfid, sodyum metasülfid ve sodyum hidrosülfidin daha fazla etkili olduğu gözlenmiştir. Bisülfid etkili olmasına rağmen, basit bir buharlama işleminin aynı derecede etki gösterdiği bulunmuştur. Odun yonga yüzeylerinin atmosferik basınç altında buharla muamele edilerek dekontaminasyonunun sağlanması hem kolaylıkla yapılabilmekte, hem de yeterli olmaktadır. Otoklav ile gerekli sterilizasyonun sağlanması yerine odun yongalarının atmosferik basınç altında 10 dakika buharla muamele edilmesinin karşılaştırılabilir sonuçlar ortaya koyduğu belirtilmiştir. Yapılan literatür çalışmalarında ise daha çok biyoreaktör içerisine konan odun yongalarının otoklavda 121 °C'de ve 15 psi'de 20 dakika (Scott ve ark., 1995; Akhtar ve ark., 1997) otoklavlanmasıyla gerekli sterilizasyonun sağlandığı belirtilmektedir, ancak atmosferik buharla dekontaminasyonun sağlandığı çalışmalar da literatürde mevcuttur (Hunt ve ark., 2003).

Mantarların kontaminasyona neden olan mikroorganizmalar ile mücadele edebilme yeteneğini belirlemek amacıyla mikroorganizmaların Fluorescein Diasetat (FDA)'ı hidrolize etme yeteneğine dayanan yöntemler geliştirilmiştir. FDA hidrolitik

aktivitesinin leke tutucu mikroorganizmaların ve odunun miktarıyla yakından ilişkili olduğu belirtilmiş olup yonga buharlama süresinin artışına paralel olarak FDA hidrolitik aktivitesinin düştüğü gözlenmiştir. Yapılan çalışmalar neticesinde buharlama süresindeki 1 dakikalık artışın FDA hidrolitik aktivitesinin %50 oranında düşmesine sebep olduğu görülmüştür. Yapılan çalışmalar *C. subvermispora* ve *O. piliferum* mantarlarının diğerlerine oranla, arzu edilmeyen mikroorganizmalara karşı daha mücadeleci bir yapı içinde olduklarını göstermiştir (Fisher ve ark., 1994).

2.6.5. Inokulum (Aşılama)

Endüstriyel mikrobiyal yöntemlerde inokulum önemli bir yer tutmaktadır. Aşılama miktarı, fiziksel formu, yaşı ve yaşama kabiliyeti gibi değişkenler inokulasyonda etkili olan mekanizmalardır. Yapılan bir çalışmada farklı aşılama miktarları(%2, %5, %10 ve %20; kuru ağırlığa oranla) *P. chrysosporium* mantarı ile kavak yongaları üzerinde denenmiş ve en düşük miktarda gerçekleştirilen aşılamanın diğer üçüne oranla daha düşük enerji tasarrufu sağladığı gözlenmiştir (Kirk ve ark., 1993).

Diğer bir çalışmada ise *C. subvermispora* gibi spor üretmeyen mantarların parçalanmış miselleri inokula olarak kullanılmıştır. 1 ton odun başına 3 kg mantar kullanımının kontrol örnekleri (muamele edilmemiş yongalar) ile karşılaştırıldığında mekanik hamur üretiminde enerji tüketimini düşürdüğü ve kağıdın direnç özelliklerini artırdığı belirtilmiştir (Akhtar ve ark., 1996).

Sterilize edilmemiş mısır şekeri (CSL-corn step liquor-mısır şekeri) genellikle aşılamada kullanılan mantar miktarını azaltmada kullanılır. CSL, kuru mısırın ılık sülfirik asit solüsyonuna batırılması şeklinde ıslak (yaş) yöntemle üretilen yoğunlaşmış, fermente olmuş bir mısır ekstraktıdır. Yöntem süresince çözülebilir partiküller serbest hale gelmekte ve bakteriler vasıtasıyla laktik asit fermentasyonuna

uğramaktadırlar. CSL kompozisyonu çeşitli farklı şekillerde belirtilmektedir. Tipik bir CLS kompozisyonu Çizelge 3’te gösterilmiştir.

Çizelge 3. CSL Kompozisyonu (Villalba, 2003).

Kuru madde	50.7%
PH	3.90
Protein	%40.8 (kuru ağırlık)
Laktik asit	%16.0 (kuru ağırlık)
İndirgenmiş şekerler	%12.8 (kuru ağırlık)
Diğerleri*	ppm

* Metal iyonları, vitaminler, amino asitler ve diğer bileşikler küçük miktarda bulunmaktadır.

Eklenen bu besin maddesi mantar biyokütlesinin artmasına yardımcı olduğu gibi, mantarın odun yongalarının iç kısımlarına doğru kolonize bir şekilde ilerlemesine de yardımcı olmaktadır. Desteklenen besi ortamı sayesinde mantar daha hızlı bir şekilde gelişmekte ve ortamda yeterli besin maddesi ve azot kalmayınca da hızla lignini degrade etmeye başlamaktadır (Young ve Akhtar, 1998). Bunun haricinde besi ortamının bulunmadığı ortamlarda (sadece su destekli ortam) mantarın odun yongalarının iç kısmına doğru nüfuz ettiği, bulunduğu ortamlarda ise mantarın yonga yüzeyine doğru bir gelişme gösterdiği görülmüştür (Young ve Akhtar, 1998). Diğer önemli bir noktada mısır şekeri veya glukoz destekli ortamlarda mantarla muamele edilen odun yongalarında ağırlık kaybının 5. günden itibaren başlaması, sadece su destekli ortamlarda ise 14. günden sonra başlamasıdır (Young ve Akhtar, 1998). Ayrıca yapılan çalışmalar neticesinde besin destekli ortamın kullanılacak mantar biyokütlesinin miktarını önemli ölçüde düşürdüğü belirlenmiş olup, biyolojik muamelenin maliyet uygulamaları üzerinde en etkin faktör olabileceği tespit edilmiştir (Akhtar ve ark., 1997). Aşılama sıvısına CSL ilavesiyle kullanılan mantar kütlesinde önemli düşüşler meydana gelmiştir. *C. subvermispora* misellerine %0,5 CSL ilave edildiğinde aşılama miktarı odunun tonu başına 5g ‘a kadar düşmüş ve

Pinus taeda'nın biyomekanik hamur üretiminden %30 enerji tasarrufu sağlanmıştır (Akhtar ve ark., 1996).

2.6.6. Besin İlavesi

Inokulum'a nitrojen ilavesinin mantar biyokütlesinin oluşmasına yardımcı olduğu ve biyoliflendirme işleminin performansını arttırdığı bildirilmiştir. *P. chrysosporium* mantarının kavak yongalarıyla olan inokulasyonundan önce iki farklı konsantrasyonda (500 ppm N ve 5, 000 ppm N) glutamik asit ilavesi uygulanmış ve sonuçta mantar biyokütlesinin artış gösterdiği ve mekanik hamur üretiminde enerji tüketiminin düştüğü gözlenmiştir. Ancak yüksek nitrojen seviyesinde odun maddesinde meydana gelen kayıplar dolayısıyla elde edilen yararlar düşüş göstermeye başlamıştır (Kirk ve ark., 1993).

2.6.7. Havalandırma

Çoğu katı substrat fermentasyon yönteminde var olan aerobik mikroorganizmaları uzaklaştırmak adına katı partiküllerin yüzeylerindeki biyokütleyle oksijen transferi yapmak büyük önem arz etmektedir. Havalandırmanın katı substrat fermentasyonunu tamamıyla etkilediği bilinmekte olup, bu yöntemde ligninolitik aktivite oksijen varlığına bağlı bulunmaktadır. Hava akış oranının biyoliflendirme üzerindeki etkisini araştırmak için kavak yongaları üzerinde *C. subvermispora* ile yürütülen bir çalışmada orta ve yüksek hava akış oranının mekanik hamur üretiminde enerji tüketimini azalttığı ve direnç özelliklerini arttırdığı belirlenmiştir. Düşük hava akış oranı ise (1 h/gün için 1 ft³/h) optimum değer in altında sonuçlar vermiştir (Kirk ve ark., 1993).

2.6.8. Odun Türü

Marton ve arkadaşları (1988) *P. chrysosporium* ile muamele edilen *Picea abies*, *Picea mariana*, *Betula papyrifera*, *Betula pendula*, *Populus* ve *Eucalyptus* yongalarının liflendirmede tükettikleri enerjileri karşılaştırmışlar ve *Betula* türleri arasındaki farklı hücresel yapının mantarın oduna penetrasyonunda farklılıklara neden olduğunu gözlemlemişlerdir. *Betula pendula* çok daha fazla kırılğan yapıya sahip olduğundan mantarın oduna olan penetrasyonu çok daha zor gerçekleşmiştir. Ayrıca okaliptüs odunun daha yüksek lignin ve ekstraktif madde içeriğine sahip olması, daha ince ve sıkı lifler arası bağa sahip olması nedeni ile mantar muamelesine eşsiz bir şekilde karşılık verdiği dolayısıyla kavak ile karşılaştırıldığında enerji tüketimini azaltmak ve direnç özelliklerini arttırmak amacıyla daha yüksek aşılama miktarına ihtiyaç duyduğu belirlenmiştir.

Genel olarak kavak odununun diğer sert ağaçlardan ve ladin'den daha iyi bir şekilde mantar muamelesine karşılık verdiği görülmüştür. İnkübasyon süresi kritik bir parametre olup, her bir ağaç türü için farklı minimum inkübasyon süreleri tespit edilmiştir. *C. subvermispora*'nın, gerek mekanik hamur üretiminde tüketilen enerji miktarını azaltmak noktasında, gerekse kağıdın direnç özelliklerini artırmak noktasında ladin, kavak ve çam (özellikle *Pinus taeda*) yongaları üzerinde aktif bir etkiye sahip olduğu bildirilmiştir (Kirk ve ark., 1993).

Bunun dışında *P. chrysosporium* mantarının göknar yongalarında kayın yongalarına göre daha etkili olduğu belirtilmektedir (İstek ve ark. 2005). Başka bir çalışmada *C. subvermispora* mantarının *Pinus sylvestris* yongalarına nazaran *Acer saccharum* yongaları üzerinde daha etkin olduğu gözlemlenmiştir (Çöpür ve ark. 2003).

2.6.9. Yaşlandırılmış Odun (wood aging) Kullanımı

Odun yaşı ve yonga depolama koşullarının (donmuş, taze, 3-5 gün yaşlandırılmış) biyoliflendirme işlemi üzerinde herhangi bir etkiye sahip olmadığı bildirilmiştir. Ancak yapılan denemelerin yüksek aşılama miktarıyla gerçekleştirilmiş olmasının sonuca etki etmiş olabileceği düşünülmektedir. Yaşlandırma işleminin ve aşılama miktarının ortak etkisi, üzerinde çalışması gereken önemli bir konudur (Akhtar ve ark., 1998).

2.6.10. Yonga Boyutları

Reaksiyon süresi üzerindeki en önemli etki yonga boyutlarıdır. Mini yongalar ticari boyuttaki yongalara göre daha büyük yüzey alanına sahip olmaları nedeniyle mantar miselleriyle daha hızlı bir şekilde reaksiyona girebilmektedirler. Yu ve Eriksson (1985) beyaz çürük mantarları tarafından meydana getirilen ağırlık kaybının tersine bir şekilde odun bloklarının kalınlığıyla orantılı olduğunu belirlemiştir.

Sachs ve ark. (1991) ise partikül büyüklüğü üzerinde mantarların gelişimini takip etmişlerdir. 6-ve 19- mm ‘lık kavak yongaları üzerinde *P. chrysosporium* mantarının gelişimi elektron mikroskopuyla incelenmiş ve partikül büyüklüğünün mantar gelişimi üzerinde çok küçük bir etkiye sahip olduğu gözlenmiştir.

2.6.11. Odun Yongalarının Hareketi

Kavak yongaları farklı beyaz çürüklük mantarlarıyla sabit tepsili biyoreaktör ve sabit ve hareketli drum biyoreaktörlerde 4 hafta süreyle inkübasyona maruz bırakılmıştır (Leatham ve Myers, 1990).Yapılan çalışmada bazı mantarların yonga hareketliliğine karşı hassas olduğu görülmüştür. *P. chrysosporium* için mekanik hamur üretiminden sağlanan enerji tasarrufu sabit tepsili veya drum biyoreaktörler kullanılması durumunda benzerlik göstermiş (%20) , hareketli drum biyoreaktör kullanılması durumunda ise tüketilen enerji %38 oranında düşüş göstermiştir.

