

**AYÇİÇEĞİ TOHUM KABUĞU HEMİSELÜLOZ HİDROLİZATININ
ALKOLE FERMANTASYON KOŞULLARININ VE KİNETİĞİNİN
İNCELENMESİ**

133403

Müjgan TELLİ OKUR

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
(KİMYA MÜHENDİSLİĞİ)**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**Aralık 2003
ANKARA**



133403

Müjgan TELLİ OKUR tarafından hazırlanan AYÇİÇEĞİ TOHUM KABUĞU
HEMİSELÜLOZ HİDROLİZATININ ALKOLE FERMANTASYON
KOŞULLARININ VE KİNETİĞİNİN İNCELENMESİ adlı bu tezin Yüksek Lisans
tezi olarak uygun olduğunu onaylarım.



Prof. Dr. Nurdan SARAÇOĞLU

Tez Yöneticisi

Bu çalışma, jürimiz tarafından Kimya Mühendisliği Anabilim Dalında Yüksek
Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan: : Prof. Dr. Serpil TAKAÇ



Üye : Prof. Dr. Nurdan SARAÇOĞLU



Üye : Doç. Dr. Ufuk GÜNDÜZ ZAFER



Üye : _____

Üye : _____

Bu tez, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tez yazım kurallarına
uygundur.



İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	iii
TEŞEKKÜR.....	v
ÇİZELGELERİN LİSTESİ.....	vi
ŞEKİLLERİN LİSTESİ.....	x
RƏSİMLERİN LİSTESİ.....	xiii
EKLERİN LİSTESİ.....	xiv
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xvi
1. GİRİŞ.....	1
2. KURAMSAL TEMELLER.....	5
2.1. Lignoselülozik Maddeler.....	5
2.2. Ayçiçeği Kabuğu (Helianthus Annuus).....	8
2.3. Selüloz ve Hemiselülozik Maddelerin Hidrolizi.....	11
2.4. Lignoselülozik Maddelerin Bozunma Ürünleri.....	13
2.5. Zehir Giderme Yöntemleri.....	15
2.6. Fermantasyon.....	16
2.6.1. Mikrobial Besi Ortamı.....	18
2.6.2. Fermantasyon Mikroorganizmaları.....	20
2.7. Kesikli Fermantasyon Kinetiği.....	21
2.8. Ksiloz.....	27
2.9. Etil Alkol ve Özellikleri.....	27

2.10. Etil Alkol Üretim Yöntemleri.....	30
2.10.1. Etilenin ve etil eterin hidrasyonu ile etil alkol üretimi.....	30
2.10.2. Etil esterlerin hidrolizi ile etil alkol üretimi.....	31
2.10.3. Asetaldehitin hidrojenasyonu ile etil alkol üretimi.....	31
2.10.4. Hidrokarbonların oksidasyonu ile etil alkol üretimi.....	31
2.10.5. Sentez gazlarından etil alkol üretimi.....	31
2.10.6. Fermantasyon ile etil alkol üretimi.....	31
3. LİTERATÜR ARAŞTIRMASI.....	35
3.1. Zehir Giderme Yöntemleri ve Fermantasyon.....	35
3.2. Lignoselülozik Hidrolizatların Fermantasyonu.....	41
3.3. Fermantasyon Kinetiği.....	43
4. DENEYSEL ÇALIŞMA.....	49
4.1. Ayçiçeği Tohum Kabuğu Hemiselüloz Hidrolizatının Hazırlanması.....	49
4.2. Ayçiçeği Tohum Kabuğu Hemiselüloz Hidrolizatına Uygulanan Ön İşlemler.....	50
4.3. D-Ksilozdan <i>Pichia stipitis</i> Mayası Kullanılarak Fermantasyonla Etil Alkol Eldesi.....	51
4.3.1. Mikroorganizma ve kültür şartları.....	51
4.3.2. Büyüme ortamı.....	52
4.3.3. Fermantasyon ortamı.....	53
4.4. Ayçiçeği Tohum Kabuğu Hemiselüloz Hidrolizatının <i>Pichia stipitis</i> Mayası Kullanılarak Fermantasyonla Etil Alkol Üretimi.....	54
4.5. <i>Pichia stipitis</i> 'in Hidrolizata Adapte Edilmesi ve Fermantasyon...	55
4.5.1. Adaptasyon.....	55