2.7. Mantarların Uygulama Yöntemleri

Biyolojik kağıt hamuru üretiminde kullanılacak mantar odun yongalarına inoküle edilmektedir. İnokülasyon farklı şekillerde gerçekleştirilmekte olup, bu yöntemlerden biri (seed inoculum) önce az miktardaki odun yongasının mantarla muamele edilmesi, daha sonra da mantarla muamele edilmiş kısmın daha fazla miktardaki odun yongalarına karıştırılması suretiyle biyolojik ön muamelenin gerçekleştirilmesi esasına dayanmaktadır (Blanchette ve ark., 1991). Diğer bir yöntem ise sıvı aşılama (liquid inoculum) esasına dayanmakta olup mantar biokütlesinin sıvı karışım (patates agarı+maya ekstraktı+saf su) içerisinde gelişmesi sağlanmakta ve daha sonra bu karışım sprey halinde odun yongalarına uygulanmaktadır (Akhtar, 1994). Her iki durumda da inkübasyon süresi, sıcaklık ve nispi rutubet değişkenleri mantar türüne göre tespit edilmeli ve ortamdaki mantar gelişimi sağlanmalıdır.

2.8. Hamur Üretim Yöntemleri Üzerindeki Araştırmalar

2.8.1. Biyomekanik Hamur Üretimi

1950' li yıllarda Lawson ve Still (1957) kağıt hamuru ve kağıt endüstrisinde beyaz çürüklük mantarlarının potansiyel olarak kullanımını ortaya koymuşlardır. Biyoliflendirme yöntemi üzerinde yürütülen ilk çalışmalar, mekanik hamur üretiminden önce odun yongalarının beyaz çürüklük mantarlarıyla muamele edilmesini kapsayan yöntemler olmuştur. Mekanik hamur üretiminde, üzerinde odaklanması gereken asıl konu liflendirmede tüketilen enerji miktarı ve sırasıyla lif özellikleri ve ağartılabilir kalitede hamur üretimi olmaktadır.

P. chrysosporium 1972 yılında İsveç'te izole edilmiş ve optimum sıcaklık isteğinin yüksek olması, hızlı büyümesi ve huş odununda çürümenin başlangıç

evrelerinde seçici lignin degradasyonuna sebebiyet vermesi ile karakterize edilmiştir (Henningson ve ark., 1972; Villalba, 2003).

Kızılağaç yongalarının termomekanik hamur üretiminden (TMP) önce *P. chrysosporium* ile olan muamelesinin kaba TMP hamurunun ikincil liflendirilmesinde gerekli olan enerji tüketimini düşürdüğü gözlenmiştir (Bar-Lev ve ark., 1982). PFI dövücünün enerji gereksinimi % 25-30 dolaylarında düşüş göstermiştir. Ayrıca liflendirme öncesinde alkali içinde şişmiş olan kontrol ve mantar muameleli yongaların enerji gereksinimlerindeki değişimler değerlendirilmiş olup muamele edilmiş yongaları liflendirmek için gerekli olan enerjinin kontrol yongalarını liflendirmek için gerekli olan enerjiden %50 daha az olduğu gözlenmiştir.

Marton ve Arkadaşları (1988) *Picea abies*, *Picea mariana*, *Betula papyrifera*, *Betula pendula* ve kavak yongaları ile *P. subvermispora* ve *P. chrysosporium* mantarlarını muamele etmişler ve biyolojik işlemin mekanik hamur üretiminde gerekli olan enerji tüketimini % 15-20 arasında düşürdüğünü tespit etmişlerdir. Ayrıca kavak odunun ladine göre aynı freeness (CSF-Kanada Serbestlik Derecesi) değerine ulaşmak için liflendirme sırasında daha fazla enerji tükettiği görülmüştür.

Leatham ve ark. (1990) kavak ve çam yongalarının mantarla muamele edilmesi sonucunda mekanik hamur üretim süresince enerjiden önemli derecede tasarruf sağlandığını ve mantar türü, odun türü ve yonga hareketliliğinin tüketilen enerji miktarı üzerinde önemli bir değişken olduklarını tespit etmişlerdir.

C. subvermispora mekanik hamur üretiminde tüketilen enerji miktarını azaltan ve kâğıdın direnç özelliklerini arttıran etkisi ile en iyi mantar türü olarak tespit edilmiştir (Akhtar ve ark., 1992).

Ladin yongalarının *Sporotrichum pulverulentum* ile 14 gün süresince muamele edilmesi sonucunda liflendirmede gerekli olan enerji tüketimi kontrol örnekleri ile karşılaştırıldığında % 23 düşüş göstermiştir (Kirk ve ark., 1983). Araştırmacılar mekanik hamur üretiminden önce odun yongalarının mantarla ön muamelesinin endüstriyel olarak kullanılması ile yılda 2234 milyar juole enerji tasarrufu sağlanabileceğini tahmin etmektedirler.

Biyomekanik hamur üretimi üzerinde sürdürülen geniş ölçekli çalışmalar bu yöntemin teknolojik olarak uygulanabilirliğinin mümkün olduğunu göstermektedir. 50 tonluk yonga yığınının TMP üretiminden önce mantarla muamele edilmesi sonucu liflendirmede tüketilen enerji miktarı %50 azalmış ve direnç özelliklerinde artış göstermiştir (Scott ve ark., 1998).

2.8.2. Biyosülfite Hamur Üretimi

Odun yongalarında mantar ön muamelesinin sodyum ve kalsiyum bazlı sülfite pişirmelerinde nasıl bir etki gösterdiği Scott ve arkadaşları (1995) tarafından araştırılmıştır. Yaptıkları çalışmada *C. subvermispora*'nın iki farklı türü (CZ-3 ve SS-3) *Pinus taeda* yongaları ile inkübe edilmiş ve mantar muamelesinden sonra elde edilen sodyum bisülfite hamurlarında kontrol hamuru ile karşılaştırıldığında verimde çok az bir düşüş gözlenirken, kappa %27 oranında azalmıştır. Bununla birlikte CZ-3 ve SS-3 ile muamele edildikten sonra üretilen kalsiyum asit sülfite hamurlarında kappa numarasındaki düşüşler aynı verimdeki kontrol hamurları ile karşılaştırıldığında sırası ile %18 ve %21 oranında gözlenmiştir.

Yapılan bir diğer çalışmada huş ve ladin odun yongaları sülfite hamur üretiminden önce 2 ve 4 hafta süreyle inkübe edilmiştir. 2 hafta sonunda odun hücreleri üzerinde mikroskopik olarak belirgin bir saldırı ve delignifikasyon elde edilmesine rağmen kappa numarasının sülfite pişirmeden sonra çarpıcı bir şekilde

düşüş gösterdiği (%30) belirtilmiştir. Her iki odun türü de *C. subvermispora* adı verilen beyaz çürüklük mantarıyla aynı sürede muamele edildiğinde kappa numarasındaki düşüşler benzerlik göstermiştir (Villalba, 2003).

2.8.3. Biyokraft Hamur Üretimi

Biyolojik ön muamele sonrasında yapılan kraft pişirmeleri kontrol kraft pişirmesiyle karşılaştırıldığında hamur veriminin ve viskozitesinin arttığı, kappa numarasının ise düştüğü tespit edilmiştir (Molina ve ark., 2002; Oriaran ve ark., 1991; Oriaran ve ark., 1990). Bunun aksine Çöpür ve ark., (2003) yapmış olduğu çalışmada hamurun verim, viskozite ve kappa değerlerinin ağaç türüne bağlı olarak değişiklik gösterdiğini belirtmiştir. Biyolojik ön muameleye tabi tutulmuş *Acer saccharum* ve *Pinus sylvestris* odun yongaları üzerine yapılan çalışmada *Acer saccharum*’ dan elde edilen kağıt hamurunun kappa, viskozite ve verimin değerlerinin düştüğünü; *Pinus sylvestris* odun yongaları ile yapılan çalışmada ise kappa ve viskozitenin artıp, verimin düştüğünü tespit etmiştir.

Chen ve Schmidt (1995) odun yongalarının sterilizasyonu ve inkübasyon koşullarını dikkate almaksızın *P. chrysosporium* ile degrade olmuş kavak yongalarından elde edilen kağıt hamurlarının ve üretilen kağıtların özelliklerini değerlendirmişlerdir. Mantar aşılanan yongalar balyalar halinde paketlenmiş ve hamur üretiminden önce 8.5 hafta süreyle depolanmıştır. Yonga sterilizasyonunun ve inkübasyon koşullarının dikkate alınmadığı bu sistem biyoliflendirme için daha uygun bir fermentasyon sağlamış ve buna paralel olarak elde edilen kağıtların patlama ve yırtılma gibi direnç özellikleri artış göstermiştir. Ayrıca biyolojik ön işlem görmüş yongalardan elde edilen hamurların serbestlik değerinin kontrol hamurlarından daha düşük olduğu belirlenmiştir.

Çürütölmüş odun örneKlerinde, uzaklaştırlan her bir odun bileşeninin miktarından daha çok kalıntı lignin yapısındaki değışmeler delignifikasyon işlemini etkilemektedir. Ferraz ve ark. (2000) *C. subvermispora* ile muamele edilen *Pinus taeda* yongalarında kalıntı lignin yapısındaki değışmeleri karakterize etmiştir. Kalıntı lignin yapısındaki değışmeler DFRC (Derivatization Followed by a Reductive Cleavage – derivatizasyonu takip eden indirgeyici bir bölünme) tekniğıyle belirlenmiş olup aryl-ether bağlarının biyodegradasyon süresinin bir fonksiyonu olarak %10.6 dan %3.7 ye düştüğü gözlenmiştir. Elde edilen sonuçlar biyolojik muamele süresince lignin depolimerizasyonunun yoğun bir şekilde geliştiğini göstermiştir.

2.9. Pişirme Yöntemleri

2.9.1. Kraft Hamur Üretimi

Pişirme kazanı içeRisine konan odun yongaları 160-170⁰C’de pişirme çözeltisi ile muamele edilir. Kraft pişirmesinin temel amacı ligninin odun yongasından çözünerek uzaklaştırılmasıdır. Kraft pişirme çözeltisi ile karbonhidrat kısmından kayıp vermeden kağıt hamuru üretmek mümkün değildir. Bunun neticesinde tipik kraft pişirme işleminde odundaki ligninin %80’i, hemiselülozların %50’si ve selülozun da %10’u çözünmektedir (Kleppe, 1970).

Kraft yönteminde, pişirme çözeltisi NaOH (soyüm hidroksit) ve Na₂S (sodyüm sülfıt) kimyasal maddeleri kullanılarak hazırlanmakta olup beyaz çözelti olarak isimlendirilmektedir. Beyaz çözelti kuvvetli alkali solüsyon olarak nitelendirilir (pH~14). Pişirme çözeltisinin laboratuvar koşullarında hazırlanması, bu iki kimyasal maddenin pişirme koşullarında ön görülen miktarlarda alınıp suda çözündürölmesiyle, fabrikalarda ise geri kazanma ünitelerinde elde edilen yeşil

çözeltilinin kostikleştirilmesi yoluyla gerçekleştirilmektedir. Kraft pişirme çözeltisinin başlıca aktif elemanları olarak OH^- ve HS^- iyonları dikkati çekmekte olup, ortamdaki sülfidite yüzdesini tayin eden Na_2S 'in pişirme sırasında selülozun degradasyonunu önlediği ve pişirmeyi süratlendirdiği yolunda görüşler vardır (Bostancı, 1987).

Ağartılabilir özellikte ve sağlam bir kimyasal hamur üretmek için kontrol edilmesi gereken iki önemli etken vardır. Bunlardan birisi hamurda kalan lignin oranı, diğeri ise selülozun kimyasal bozunmaya uğrama derecesidir (viskozitesi). Kolay ağartılan ve direnç özellikleri yüksek bir hamur elde etmek için birbiriyle çelişen bu iki değerin titizlikle kontrol edilmesi pişirme işleminin hamur kalitesi açısından bir optimum noktada bitirilmesi gerekir (Kırcı, 2000).

2.9.2. Polisülfid Pişirmesi

Kraft yönteminde kuvvetli alkalen ortamda meydana gelen polisakkarit bozunma reaksiyonları neticesinde verim kaybı daha fazla olmaktadır. Ancak bazı maddelerin ilavesi ile veya pişirmenin yapıldığı ekipmanlarda yapılacak değişikliklerle kraft pişirmesinin modifiye edilmesi belirli sınırlar içerisinde kraft hamurunun verimini arttırmaktadır.

Son yıllarda hamurun verimini artırmak adına ya da hamur özelliklerini değiştirmek adına kraft ya da alkali pişirmelerine birtakım kimyasalların eklenmesini kapsayan çeşitli metotlar üzerinde çalışılmaktadır. Dithionite, sodyum borhidrür, hidrazine gibi bazı kimyasallar şimdiye kadar teorik olarak ilgi çekmekle birlikte bu tip kimyasalların kullanımı geleneksel kraft yönteminin üretim maliyetlerini aşmayacak düzeyde olmalıdır (Venemark, 1964).

Hamur verimini artırmak ya da hamur özelliklerini değiştirmek adına bilinen en eski yöntem polisülfid (PS) ilavesidir. Hamurun tonu başına yaklaşık 70 kg sülfür kullanıldığında yumuşak odun tüketiminin %10-12 oranında azaldığı belirtilmiştir.

Piştirme sıvısından sülfürü geri kazanmak mümkün olduğu takdirde sülfür ilavesi ek bir kazanç sağlayabilir. PS'nin küçük bir miktarı çeşitli yollarla piştirme sıvısından tekrar geri kazanılabilir; ancak yüksek miktarı sülfitin polisülfite dönüştürülmesinde bazı önemli sonuçlar doğurmaktadır. Sülfitin polisülfite dönüştürülmesinde yatırım ve işletme maliyetleri de oldukça artmaktadır. Dolayısıyla bu noktada yöntemin kraft piştirmesinden daha ucuz olabileceğini düşünmek zor bir olasılık olmakla birlikte dikkat edilmesi gereken tek husus poli-hamurların kalitesi olmaktadır (Venemark, 1964).

PS piştirmesinde kraft piştirmesine göre hidroksit konsantrasyonu daha hızlı düşmektedir. Çünkü polisülfit sülfürü hidroksit ile tepkime vermekte ve organik materyalleri oksidize etmektedir. Düşük hidroksit konsantrasyonuna rağmen lignin çözünürlüğü PS piştirmelerinde kraft piştirmelerine nazaran daha hızlı olmaktadır. Yapılan çalışmalar neticesinde indirgeyici ve oksidize edici kimyasallar varlığında kraft piştirmesinde karbonhidratların hidroksiti çok hızlı bir şekilde tükettiği ve bunun neticesinde lif çeperi içerisindeki hidroksit konsantrasyonunun lignini çözecek kadar yeterli olmadığı ve bunun sonucunda yüksek hidroksit konsantrasyonuna rağmen lignin çözünürlüğünün daha düşük olduğu görülmüştür (Venemark, 1964).

Ivanova ve ark.(1974) yapmış oldukları çalışmada çam ve huş gibi iki farklı odun türünü kraft ve PS metotlarıyla piştirmişler ve çalışmalarının neticesinde PS piştirmesinin kraft piştirmesine nazaran daha seçici olduğunu ve artan sülfür konsantrasyonu bu seçiciliğin daha da arttığını tespit etmişlerdir. Çam odunlarında hamur verimi ilave edilen her bir PS sülfürü yüzdesi için %1-1,5 oranında artış gösterirken, hamur veriminde artış tespit edilmiştir. Mekanik direnç özelliklerinin ise PS hamurlarında kraft hamurlarından daha iyi sonuçlar verdiği belirlenmiştir. Bir başka çalışmada PS ilavesinin hamurun yırtılma direnci üzerinde

olumsuz bir etki göstermediği (Jiang, 1995), diğer bir çalışmada ise PS ilaveli hamurlarda polisülfite hamurlarının liflendirilmesindeki farklılığa bağlı olarak yırtılma direncinin daha düşük, zero span çekme direncinin ise daha yüksek olduğu belirtilmiştir (Jameel ve ark., 1995).

PS hamur üretiminde hamurun verimi sülfür miktarına, eklenen polisülfite, odun türüne ve hamur üretim koşullarına bağlı olmak üzere farklılık göstermektedir. Alkalen koşullar altında ve 100-120° C gibi nispeten düşük sıcaklık derecelerinde polisülfür bileşiklerinin polisakkarit zincirlerindeki indirgen uç gruplarını aldonik asitlere oksitlediği ve bu şekilde soyulmaya karşı kararlı hale getirdiği bilinen bir durumdur (Venemark, 1964, Hakanen ve Teder, 1997).

Tam kuru odun ağırlığına oranla %12 oranında PS sülfürü kullanımı hamurun verimini %11 oranında arttırmıştır (Sanyer ve Laundrie, 1964). Tam kuru odun ağırlığına oranla %3 oranında kullanımı ise 35 kappa numarasında hamurun verimini %4,5 oranında arttırmıştır (Dillen ve Noreus, 1967). Bunun dışında gerçekleştirilen yüksek delignifikasyonlu pişirmelerde (extended cooking), tam kuru odun ağırlığına oranla %2 PS ilavesinin 25-30 kappada hamurun verimini %2.5, 15-25 kappada %2 ve 8-12 kappada %1.5 oranında artırdığı belirtilmiştir (Jiang, 1995). Yapılan benzer bir çalışmada da artan delignifikasyon derecesine bağlı olarak verimdeki artışlar giderek azalmıştır (Jameel ve ark., 1995).

PS hamurları kraft hamuruyla karşılaştırıldığında aynı pişirme koşullarında daha düşük kappa numaralarında hamurlar vermektedirler (Dillen ve Noreus, 1967). PS ilavesiyle artan hamur verimi yanında elde edilen daha düşük kappa derecesindeki hamurların ağartma masraflarını azaltabileceği, ağartma atık sularından kaynaklı çevresel etkileri minimuma indirebileceği (Pekkala, 1986;

Jameel ve ark., 1995); ancak pişirme sonrası kimyasalların geri kazanımının da daha zor olacağı ifade edilmiştir (Venemark, 1964; Hakanen ve Teder, 1997; Jameel ve ark., 1995; Griffin ve ark., 1995).

Ayrıca PS hamurlarındaki ligninin kraft hamurlarındaki lignine göre ağartmada daha fazla reaktif olması yönüyle düşük kappadaki PS hamurlarının ağartılmasının daha kolay olduğu belirlenmiştir (Teder ve Tormund, 1981; Pekkala, 1986).

Aynı kappa numarasındaki kraft ve PS hamurları viskoziteleri açısından değerlendirildiğinde PS pişirmesinde selüloz degradasyonunun daha az olması nedeniyle viskozite değeri daha yüksek olmakta ve ayrıca odun bileşenlerindeki kaybın daha az olması yönüyle de hamurun verimi artış göstermektedir (Dillen ve Noreus, 1967; Çöpür ve ark., 2003). Yumuşak ağaçlarda PS hamurunun verimindeki artış glukomannan ve xylan'ın stabilizasyonu ile gerçekleşirken (Jiang, 1995), sert ağaçlarda verimdeki artış xylan'ın tek başına stabilizasyonu ile gerçekleşebilmektedir (Gullichsen, 1999). Lignin Reaksiyonları: Orta lamel %70–80 oranında ligninden oluşmaktadır. Ancak bu toplamda %70–80 oranında lignin içeren sekonder çepere göre daha incedir. Sonuç olarak orta lamel toplam ligninin %20'sini oluşturmaktadır. Kraft hamur üretimi süresince lifleri birbirine yapıştırıcı rol oynayan ve orta lamelde bulunan ligninden önce sekonder çeperdeki lignin çözünmektedir (Alen, 1999). Geleneksel yumuşak odun kraft hamurlarının üretiminde ligninin çözünmesi (uzaklaştırılması) başlangıç, yoğun ve kalıntı delignifikasyonu olmak üzere üç safhada gerçekleşmektedir. Başlangıç delignifikasyonu fazı 140⁰C'nin altında vuku bulmaktadır ki, bu fazda uzaklaştırılan lignin miktarı oldukça azdır (toplam ligninin %20-25'i). Uzaklaştırılan hemiselüloz miktarının yaklaşık %40 civarında olması

yönüyle de bu safhanın seçiciliği oldukça düşüktür (Sjostrom, 1993; Alen, 1999). 140°C'nin üzerine çıkıldığında delignifikasyon hızlanırken, yoğun delignifikasyon safhası olarak isimlendirilen bu safhada ligninin %70-80'i uzaklaştırılmış olur. Bu noktada lignin çözünmesi S₂ tabakasında başlar ve orta lamele doğru ilerler. Bu safhadaki delignifikasyon tamamıyla OH⁻ ve HS⁻ iyon konsantrasyonuna ve sıcaklığa bağlıdır. Yoğun delignifikasyon sonuna doğru orta lameldeki lignin tükendiğinde, lifler hiçbir mekanik güce ihtiyaç duyulmadan serbest hale gelmeye başlar (Lindholm, 1993). Bir süre sonra uzaklaştırılan lignin miktarı hızla azalır ve delignifikasyon eğrisi yatayla paralele yakın bir eğim göstermeye başlar. Kalıntı delignifikasyonu denilen bu safhada karbonhidratların bozunma reaksiyonları başlar (Sjostrom, 1993; Alen, 1999).

Lignin fenil propan üniteleri arasındaki bağların türüne bağlı olarak delignifikasyona karşı farklı davranışlar sergilemektedir. Şöyle ki, ether bağları özellikle β-aril ether bağları pişirme süresince reaktif iken, karbon-karbon bağları genellikle daha stabildir. α ve β-aril ether bağları yumuşak ağaç ve sert ağaçlarda fazla miktarda bulunan bağ türleridir. Bu bağların kopması lignin degradasyonunu oransız (aşırı) bir şekilde artırmaktadır. Kraft yöntemiyle degrade edilen lignin doğal lignine göre daha az β-O-4 yapısına sahip olmaktadır (Gellerstedt ve Lindfors, 1984). Bu yüzden kraft pişirmesi süresince en önemli reaksiyonlar; serbest fenolik yapılardaki α ve β-aril ether bağlarının kopması, fenolik olmayan yapılardaki β-aril ether bağlarının kopması, demetilasyon ve kondensasyon reaksiyonları olarak dikkati çekmektedir.

Karbonhidrat Reaksiyonları: Kraft pişirmesinde delignifikasyonun seçiciliği oldukça düşüktür ve özellikle başlangıç delignifikasyonu safhasında olmak üzere karbonhidratların önemli miktarı, çoğunlukla hemiselülozlar, çözünmeye

uğramaktadırlar. Karbonhidratların çözünmesi yoğun delignifikasyon fazında yavaşlarken, kalıntı delignifikasyonu fazında tekrar hızlanmaktadır. Selüloz alkali atağına karşı en dayanıklı polimer olmasına karşı kraft pişirmesi sırasında odundaki selülozun yaklaşık olarak %5'i çözünüp pişirme çözeltisine geçmektedir. Kalıntı delignifikasyonu fazında selülozun bozunma reaksiyonu oldukça yüksek bir seviyeye ulaşır ki bu evrede selüloz yüzeyine tutunan ligninle birlikte çözünür (Fengel ve Wegener, 1989).

Kraft pişirmesi sırasında meydana gelen reaksiyonlar alkelen şişme, asidik yapıların nötralleşmesi, ester yapıların hidrolizi, hemiselülozların tekrar lifler üzerine tutulması, soyulma ve durdurma reaksiyonları, glikozitlerin hidrolizi (alkalen hidroliz, polisakkaritlerin oksidasyonu ve lignin hidrolizi) şeklinde gerçekleşmektedir. Bu reaksiyonların hamur kalitesi üzerindeki etkisi incelendiğinde hemiselülozların tekrar lif üzerine tutulmasının hamurun verimini arttırdığı, diğer reaksiyonların ise hamur verimini düşürdüğü tespit edilmiştir. Sonuçta, ağartılabilir özellikte bir kraft hamuru üretiminde, çözeltideki alkalinin büyük bir kısmı (%75'i) yukarıda bahsedilen reaksiyonlarda kullanılırken, ancak %25'i amaçlanan delignifikasyon reaksiyonlarında tüketilmektedir (Christensen, 1981). Kraft pişirme yöntemi ve hamur verimi üzerinde etkin olan faktörler;

1. Kullanılan odun hammaddesine bağlı faktörler: Odun türü, yonga kalitesi, rutubet içeriği.

2. Pişirme çözeltisine bağlı faktörler: Kullanılan alkali miktarı, sülfidite oranı

3. Pişirme işleminin uygulanışına bağlı faktörler: Kimyasal uygulama, çözelti\yonga oranı, maksimum sıcaklık, sıcaklık döngüsü ve süre olarak sıralanabilir. Ayrıca pişirme sonrasında elde edilen siyah çözeltiden beyaz çözelti

hazırlanması ve siyah çözeltinin yakılmasıyla elde edilen enerjiden su buharı üretimi kraft pişirme operasyonlarında önem arz etmektedir (Kleppe, 1970; McDonogh, 1998).

Kağıt hamuru üretiminde verim artışı, karbonhidrat kaybının veya uzaklaştırılan lignin miktarının azaltılmasını veya bu iki faktörün kombinasyonunu kapsayan farklı üç yolla sağlanabilmektedir (Kırcı, 2000).

Bu noktadan hareketle verimi artırmada basit bir yöntem de; pişirme süresini düşürerek yüksek kappa numarası elde etmektir. Kappa numarasındaki her on birimlik artış yaklaşık olarak verimde %1,5'luk bir artışa sebep olmaktadır. Bu tür verim artışının bir sakıncası; direnç değerlerindeki azalmadır. Kappa numarası artarken direnç değerleri düşer ve dövme zamanı artar. Bazı ilave maddelerle bir takım direnç değerleri yeniden kazandırılabilir. Fakat, bunun da dezavantajı, güç kaybını artırmasıdır (Ateş ve Kırcı, 2001).