4.5.2. Fermantasyon.....	56
4.6. Ayçiçeği Hidrolizatının Fermentör Sistemindeki Deneyleri.....	57
4.6.1. Deney Düzeneği.....	57
4.4.2. Deneyin Yapılışı.....	58
5. AYÇİÇEĞİ KABUĞU HEMİSELÜLOZ HİDROLİZATININ <i>PICHIA STIPITIS</i> NRRL Y-124 MAYASI İLE FERMANTASYON KİNETİĞİ	59
6. DENEYSEL SONUÇLAR.....	62
6.1. Ayçiçeği Kabuğu Hidrolizatından <i>Pichia stipitis</i> NRRL Y-124 Mayası Kullanılarak Fermantasyonla Çalkalamalı Kaplarda Etil Alkol Üretimi.....	62
6.1.1. Ayçiçeği kabuğu hidrolizatına uygulanan ön işlemler ve mikroorganizma adaptasyonu.....	62
6.1.2. Ayçiçeği Kabuğu hemiselüloz hidrolizatının <i>Pichia stipitis</i> ile fermantasyonuna pH ve çalkalama hızının etkisi.....	66
6.2. Ayçiçeği Kabuğu Hidrolizatından <i>Pichia stipitis</i> NRRL Y-124 Mayası Kullanılarak Fermentör Sisteminde Etil Alkol Üretimi.....	67
6.2.1. Model 1 için model sabitlerinin hesaplanması.....	72
6.2.2. Model 2 için model sabitlerinin hesaplanması.....	73
7. DENEY SONUÇLARININ TARTIŞILMASI.....	75
7.1. Ayçiçeği Kabuğu Hemiselüloz Hidrolizatının <i>Pichia stipitis</i> Mayası İle Fermantasyonuna Ön İşlemlerin Etkisi.....	75
7.2. Mikroorganizma Adaptasyonu İle Ayçiçeği Kabuğu Hemiselüloz Hidrolizatının Fermantasyonu.....	76
7.3. Ayçiçeği Kabuğu Hemiselüloz Hidrolizatının <i>Pichia stipitis</i> İle Fermantasyonuna pH ve Çalkalama Hızının Etkisi.....	77
7.4. Ayçiçeği Kabuğu Hidrolizatından <i>Pichia stipitis</i> NRRL Y-124 Mayası Kullanılarak Fermentör Sisteminde Etil Alkol Eldesi.....	81
8. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	91

KAYNAKLAR.....	94
EKLER.....	100
ÖZGEÇMİŞ.....	181



**AYÇİÇEĞİ TOHUM KABUĞU HEMİSELÜLOZ
HİDROLİZATININ ALKOLE FERMANTASYON KOŞULLARININ VE
KİNETİĞİNİN İNCELENMESİ
(Yüksek Lisans Tezi)**

Müjgan TELLİ OKUR

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
Aralık 2003**

ÖZET

Bu çalışmada, ayçiçeği tohum kabuğundan elde edilen hemiselüloz hidrolizatının *Pichia stipitis* mayası ile etil alkol üretiminde kullanım olanakları araştırılmıştır. Bu amaçla, Antakya yöresinden temin edilen sıkım artığı olan ayçiçeği tohum kabukları 90⁰C'de 0,7 M H₂SO₄ ile 1/5 katı/sıvı (g/mL) oranında hidroliz edilmiştir. Çalışmanın ilk bölümünde, hidrolizata uygulanan farklı zehir giderici ön işlemlerin hidrolizatın fermente edebilme özelliğine etkileri incelenmektedir. Ayrıca *Pichia stipitis* mayası hidrolizata adapte edilerek, adaptasyon işleminin etkisi incelenmiştir. 30⁰C'de çalkalamalı kaplarda yapılan fermantasyon deneyleri CaO ile aşırı titrasyon+sodyum sülfid ilavesi ön işlemi görmüş hidrolizat ile gerçekleştirilen fermantasyonun performansının diğerlerine oranla daha iyi olduğu görülmüştür. Bu bölümde elde edilen en yüksek alkol konsantrasyonu 8,51 g/L olup, bu alkol konsantrasyonu mikroorganizma adaptasyonu ön işlemi görmüş hidrolizatın fermantasyonu ile 9,51 g/L'ye yükselmiştir. Çalışmanın ikinci bölümünde, başlangıç pH ve çalkalama hızının ayçiçeği kabuğu hemiselülozik hidrolizatının alkole fermantasyonuna etkileri de 30⁰C'de çalkalamalı kap deneyleri ile araştırılmıştır. En yüksek alkol konsantrasyonu 11g/L değerine 48g/L toplam indirgen şeker içeren