Kraft hamuru üretiminde kullanılan hammaddeden, ligninin uzaklaştırılması için, gerekli alkali konsantrasyonu, normal olarak çözünebilen hemiselülozların çözeltiye geçmesini sağlayacak kadar yüksektir. Yani degrade olan hemiselüloz miktarının azaltılması, verimi artırmanın bir yolu olacaktır. Odun polisakkaritlerinin alkalin degradasyonundaki ekonomik önemi ve bu konuya olan temel ilgi sebebiyle, bunları alkalin etkilere karşı stabilize etme ihtiyacı ortaya çıkmıştır. Alkali degradasyonuna karşı polisakkaritleri stabilize etmek amacıyla indirgeyici ve oksidize edici olarak alkali polisülfid, AQ ve NaBH_4 gibi kimyasalların kullanılabileceği bildirilmektedir.(Courchene, 1998). Bütün başarılı metotlar, soyulma reaksiyonuna katılmaması için azalan son uç grupların modifikasyonuna dayalıdır.

Bunun dışında hamurun verimini ve direnç özelliklerini arttırmak amacıyla tüketilen alkali miktarı, pişirme sıcaklığı veya diğer çeşitli kimyasal maddelerin ilavesini kapsayan yöntemlerle kraft pişirmesi üzerinde yapılan modifikasyonlar yöntemin optimizasyon çalışmalarını hızlandırmaktadır (Kleppe, 1970; McDonogh, 1998). Bu düşünceden hareketle yapılan literatür araştırmalarında artan etkili alkali (EA) konsantrasyonunun meydana gelen karbonhidrat ve lignin kaybı neticesinde hamur verimini düşürdüğü görülmüştür. Ayrıca EA oranının sabit tutulup çözelti\yonga oranının artırıldığı durumlarda ise çözeltinin EA konsantrasyonunun azaldığı ve buna bağlı olarak delignifikasyon hızının düştüğü elde edilen hamurun kappa numarasının arttığı gözlenmiştir. Bunun dışında kraft pişirme çözeltisine artan oranda Na_2S ilavesinin daha seçici bir delignifikasyona neden olduğu ve hemiselülozları kararlı hale getirerek verimi arttırdığı görülmüştür. Ayrıca pişirme sıcaklığının yükseltilmesiyle pişirme hızının arttığı ve pişirme süresinin kısaldığı, sıcaklığın düşük tutulmasıyla da reaksiyon hızının düştüğü, delignifikasyon reaksiyonlarının başladığı kritik sıcaklığa (140°C) ani çıkıldığı durumlarda ise çözeltinin yongalara penetrasyonunun yeterli düzeyde gerçekleşmeden pişirme reaksiyonlarının başladığı ve bunun neticesinde alkaninin yonga içerisine daha fazla ilerleyememesi sonucu elek artığı oranının arttığı gözlenmiştir. Pişirme işleminin uzatılmasıyla da hücre çeperinden daha fazla lignini uzaklaştırmak mümkündür. Ancak, pişirmede kullanılan kimyasallar bir süre sonra karbonhidrat kısmını (selüloz, hemiselüloz) da bozundurmaya başlar. Selüloz molekülleri üzerine olan kimyasal ataklar sonucu molekül zinciri kopmaya ve tahrip olmaya başlar. Bu yüzden hamurun sağlamlık özelliklerini muhafaza etmek için çok uzun süreli pişirmelerden kaçınılır (Kırcı, 2000).

Bahsedilen tüm bu bilgiler ışığında hamurun verimini ve direnç özelliklerini artırmak amacıyla gerek pişirme kazanının dizaynında yapılan modifikasyonların, gerekse alkali atağına karşı polisakkaritleri stabilize etmek için eklenen kimyasalların neticesinde hamur verimindeki artışın maksimum %10 olabileceği bildirilmektedir (Courchene,1998).

2.10. Plantasyon Yöntemleri Üzerindeki Araştırmalar

Dikim aralıkları ile ilgili araştırmalar birçok yıl öncesine gitmektedir. Her türün kendisine özgü büyüme nitelikleri ve kanuniyetleri vardır. Dikim aralığı çalışmaları ile elde edilmiş olan bulgular, özellikle meşcerelerin ilk gelişme evreleri için kapsamlı sonuçlar vermektedir. Bu sonuçlar, dikim aralıklarına genel etkiler, hacim veriminin özellikleri ve odun kalitesine etkileri konularında önemli bulguları ve önerileri içermektedir. Örneğin; dikim aralıklarının genel etkileri konusunda (Evert 1971), aşağıdaki sonuçların elde edilmiş olduğunu belirtmektedir. Bulgulara göre, sık dikim aralıklarının bir kısım önemli avantajları; yüksek genel hacim verimi, tamamlamalar için az gereksinim, küçük boyutlu keresteler için pazar bulunduğunda aralamalarla elde edilen erken karlar, daha ince dalları olan ve gövde konikliği az olan ağaçlar olarak sıralanmaktadır. Geniş dikim aralıklarının avantajları ise; ilk ve daha sonraki aralamalarda daha büyük boyutlu ağaçlar, son kesimde daha kısa idare süreleri ve daha iyi parasal karlar olarak ifade edilmektedir. Dar dikim aralıklarındaki avantajlara; kapalılığın erken oluşmasını ve ıslah için daha geniş olanaklar sağlamasını, geniş dikim aralıklarındaki avantajlara ise; makineli çalışma için uygun koşulları taşımasını da ekleyebiliriz.

3. MATERYAL VE METOD

Bu araştırmaya konu olan dişbudak (*Fraxinus Angustifolia Wall.*) odunları Adapazarı-Süleymaniye yöresi orman işletme şefliğindeki plantasyondan temin edilmiştir. Bu amaçla dişbudak plantasyon meşceresinden farklı dikim aralıklarına sahip 4 bölge seçilmiş ve her bölgeden yaklaşık aynı yaşlarda 4'er ağaç kesilmiş olup, her ağacı temsil edecek şekilde yaklaşık aynı yükseklikten (130 cm ve üzeri) eşit seksiyonlar (2.5-3 cm boyunda tekerlek) alınarak kabukları soyulmuş ve elle yongalama işlemi yapılmıştır. Hazırlanan yongalar yaklaşık 5 kg lık poşetlere ayrı ayrı doldurularak rutubet analizleri yapılmıştır.

Mantar muamelesi için kullanılan *C. subvermispora* (FP-90031-sp) Ormancılık Araştırma Merkezinden (Wisconsin, USA) temin edilmiş olup, çalışmamız için yeterli miktara artırılması aşağıdaki şekilde gerçekleştirilmiştir. Besi ortamı (40 gr patates dekstrozu-PDA + 960 ml destile su) otoklav içerisinde 121 °C'de 15 psi'lik basınçta, 20 dakika süreyle sterilize edilmiştir. Hazırlanan besi ortamı 200 °C'de 2 saat sterilize edilmiş olan petri kapları içerisine yüksekliği 3-4mm olacak şekilde aktarılmış ve belli bir süre soğumaya bırakıldıktan sonra mantar ekimi yapılarak inokule (aşılama) işlemi gerçekleştirilmiştir. Mantar aşılmasının ardından petri kapları 27±1°C sıcaklık ve %65±5 nisbi nem içeren iklimlendirme dolabında 10 gün boyunca bekletilmiştir. Bu süre sonunda besi ortamı içerisinde yeterli gelişme gösteren mantar biyokütlesi odun yongaları ile muamele edileceği zamana kadar buzdolabında +4 °C'de saklanmıştır.

Odunlara mantar aşılama işlemi sıvı aşılama olarak bilinen yöntem kullanarak yapılmıştır. +4 °C'de bekleyen çoğaltılmış ve tamamen gelişmiş mantar miselleri, içerisinde 100ml besi ortamı bulunan ve sterilize edilmiş 1L lik erlenmayer içersine ekilerek ağzı pamukla kapatılmış ve 10 gün iklimlendirme dolabında misel gelişimi

sağlanıncaya kadar bekletilmiştir. Bu yöntemin özelliği, mantar miselinin sıvı besi ortamı üzerinde gelişmesidir. Bu sayede, misel kütlesi ile besi ortamı kütlesi birbirinden ayrılmış olmakta ekim esnasında yongalara ekilecek misel miktarı hatasız olarak alınabilmektedir.

Mantarla ön muameleye tabi tutulmuş yongalardan kağıt hamurunun hazırlanması öncesinde optimum inkübasyon süresinin (OİS) belirlenmesi amacıyla her bölgeden ikişer paket olmak üzere ve her iki haftanın sonunda her bölgeye ait kimyasal analiz ve ağırlık kaybının tespit edileceği göz önüne alındığından toplam 40 yonga paketi hazırlanmıştır. Paketleme işleminde yanmaz fırın poşetleri kullanılmış her pakete 150 gr tam kuru yonga konmuştur. Hazırlanan bu paketler ikişer haftalık periyotlarla (toplam 8 hafta süreyle) *C. subvermispora* (Pilát) Gilb & Ryvarden beyaz çürüklük mantarına ait lignin degradasyon yeteneği en iyi olan FP-90031-sp izolasyonu ile işleme tabi tutulmuş ve her iki hafta sonunda odun yongalarının kimyasal analizi yapılarak ve mantarın odunda neden olduğu ağırlık kayıpları belirlenerek optimum inkübasyon süresi belirlenmeye çalışılmıştır. Mantar ile odun yongalarının işleme tabi tutulması Blanchette ve ark. (1991) tarafından belirtilen metoda göre yapılmıştır. Bu işlemde mantar aşılması öncesinde yongalar %65 nem içeriğine sahip oluncaya kadar suda bekletilmiş olup, ayrıca mantar aktivitesini artırmak amacıyla yongalar fırın kurusu ağırlığına oranla %0.5 CSL ile muamele edilmiştir. Bundan sonra odun yongaları kontaminasyonun önlenmesi amacıyla 121 °C’de 15 psi’lik basınçta, 20 dakika süreyle otoklavda sterilizasyona tabi tutulmuştur.

Otoklavlanan odun yongaları laminar hava kabini içerisine taşınmış ve soğuması beklenmiştir. Soğuyan paketlere %0.5 (5gr mantar/ton odun) olacak şekilde aşılama işlemi gerçekleştirilmiştir. Aşılama işleminde 1 litrelik erleninde gelişmesini tamamlamış mantar miseli vakum altında saf steril su ile yıkanır ve

gerekli misel miktarı steril bisturi ile kesilerek alınıp yine steril edilmiş blendırda gerekli saf steril su eklenerek 15 sn blendır çalıştırılmıştır. Misellerin su içersinde homojem bir şekilde dağıldığı görülür. Blendırdaki misel karışımı ağzı dar ve steril edilmiş bir cam kapa boşaltılır ve laminar hava kabinine konur. Yonga paketleri soğuduktan sonra tek tek ağızları açılarak gerekli miktardaki misel karışımı steril mezürle ölçülerek paketlere boşaltılır ve paketlerin ağzı kapatılıp misel karışımının bütün yongalarla temas etmesi için paketler bir kaç dakika sallanır. Mantarın odun yongaları üzerindeki etkinliğini sağlamak amacıyla gerekli olan optimum koşulların ($27\pm1^{\circ}\text{C}$ sıcaklık ve $\%65\pm5$ nisbi nem) sağlandığı bir iklimlendirme dolabında biyolojik ön muameleye tabi tutulmuşlardır.

Her bir inkübasyon süresi sonunda (2 haftalık dilimlerde) yongaların üzerindeki mantar miselleri elle temizlendikten sonra kuruması için havadar bir ortamda gazete üzerinde rutubetin yaklaşık $\%12$ olması için 4-5 gün belirli aralıklarla karıştırmak suretiyle bekletilmiştir. Kurutulan yongalar ayrı ayrı darası belirlenmiş poşetlere konulmuştur. Daha sonra rutubet analizi yapılmış ağırlık kaybı ve kimyasal analizlerine de bakılmıştır. Bu işlemler her bir inkübasyon süresi sonunda tekrarlanmıştır.

Farklı inkübasyon sürelerinde meydana gelen ağırlık kaybı aşağıdaki formülle hesaplanarak belirlenmiştir (Yalınkılıç, 1987).

$$W1 = \frac{(W_i - W_f)}{W_i} \times 100$$

W1= Ağırlık kaybı (%)

W_i= İlk ağırlık (fırın kurusu, gr)

W_f= Mantar muamelesi sonrası ağırlık (fırın kurusu, gr).

Ayrıca mantar aşılması yapılmayan her bölgeden 1'er paket olmak üzere toplam 5 yonga paketinde de (kontrol örnekleri) gerekli olan kimyasal analizler yapılarak her bölgedeki ağaçların kimyasal özellikleri belirlenmiş ve mantarlı örneklerle karşılaştırılarak mantarın odunun kimyasal yapısında neden olduğu değişimler tespit edilmeye çalışılmıştır. OİS'nin belirlenmesinde başlıca holoselüloz/lignin oranı bu çalışmada baz alınmıştır. Kimyasal analizlerin gerçekleştirilmesinde kontrol ve mantar muameleli dışbudak yongaları hava kurusu haline getirildikten sonra, Tappi T 11 standart yöntemine göre laboratuvar tipi Wiley değirmeninde öğütülerek 40 meshin altına geçen örneklerde aşağıdaki testler gerçekleştirilmiştir. Kuru madde (Tappi T 11), holoselüloz (Wise, 1952), lignin (Tappi T 222) miktarları ve alkol-benzen (Tappi T 204) ve %1 NaOH (Tappi T 212) çözünürlük oranları belirlenmiştir.

Yapılan kimyasal analizler neticesinde 8 haftalık sürenin optimum inkübasyon süresi olarak belirlenmesi dolayısıyla her bölgeden birer paket olmak üzere toplam 5 paket yonga daha önce bahsedildiği şekliyle mantar muamelesine tabi tutulmuş ve iklimlendirme dolabında inkübasyon süresi kadar bekletilmiştir.

Hamur hazırlama işlemleri 15 litre kapasiteli, 25 kg/cm² basınca dayanıklı, 4 devir/dk hızla çalışan, elektrikle ısıtılan ve otomatik ısı kontrollü laboratuvar tipi döner kazanda gerçekleştirilmiştir. Pişirme işlemlerinin tamamı %25 sülfidite ve %18 aktif alkali bazında gerçekleştirilmiştir. Kazanın doldurma ve boşaltma işlemleri elle yapılmış olup 5 kontrol ve 5 mantar ön muameleli olmak üzere toplam 10 adet pişirme işlemi gerçekleştirilmiştir.

Pişirme sonunda hamur 150 mesh'lik elek üzerinde bol su ile siyah çözelti uzaklaştırılıncaya kadar yıkanmıştır. Yıkama sonrasında hamur, laboratuvar tipi hamur desintegratöründe 10 dakika açıldıktan sonra yarık açıklığı 0.15 mm olan

vakumlu sarsak elekte elenmiştir. Elenen kısım, sıkılarak yaklaşık % 20–30 kuru madde içerecek hale getirilerek darası ölçülmüş polietilen torbalara konulmuş ve hamurların rutubet değerleri Tappi T 264 standart yöntemine göre belirlenmiştir. Elenmiş hamur verimleri elek üzerinde kalan hamur ağırlığının (fırını kuru) başlangıçta kazana konulan yonga ağırlığına (fırın kuru) oranı olarak verilmiştir. Toplam verim ise elenmiş hamur ve elek artığı miktarı toplamının (fırın kuru) başlangıçta kazana konulan yonga ağırlığına (fırın kuru) oranıyla belirlenmiştir. Ayrıca hamurların viskozite (SCAN-cm. 15:88), ve kappa numaraları (Tappi T 236) belirlenmiştir.

Hamurlar Tappi T 248 standardına göre PFI dövücü kullanılarak tek kademedede shoperleri yaklaşık 35 - 45 SR° olacak şekilde dövülmüştür. Her bir dövme kademesinde ISO 5267-1 standardına göre Schopper Riegler aletinde hamurların serbestlik dereceleri belirlenmiştir. Rapid Köthen laboratuvar deney kağıdı makinesinde, ISO 5269-2 standardına göre ortalama 70 g/m² olacak şekilde her bir hamur için 10 adet deneme kağıdı yapılmıştır.

Üretilen deneme kağıtları Tappi T 402 standardına göre (23±2 °C sıcaklık, %50±2 bağıl nem) 24 saat kondisyonlandıktan sonra kağıtların gramaj (Tappi T 410), kalınlık (Tappi T 411) ve direnç özelliklerinden kopma (ISO 1924), patlama (ISO 2758) ve yırtılma (ISO 1974) özellikleri belirlenmiştir.

4. BULGULAR ve TARTIŞMA

4.1. Kullanılan Odun Hammaddesine Bağlı Özellikler

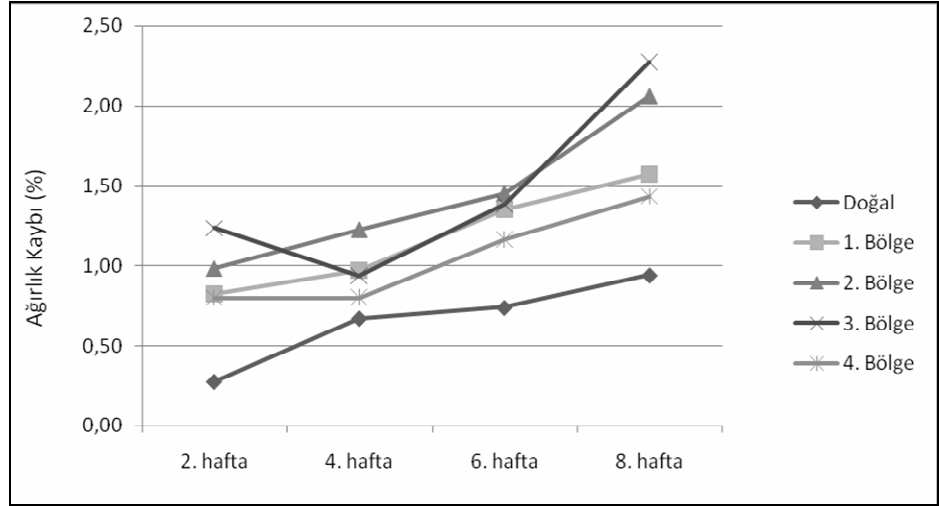
Bu çalışmada, (4x4m), (3x2m), (3.75x3.75m), (3x2.5m) dikim aralıklarına sahip olmak üzere 4 bölge ve bir de doğal ortamda yetişmiş Dişbudak (*Fraxinus Angustofolia Wall.*) odunu örnekleri kullanılmıştır

4.2. Biyolojik Degradasyon Sonucunda Ağırlık Kaybı ve Kimyasal Değişim

C. subvermispora mantarıyla biyolojik degradasyona uğratılan dişbudak yongalarında, farklı inkübasyon sürelerine bağlı olarak meydana gelen ağırlık kaybı ve kimyasal içeriklerindeki değişimlere ilişkin bulgular Çizelge 4 de genel olarak verilmiştir. *C. subvermispora* mantarı ile muamele edilen dişbudak yongalarındaki yüzde ağırlık kayıpları, inkübasyon süresine bağlı olarak Şekil 7 de gösterilmiştir. Mantar muamelesi sonucunda oluşan ağırlık kaybının sebepleri, besince zengin paranza hücrelerinin degradasyonu (Villalba, 2003) ve mantar misellerince hücre çeperi bileşenlerinin metabolize veya modifiye edilmesi olarak belirtilmiştir (Highley ve Murmanis, 1987). Elde edilen veriler doğrultusunda 2, 4, 6 ve 8 haftalık mantar uygulamaları sonucunda ağırlık kayıplarında inkübasyon süresi ile doğru orantılı bir artış gözlenmiştir. Bu çalışmada inkübasyon süresine bağlı olarak gözlemlenen ağırlık kaybı literatür bulguları ile paralellik göstermektedir. Aynı mantar ile muamele edilen *Pinus taeda* için 2 ve 8 hafta sonunda yaklaşık olarak %2 ve %9'luk ağırlık kayıpları, Akhtar ve ark. (1992) tarafından belirlenmiştir. *Pinus taeda* yongalarına 4 haftalık mantar uygulaması sonucunda Mendonça ve ark. (2002) %3, Villalba ve ark. (2003) ise %5.9 miktarında ağırlık kaybı belirlemişlerdir.

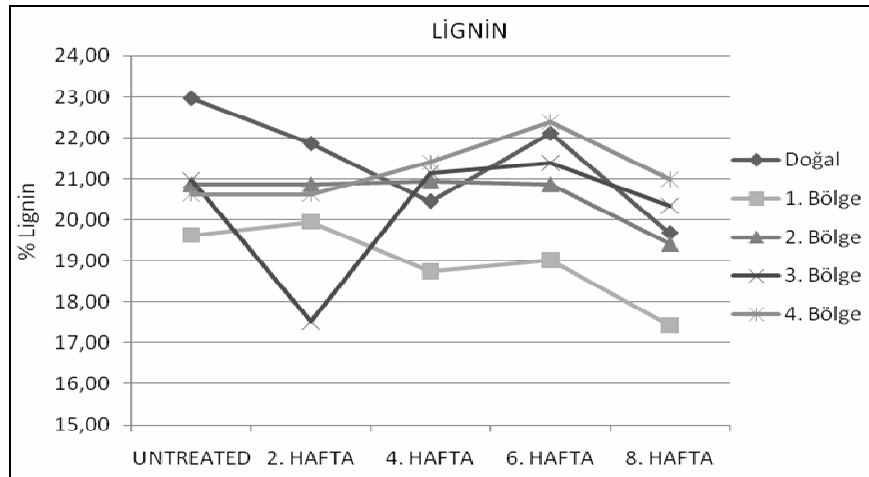
BÖLGELER	İNKUBASYON SÜRESİ					
	HAMMADDE	Kontrol	2. hafta	4. hafta	6. hafta	8. hafta
DOĞAL	Ağırlık kaybı , (%)	—	0.28±0.00	0.67±0.30	0.74±0.10	0.94±0.35
	Lignin , (%)	22.96±0.13	21.86±1.39	20.45±1.65	22.10±1.79	19.68±1.25
	Holoseülüz , (%)	72.66±0.52	75.77±0.44	77.20±0.25	75.22±0.19	78.78±0.28
	Ekstraktif madde , (%)	3.71 ± 0.00	2.47±0.02	2.35±0.04	2.66±0.00	1.54±0.14
	%1 NaHO de Çöz. ,(%)	17.60±0.28	22.15±0.00	22.63±0.18	21.55±0.07	22.13±0.11
1.BÖLGE (4x4m)	Ağırlık kaybı , (%)	—	0.82±0.13	0.97±0.11	1.35±0.06	1.57±0.05
	Lignin , (%)	19.62±1.38	19.95±0.00	18.74±0.83	19.02±1.38	17.42±0.83
	Holoseülüz , (%)	78.12±0.52	77.87±0.33	78.81±0.11	78.40±0.39	80.22±0.06
	Ekstraktif madde , (%)	2.26 ± 0.18	2.18±0.16	2.45±0.11	2.58±0.12	2.36±0.60
	%1 NaHO de Çöz. ,(%)	19.00±0.14	23.28±0.18	23.73±0.04	22.75±0.0	23.20±0.21
2.BÖLGE (3x2m)	Ağırlık kaybı , (%)	—	0.98±0.27	1.23±0.13	1.45±0.67	2.06±0.13
	Lignin , (%)	20.87±0.07	20.86±0.15	20.94±1.95	20.87±0.28	19.42±1.53
	Holoseülüz , (%)	77.15±0.13	77.13±0.28	77.41±0.47	77.15±0.00	79.05±0.45
	Ekstraktif madde , (%)	1.64±0.14	2.01±0.00	1.65±0.02	1.64±0.33	1.53±0.09
	%1 NaHO de Çöz. ,(%)	18.85±0.21	21.78±0.04	22.08±0.04	21.75±0.07	21.80±0.14
3.BÖLGE (3.75x3.75m)	Ağırlık kaybı , (%)	—	1.24±0.48	0.94±0.29	1.38±0.15	2.27±0.20
	Lignin , (%)	20.96±0.56	17.52±0.55	21.15±0.13	21.39±1.67	20.34±1.39
	Holoseülüz , (%)	80.73±0.27	70.09±0.45	75.50±0.16	75.40±0.08	75.77±0.03
	Ekstraktif madde , (%)	2.66±0.00	2.77±0.20	2.68±0.05	1.89±0.11	1.51±0.18
	%1 NaHO de Çöz. ,(%)	21.75±1.34	22.14±0.07	23.15±0.07	21.55±0.00	22.95±0.14
4.BÖLGE (3x2.5m)	Ağırlık kaybı , (%)	—	0.80±0.11	0.80±0.11	1.16±0.04	1.43±0.37
	Lignin , (%)	20.63±0.67	20.63±0.83	21.41±1.65	22.38±0.55	21.00±2.21
	Holoseülüz , (%)	76.60±0.85	76.60±0.55	75.55±0.11	74.94±0.14	76.68±1.52
	Ekstraktif madde , (%)	2.77±0.14	2.77±0.08	3.04±0.01	2.67±0.00	2.32±0.01
	%1 NaHO de Çöz. ,(%)	20.10±0.14	23.58±0.25	24.53±0.04	23.68±0.11	23.63±0.04

Çizelge 4. *C. subvermispora* mantarıyla biyolojik degradasyona uğratılan dişbudak yongalarında, farklı inkübasyon sürelerine bağı olarak meydana gelen ağırlık kaybı ve kimyasal içeriklerindeki değışim.



Şekil 7 *C. subvermispora* mantarı ile muamele edilen dişbudak yongalarındaki inkübasyon süresine bağlı yüzde ağırlık kayıpları.

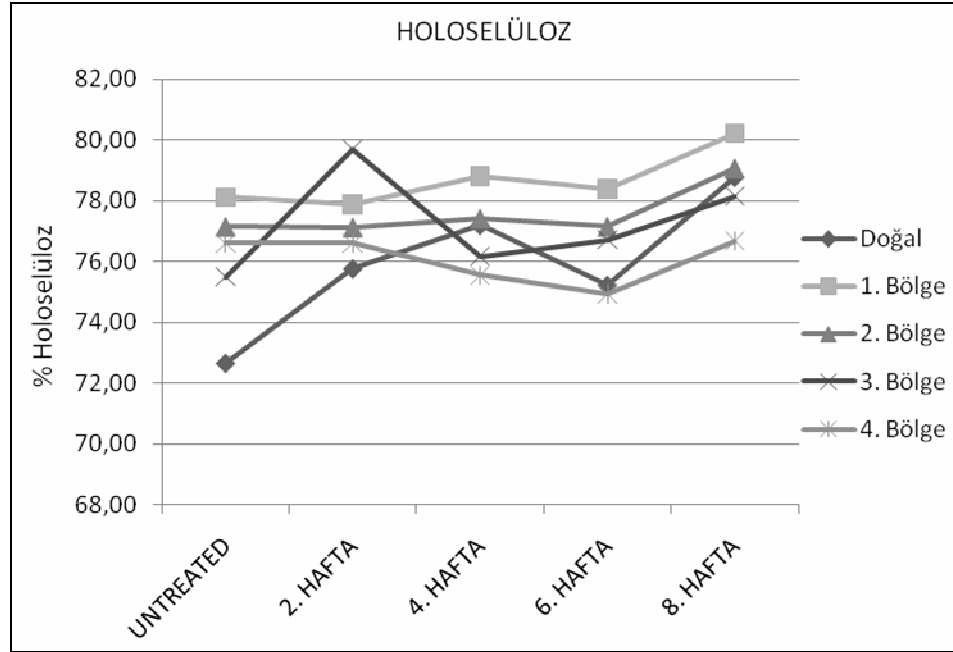
Farklı inkübasyon sürelerinde, *C. subvermispora* ile muamele edilen dişbudak yongalarının lignin miktarlarındaki değişim Şekil 8 de verilmiştir. Lignin polimerlerinin oldukça kompleks yapıda olması nedeniyle mantar muamelesi sonucunda oluşan lignin degradasyonu tam olarak açıklanamamaktadır. Lignin yapısı tekrar eden üniteler içermemekte ve buna bağlı olarak kolaylıkla hidrolize olmamaktadır (Hammel, 1996).



Şekil 8. Farklı inkübasyon sürelerinde dişbudak yongalarındaki lignin miktarları.

Villalba ve ark. (2000), *C.subvermispora* ile muamele ettikleri *Pinus taeda* yongalarındaki lignin kayıp miktarlarını, 2, 4 ve 6 hafta için sırasıyla %4.66, %6.77 ve %10.6 olarak göstermişlerdir. Diğer taraftan Mendonça ve ark. (2002) ise aynı uygulamada oldukça yüksek miktarlarda lignin kaybı belirlemiş ve kayıp miktarlarını 2, 4 ve 8 hafta için sırasıyla %9.6, %10.7 ve %16.6 olarak belirtmişlerdir. Lignin miktarında 2 haftalık inkübasyon süresi sonunda meydana gelen küçük miktardaki kayıp oranı, mantar muamelesinin ilk safhalarında lignin degradasyonunun çok fazla gerçekleşmediğini gösterse bile, odunun kimyasal yapısında meydana getirmiş olduğu değişimin hamur özellikleri üzerine etkili olduğu literatürde belirtilmiştir (Villalba, 2003).

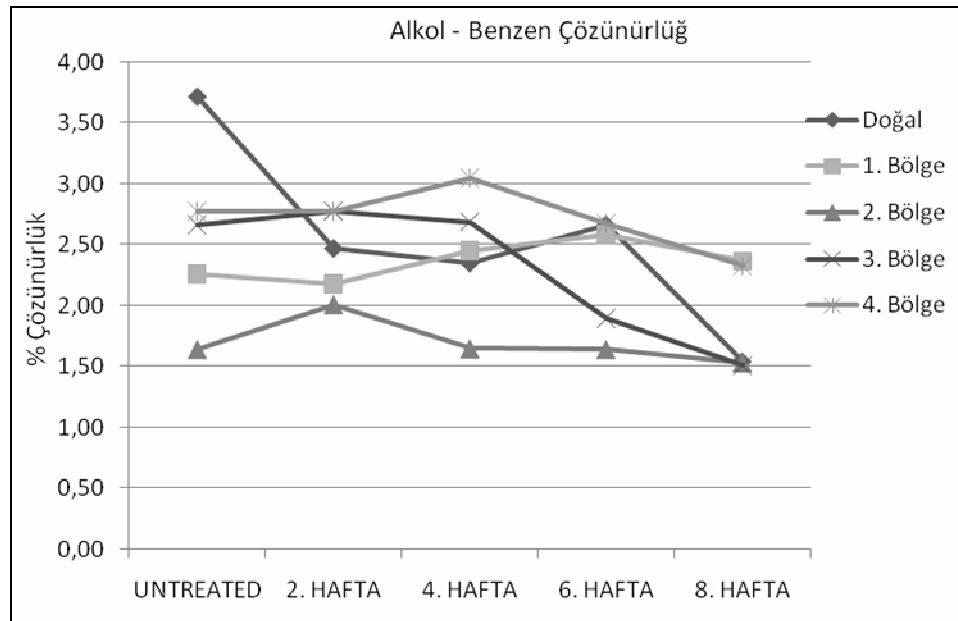
Farklı inkübasyon sürelerinde *C. subvermispora* ile muamele edilen dişbudak yongalarının holoselüloz miktarları Şekil 9 'da verilmiştir.



Şekil 9. Farklı inkübasyon sürelerinde dişbudak yongalarındaki holoselüloz miktarları.

Bu konu ile alakalı yapılan literatür çalışmalarında holoselüloz miktarı genellikle inkübasyon süresine bağlı olarak artmıştır. Grafikten de görüldüğü gibi inkübasyon süresine bağlı olarak genellikle holoselüloz değerinin arttığı görülmektedir, bu bağlamda yapılan çalışmanın sonuçları literatürle bir paralellik göstermektedir. *C. subvermispora* mantarı ile muamele edilen *Eucalyptus teretecornis*'te, 2 hafta sonunda holoselüloz oranında yaklaşık olarak %1.75'lik artış belirlenmiştir (Bajpai ve ark., 2001). Bir diğer çalışmada *Pinus radiata* kütüklerine 85 günlük süreyle *C. subvermispora* mantar uygulaması sonucunda ise holoselüloz oranında %3.41'lik artış gözlemlenmiştir (Molina ve ark. 2002).

Farklı inkübasyon sürelerinde *C. subvermispora* ile muamele edilen dişbudak yongalarında, alkol benzen ekstraksiyonu sonucu elde edilen ekstraktif madde miktarları Şekil 10 da verilmiştir.

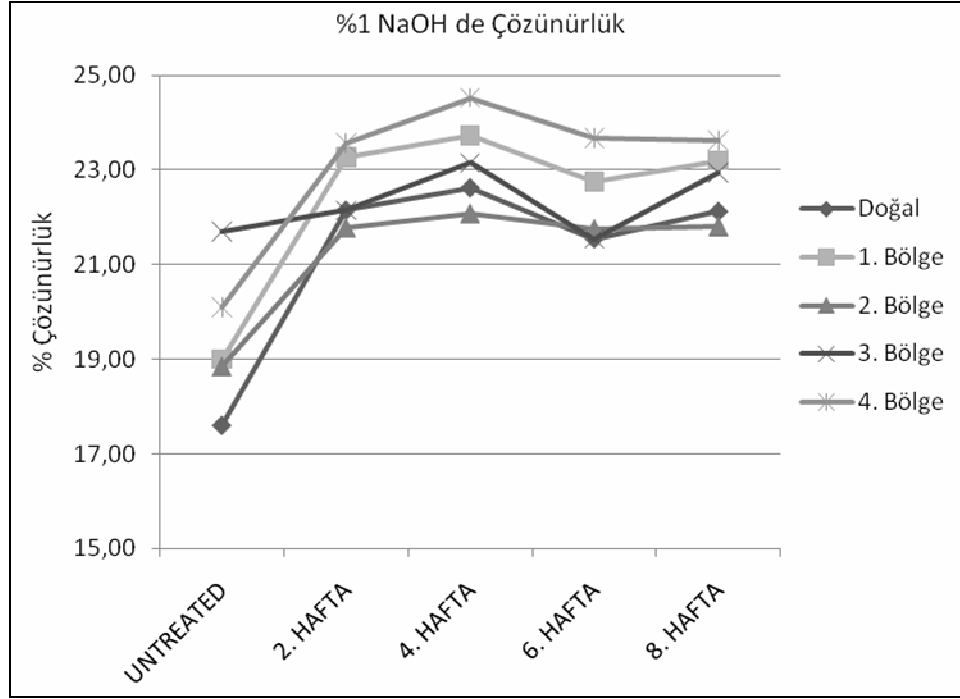


Şekil 10. Farklı inkübasyon süresinde dişbudak yongalarında ekstraktif miktarı.

Şekil de de görüldüğü üzere inkübasyon süresine bağlı olarak ekstraktif madde miktarında doğru orantılı bir azalma gözlenmektedir. En hızlı azalma 2. Haftanın sonunda en fazla azalma da 8. Haftanın sonunda görülmektedir.

Bu çalışma sonucunda elde edilen veriler literatür ile paralellik göstermektedir. *C. subvermispora* ile muamele edilen *Pinus taeda* yongalarında 2, 4 ve 6 haftalık inkübasyon süreleri sonucunda aseton ekstraktif madde miktarında %38.8, %40.9 ve %42.0 oranlarında azalma görülmüştür (Villalba ve ark., 2000). Benzer sonuçlar Fischer ve ark. (1994)'nın yapmış olduğu çalışmada da gözlemlenmiş olup, *C. subvermispora* ve ticari olarak ekstraktif madde miktarını azaltıcı mantar olarak bilinen *O. piliferum* ile muamele edilen *Pinus taeda* yongalarındaki ekstraktif madde miktarı, 2 haftada %18-27 ve 4 haftada %33-35 oranında azalmıştır. Elde edilen bu bilgiler sonucunda *C. subvermispora*'nın özel bir ekstraktif madde indirgeyici mantar olmamasına rağmen, odundaki ekstraktifleri degrade edebilme kabiliyetine sahip olduğu görülmektedir.

C. subvermispora ile muamele edilen dışbudak yongalarının farklı inkübasyon sürelerindeki %1 NaOH (sıcak alkali) çözünürlükleri Şekil 11 de verilmiştir.



Şekil 11. Farklı inkübasyon süresinde dişbudak yongalarında %1 NaOH de çözünürlük değerleri.

Mantar muamelesine bağlı olarak alkali çözünürlüğündeki artışın nedeni, sıcak alkalinin hemiselüloz ve degrade olmuş selüloz gibi düşük moleküler ağırlıktaki karbonhidratları ekstrakte etmesinden kaynaklandığı düşünülmektedir (Villalba ve ark., 2000). Diğer taraftan, odundaki kimyasal bileşenlerin hücre çeperindeki dağılımları gözönüne alındığında lignin ve lignin ile komşu hemiselülozlar arasındaki sıkı bağlantı, mantar uygulaması sonucunda odundan lignin ile beraber bir kısım hemiselülozların da degrade olmasına sebebiyet vermektedir. Dolayısıyla sıcak alkalinin, serbest kalan bu karbonhidratları ekstrakte etmesi neticesinde sıcak alkali çözünürlüğünün artması kaçınılmazdır. *C. subvermispora* ile muamele edilen *Pinus taeda* yongalarında sıcak alkalide çözünürlük değeri kontrol örneğine oranla 2 haftada %84.2, 4 haftada %78.3, 6 haftada %112.8 oranında artmıştır (Villalba ve ark., 2000). Bu sonuç bu uygulamada daha az karbonhidratın bozunmaya uğradığını göstermektedir. Campbell (1952),

alkali çözünürlüğü üzerine beyaz çürüklüğün etkisini incelemiş ve kahverengi çürüklükten farklı olarak bu mantarların, alkali çözünürlüğünü önce maksimum bir noktaya kadar artırdığını sonra tekrar düşürdüğünü gözlemlemiştir.

4.3. Optimal İnkübasyon Süresi (OİS)'nin Belirlenmesine İlişkin

Bulgular

OİS'nin belirlenmesinde başlıca holoselüloz/lignin oranı bu çalışmada baz alınmıştır. Çizelge 5 incelendiğinde inkübasyon süresine bağlı olarak lignin oranındaki azalmaya karşılık artan holoselüloz oranı, holoselüloz/lignin oranında artışa sebep olmaktadır. Bu oran bölgeler bazında incelendiğinde 2. Ve 4. Bölgede 2. Haftanın sonunda diğer bölgelerde ise 8. Haftanın sonunda optimum düzeye ulaşmıştır. Bu nedenle 8 haftalık inkübasyon süresi OİS olarak belirlenmiş olup daha sonraki çalışmalar için 8 haftalık inkübasyon süresi mantar uygulamaları için baz alınmıştır.

Çizelge 5. Dişbudak yongalarında OİS'nin belirlenmesinde göz önüne alınan kimyasal analiz sonuçları.

YER	Bileşik	UNTREATED		2. HAFTA		4. HAFTA		6. HAFTA		8. HAFTA	
		% ort	holo/lignin	% ort	holo/lignin	% ort	holo/lignin	% ort	holo/lignin	% ort	holo/lignin
Doğal	holosel	72,66	3,16	75,77	3,47	77,20	3,77	75,22	3,40	78,78	4,00
	lignin	22,96		21,86		20,45		22,10		19,68	
1. Bölge	holosel	78,12	3,98	77,87	3,90	78,81	4,21	78,40	4,12	80,22	4,61
	lignin	19,62		19,95		18,74		19,02		17,42	
2. Bölge	holosel	77,15	3,70	77,13	3,70	77,41	3,70	77,15	3,70	79,05	4,07
	lignin	20,87		20,87		20,94		20,87		19,42	
3. Bölge	holosel	75,50	3,60	79,70	4,55	76,17	3,60	76,72	3,59	78,15	3,84
	lignin	20,96		17,52		21,15		21,39		20,34	
4. Bölge	holosel	75,50	3,66	76,60	3,71	75,55	3,53	74,94	3,35	76,68	3,65
	lignin	20,63		20,63		21,41		22,38		21,00	

4.4. Kağıt Hamuru Elde Edilmesiyle İlgili Bulgular

Kontrol (işlem görmemiş)ve biyolojik (*C. subvermispora*) (işlem görmüş) yongalar kullanılarak tek tip pişirme yöntemi (kraft) ile elde edilen kağıt hamurlarının verim, elek artığı, kappa, viskozite değerleri Çizelge 6’ da verilmiştir.

Çizelge 6. Üretilen kağıt hamurlarının özellikleri.

YER	Durum	Piştirme No	Elek Artığı (%)	Elenmiş Verim	Toplam Verim	Kapa No	VİSKOZİTE (cm ³ /gr)	Hamurdaki lignin (%)
DOĞAL	İşlem Görmemiş	1. Piştirme	0,44	41,7	42,1	17,0	1285,5	2.55
	İşlem Görmüş	2. Piştirme	0,96	43,3	44,2	17,4	1117,6	2.61
1. BÖLGE	İşlem Görmemiş	3. Piştirme	0,73	43,8	44,5	15,1	1120,0	2.27
	İşlem Görmüş	4. Piştirme	3,32	41,8	45,1	17,7	1236,1	2.66
2. BÖLGE	İşlem Görmemiş	5. Piştirme	0,47	38,6	39,0	14,3	1000,0	2.15
	İşlem Görmüş	6. Piştirme	1,46	39,8	41,3	17,6	995,1	2.64
3. BÖLGE	İşlem Görmemiş	7. Piştirme	0,24	39,2	39,4	14,8	1035,4	2.22
	İşlem Görmüş	8. Piştirme	1,09	41,5	42,6	19,4	1280,4	2.91
4. BÖLGE	İşlem Görmemiş	9. Piştirme	0,40	39,5	39,9	15,1	1008,3	2.27
	İşlem Görmüş	10. Piştirme	1,87	38,9	40,8	19,3	1142,3	2.90

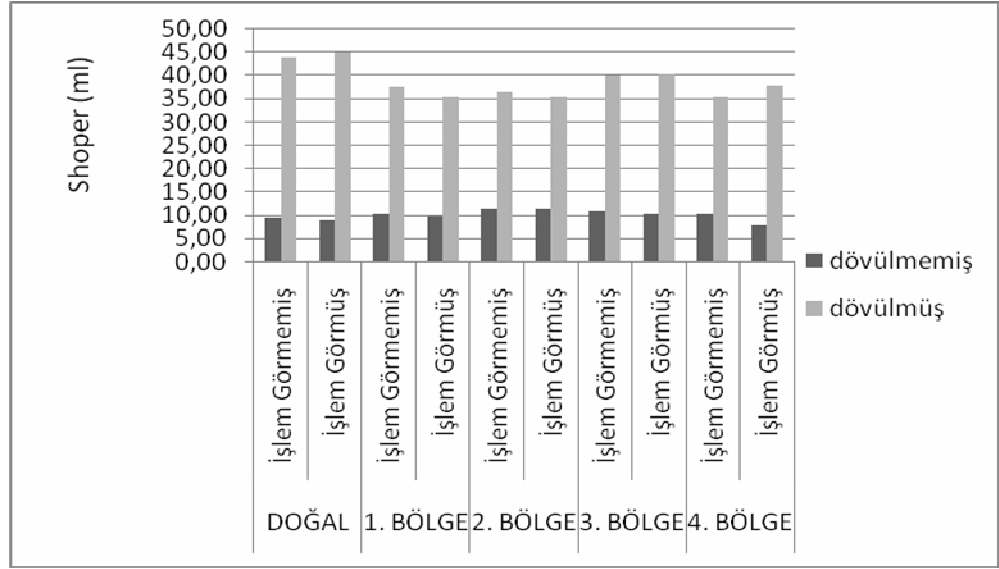
4.5. Üretilen Kağıtların Fiziksel Özellikleri

Kontrol (işlem görmemiş) ve biyolojik (*C. subvermispora*) (işlem görmüş) yongalardan schopper (SR⁰) değeri 35-45 olacak şekilde (12000 devir) PFI dövme kademelerinde elde edilen kağıtlara ait schopper (SR⁰), kopma ve patlama indis değerleri Çizelge 7 de verilmiştir.

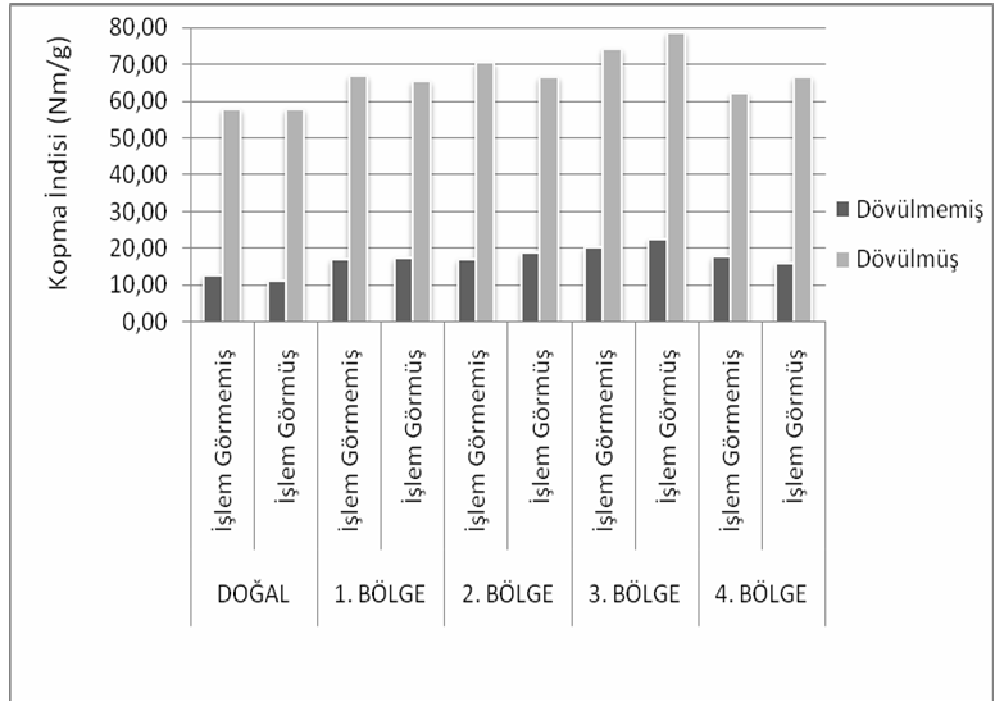
Çizelge 7. Hamurların; SR^0 , Patlama ve Kopma indislerine ait veriler

YER	Durum	DÖVÜLMEMİŞ			DÖVÜLMÜŞ		
		SR^0 , mL	Patlama indisi, $kPam^2/g$	Kopma indisi, Nm/g	SR^0 , mL	Patlama indisi, $kPam^2/g$	Kopma indisi, Nm/
DOĞAL	İşlem Görmemiş	9.50±0.71	27.54±1.34	12.84±0.98	44.00±1.41	208.03±13.65	57.70±1.86
	İşlem Görmüş	9.00±1.41	24.21±2.67	11.27±0.64	45.00±1.41	215.01±16.07	57.86±2.96
1. BÖLGE	İşlem Görmemiş	10.50±0.71	43.13±2.86	17.03±1.34	37.50±0.71	279.35±21.42	66.79±3.82
	İşlem Görmüş	10.00±0.00	43.93±2.84	17.25±0.86	35.50±0.71	287.85±22.53	65.58±2.88
2. BÖLGE	İşlem Görmemiş	11.50±0.71	46.29±1.89	17.22±1.24	36.50±0.71	296.39±19.18	70.70±3.18
	İşlem Görmüş	11.50±0.71	45.79±1.73	18.91±1.28	35.50±0.71	318.43±25.51	74.08±3.54
3. BÖLGE	İşlem Görmemiş	11.00±0.00	50.51±1.98	20.18±0.89	40.00±1.41	287.60±16.09	66.70±2.11
	İşlem Görmüş	10.50±0.71	50.16±3.96	22.36±1.26	40.50±0.71	303.63±21.90	78.50±6.35
4. BÖLGE	İşlem Görmemiş	10.50±0.71	43.83±1.90	17.75±0.95	35.50±0.71	238.44±8.94	62.26±5.99
	İşlem Görmüş	8.00±0.00	35.71±1.49	16.07±1.15	38.00±0.00	265.58±16.71	66.69±4.85

Bütün hamurlar aynı devirde ve yaklaşık aynı şartlar (süre, sıcaklık, basınç) altında dövülmüş olmalarına rağmen farklı SR^0 değerleri vermişlerdir. Bunun nedenlerinden biri de verim (hamurdaki lignin ve holoselüloz miktarı) olduğundan dolayı verim ile SR^0 değerlerini karşılaştırdığımızda genellikle verim artışlarında SR^0 değerinde bir düşüş olduğu gözlenmektedir. Hamur verimindeki artışa bağlı olarak lignin içeriğindeki artış hamurun daha zor dövülmesine neden olacak ve hamurda daha az parçalanmalar meydana gelecektir. Bu nedenle shopper değerinin verimi yüksek hamurlarda daha düşük olduğu görülmektedir.

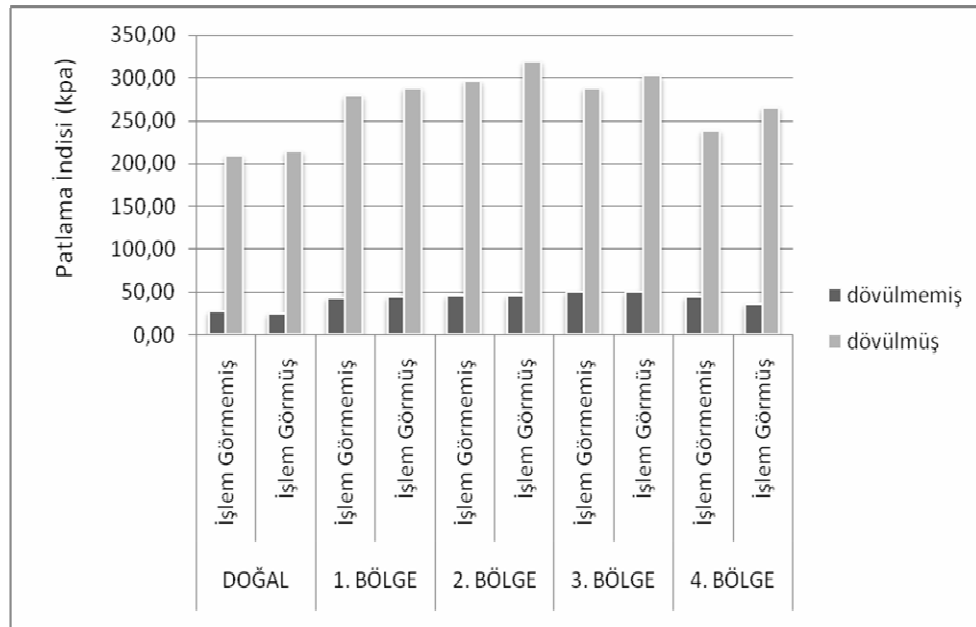


Şekil 12. Hamurların bölgelere, mantar muamelesine ve dövmeyle bağlı olarak shopper değerindeki değişim.



Şekil 13. bölgelere, mantar muamelesine ve dövmeyle bağlı olarak kopma indisindeki değişim.

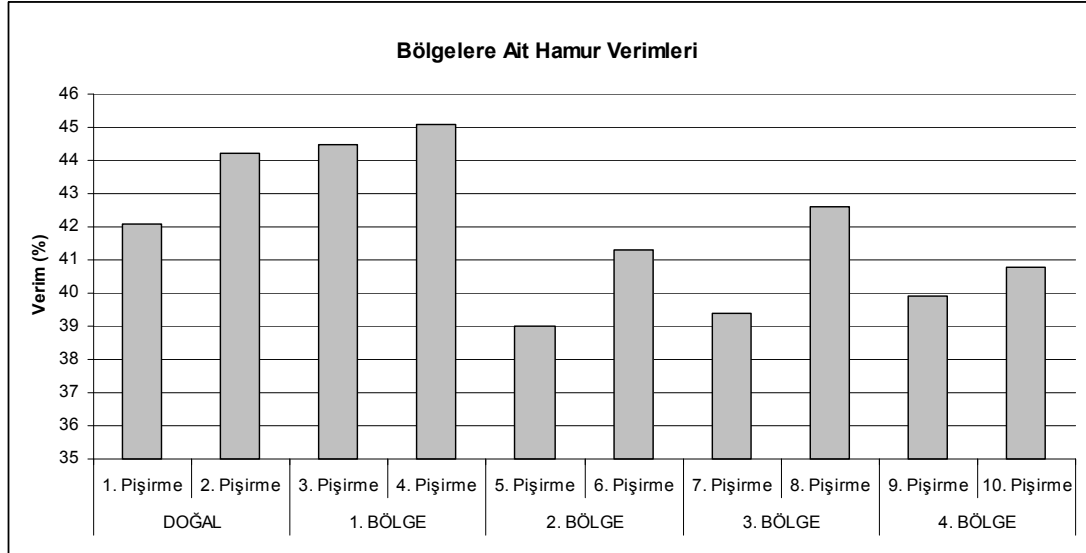
Grafik de de görüldüğü gibi en yüksek kopma değeri 3.bölge mantarla muamele edilmiş numunedir. Ayrıca dövülmüş hamurların hepsinde işlem görmüş (mantarla muamele edilmiş) hamurlar, işlem görmemiş (mantarla biyolojik muamele dilmemiş) hamurlardan daha yüksek kopma değerine sahiptir. Bu durum mantarla muamelenin dışbudak yongalarında kopma direncini arttırdığını göstermektedir. Bölgeleri kopma dirençleri açısından incelediğimizde seçilmesi gereken en uygun bölge 3. bölgedir (3.75x3.75m).



Şekil 14. bölgelere, mantar muamelesine ve dövmeye bağlı olarak patlama indisindeki değişim.

Patlama direncine baktığımızda en yüksek değer 2. bölgede biyolojik işlem görmüş ve dövülmüş örnekte gözlemlenmiştir. En düşük değer doğal bölgeden alınan numunelerde bulunmuştur. Ayrıca mantar muamelesinin dışbudak yongalarında özellikle dövülmüş hamurlarda olumlu etkiler yaptığı söylenebilir. Patlama direnci açısından ele algığımızda seçilmesi gereken en uygun bölge 2. bölgedir (3x2m).

Yapılan pişirmeler neticesinde bölgelere ait hamur verimleri şekil 15 de verilmiştir.



Şekil 15. Bölgeler ait hamur verimindeki değişim.

Hamurların verim değerleri göz önüne alındığında en yüksek verim 1. bölge 4.

pişirme yani biyolojik işlem görmüş numunede gözlenmiştir. Sonuç olarak biyolojik hamur üretimine ve özellikle de olaya verim açısından bakılırsa en uygun bölge 1. bölgedir (4x4m).

5. SONUÇ

C. subvermispora mantarının yaptığı biyolojik degradasyonun ve yapılan pişirme işleminin kağıt hamuru üzerine etkilerinin belirlenmesinde dışbudak plantasyonlarında dikim aralığının etkisinin araştırılması amacıyla gerçekleştirilen bu çalışmada elde edilen sonuçlar aşağıda verilmiştir.

Verim açısından değerlendirdiğimizde en uygun bölge 1. bölgedir (4x4m)

Patlama dirençleri açısından değerlendirdiğimizde seçilmesi gereken en uygun bölge 2. bölgedir (3x2m)

Çekme dirençleri açısından değerlendirdiğimizde seçilmesi gereken en uygun bölge 3. bölgedir (3.75x3.75). Bütün bölgeler mantar muamelesine olumlu cevap vermişlerdir.

KAYNAKLAR

ABDULKHANI, A., MIRSHOKRAIE, S.A., LATIBARI, A.J., ENAYATI, A.A. 2005. Photostabilization of bagasse chemimechanical pulp through acetylation in liquid phase. Iranian Polymer Journal 14(9): 831-841.

AKHTAR, M., ATTRIDGE, M.C., BLANCHETTE, R., MYERS, R., WALL, M., SYKES, M., KONING JR, J.W., BURGESS, T., WEGNER, T., KIRK, T.K. 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. 1994. Method of enhancing biopulping efficacy, U. S. Patent No. 5,620,564 (Aug. 11, 1994).

AKHTAR, M., KIRK, T.K., BLANCHETTE, R. 1996. Biotechnology in the pulp and paper industry, recent advances in applied and fundamental research, sixth international conference, 187-192. Srebotnik, E. and Messner, KL eds. June 11-15 1995, Facultas-Universitätsverlag, Vienna.

AKHTAR, M., LENTZ, M.J., BLANCHETTE, A.A., KIRK, T.K. 1997. Corn steep liquor lowers the amount of inoculum for biopulping. Tappi Journal 80(6):161-164.

AKHTAR, M., BLANCHETTE, R., MYERS, G., KIRK, T.K. 1998. An overview of biomechanical pulping research. In Environmentally Friendly Techniques for the Pulp and Paper Industry, 309-340. R.A. Young and M. Akhtar eds. John Wiley and Sons, Inc. New York.

AKHTAR, M., SWANEY, R.E., HORN, E.G., MYERS, G.C., SCOTT, G.M., LENTZ, M.J., SKYES, M.S. 1999. Biomechanical pulping: A mill-scale evaluation, Proceedings of the 1999 TAPPI International Mechanical Pulping Conference: TAPPI Press: 1–10.

ATACAY, G., PAMAY ,G., KALIPSIZ, A., 1962. Süleymaniye Dişbudak Ormanı, imar ve ihyası ile işletilmesi hakkında düşünceler. İ.Ü Orman Fakültesi Dergisi. Seri B.12 (2): 38–54.

ATAY, İ. 1966. Büyük Britanya ormancılığının ağaçlandırma çalışmaları. İ.Ü Orman Fakültesi Dergisi, Seri B, Cilt XVI, Sayı 2, s. 89–117, İstanbul

ATAY, İ. 1970. Genel ve Teknik yönleri ile Türkiye’de ağaçlandırma. İ.Ü. Orman Fakültesi yayınları No. 1543/158, İstanbul.

ATEŞ, S., KIRCI, H., 2001. Kraft pişirmelerinde verim ve delignifikasyonu iyileştirme çalışmaları. Gazi Üniversitesi, Kastamonu Orman Fakültesi, Kastamonu Eğitim Dergisi, Kastamonu, s.197–206.

BAJPAI, P., BAJPAI, P.K., AKHTAR, M., JAUHARI, M.B. 2001. Biokraft pulping of eucalyptus with selected lignin-degrading fungi. Journal of Pulp and Paper Science 27(7): 235-239.

BAJPAI, P., MISHRA, S.P., MISHRA, O.P., KUMAR, S., BAJPAI, P.K., SINGH, S. 2004. Biochemical pulping of wheat straw. Tappi Journal 3(8): 3-6.

BAR-LEV, S., KIRK, T.K., CHANG, H. 1982. Fungal treatment can reduce energy requirements for secondary refining on TMP. Tappi Journal 65(10): 111-113.

BEHRENDT, C., BLANCHETTE, R. 1997. Biological processing of pine logs of pulp and paper production with *Phlebiopsis gigantea*. Appl. Environ. Microbiol 63(5): 1995–2000.

BENNET, F.A. 1969. Spacing and Slash pine quality timber production. USDA Forest Service Research Paper SE-53-Asheville, North Carolina, U.S.A.

BLANCHETTE, R.A., LEATHAM, G.F., ATTRIDGE, M.C., AKHTAR, M., MYERS, G.C., 1991. Biomechanical pulping with *C. subvermispora*, U. S. Patent No. 5,055,159 (Oct. 8, 1991).

BLANCHETTE, R.A., AKHTAR, M., FARRELL, R.L. 1992. Biological control of pitch in pulp and paper production of *Ophiostoma piliferum*. Tappi Journal 75(12): 102–106.

BLANCHETTE, R.A., KRUEGER, E., HAIGHT, J., AKHTAR, M., AKIN, D. 1997. Cell wall alteration in loblolly pine decayed by the white-rot fungus. *Ceriporiopsis subvermispora*. J of Biotechnol 53:203-213

BOSTANCI, Ş. 1987. Kağıt hamuru üretimi ve ağartma teknolojisi, K. Ü. Yayın No: 114, Orm. Fak. Yayın No: 13, K. T. Ü. Basımevi, Trabzon, 516 s.

BOZKURT, A.Y., ERDİN, N., ÜNLİGİL, H. 1995. Odun patolojisi ders kitabı, İ.Ü. Yayın No: 3878, , Orm. Fak. Yayın No: 432, İ.Ü. Basımevi, İstanbul, 398 s.

CHEN, Y., SCHMIDT.E. 1995. Improving aspen kraft pulp by a novel, low technology fungal pretreatment. Wood and Fib. Sci 27 (2): 198–204.

ÇÖPÜR, Y. 2002. Fiber properties as an indication of yield in chemical pulping of pine and maple. PhD. Thesis. SUNY-ESF.

EVERT, F. 1971. Spacing studies are review. Canadian Forestry Service, Department of the Environment, Forest Management Institute Information Report FMR-x-37 (Project FM 86), Ottawa, Ontario.

FERRAZ, A., GUERRA, A., MENDONCA, R. 2000. Characterization of residual wood components in samples biotreated by the biopulping fungus *Ceriporiopsis subvermispora*, 2000 Tappi Pulping/Process & Product Quality Conference. Boston, MA, Nov. 5-8, TAPPI Press.

HAFIZOĞLU, H. 1982. Orman ürünleri kimyası, KTÜ. Orman Fakültesi, KTÜ Basımevi, Fakülte Yayın No. 52, Trabzon, s.245.

HAMILTON, G.J. and CHRISTIE, J.M. 1974. Influence of spacing on crop characteristics and yield. Forestry Commission Bulletin 52, London, England.

İMAMOĞLU, S., ATİK, C. 2007. Effects of biological pre-treatment of pine chips on the beating performance of kraft pulp. Progress in Natural Science 17(1):102-106.

İSTEK, A., SİVRİKAYA, H., EROĞLU, H., GÜLSOY, S.K. 2005. Biodegradation of *Abies bornmülleriana* (Mattf.) and *Fagus orientalis* (L.) by the white rot fungus *Phanerochaete chrysosporium*. International Biodeterioration & Biodegradation 55(1): 63-67.

KIRCI, H., 2000. Kağıt hamuru endüstrisi ders notları, KTU Basımevi, Orman Fakültesi Yayını, No: 63, Trabzon.

ORİARAN, T.P., LABOSKY, P.J., BLANKENHORN, P.R. 1990. Kraft pulp and papermaking properties of *Phanerochaete chrysosporium* degraded aspen. Tappi Journal 147-152.

ROCHELEAU, M.J., SITHOLE, B.B., ALLEN, L.H., IVERSON, S., FARRELL, R., NOEL, Y. 1998. Fungal treatment of aspen chips for wood resin reduction: a laboratory evaluation. JPPS 24(2): 37–42.

SAATÇIOĞLU, F. 1957. Türkiye’de ağaçlandırma çalışmalarının planlanması problemleri. İ.Ü.Orman Fakültesi Dergisi, Seri B, Cilt VII, Sayı 2, s. 65–121, İstanbul.

TOZLUOĞLU, A. 2007. Kraft, biyo-kraft, biyo-kraft-aq, biyo-polisülfür ve biyo-kraft-sodyum borhidrür metotları ile kızılçamdan (*pinus brutia* ten.) kağıt hamuru üretimi üzerine bir araştırma. Yüksek Lisans Tezi, 175 s.

YALINKILIÇ, M.K. 1987. Pleurotus ostreatus Jacq. mantarının bazı kağıtlık maddelerde yaptığı biyolojik degradasyon, K. T. Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, Y. L. Tezi (Yayınlanmamıştır), Trabzon, 127 s.

YALINKILIÇ, M.K. 1990. Biyolojik degradasyondan kağıt hamuru endütrisinde yararlanma, Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yayınlanmamış Doktora Tezi, Trabzon, 217 s.