hidrolizattan başlangıç pH'ı 6'da ve 100 rpm karıştırma hızında ulaşılmıştır. Bu değere karşılık gelen alkol verimi 0,32 g/g, alkol üretim hızı ise 0,065 g/Lsaat'dir. Çalışmanın son bölümünde, küçük ölçekli bir fermentör kabında ayçiçeği hidrolizatının fermantasyonu pH kontrolü yapılmaksızın incelenmiştir. Hava akış hızının fermantasyon üzerine etkisi araştırılmıştır. Fermantasyon kinetiğini tanımlamak için Monod tipi eşitliklerden faydalanılmıştır

Bilim Kodu : 603.02.01
Anahtar Kelimeler :Ayçiçeği kabuğu hidrolizatı, etil alkol, fermantasyon, *Pichia stipitis*.
Sayfa Adedi :181
Tez Yöneticisi : Prof. Dr. Nurdan SARAÇOĞLU

INVESTIGATED OF SUNFLOWER SEED HULLS HEMICELLULOSE
HYDROLYSATE FERMENTATION CONDITIONS AND KINETICS TO THE
ALCOHOL

(M. Sc. Thesis)

Müjgan TELLİ OKUR

GAZI UNIVERSITY
INSTITUTE OF SCIENCE AND TECHNOLOGY
December 2003

ABSTRACT

In this study, the potential use of hemicellulosic hydrolysate derived from sunflower seed hulls in the ethyl alcohol production with *Pichia stipitis* yeast was investigated. For this purpose, the seed hulls pressed baggase obtained from Antakya region was hydrolyzed with sulfuric acid (0.7 M) at 90°C having 1/5 solid/liquid (g/mL). In the first part of the study, the influence of various pretreatments of hydrolysate to reduce toxicity on the fermentability of hydrolysate was investigated. Beside these, *Pichia stipitis* yeast was adapted to hydrolysate and the effect of adaptation was studied. Fermentation experiments performed in shaking flasks at 30°C indicated that overliming with CaO+Na₂SO₃ addition as pretreatment prior to fermentation improved the fermentation performance of hydrolysate better than the other methods. In the second part of the study, the effects of initial pH and shaking rate were studied in shaking bath experiments at 30°C. The highest alcohol level 11 g/L was achieved at initial pH of 6 and 100 rpm shaking rate from a hydrolysate containing 48 g/L reducing sugar. The alcohol yield and alcohol production rate were 0.32 g/g and 0.065 g/L hour, respectively. In the last part of the study, the fermentation of sunflower seed hulls hydrolysate was carried out in a small scale fermentor set-up

at 30°C without any pH control. The influence of air flow rate was investigated. To represent the fermentation kinetics, Monod type equations were tested.



Science Code	: 603.02.01
Key Words	:Sunflower seed hulls hydrolysate, Ethyle Alcohol, Fermentation, <i>Pichia stipitis</i> .
Page Number	:181
Thesis Supervisor	: Prof. Dr. Nurdan SARAÇOĞLU

TEŞEKKÜR

Çalışmalarım süresince her zaman değerli yardım ve katkıları ile beni yönlendiren değerli hocam Prof. Dr. Nurdan SARAÇOĞLU'na, model çalışmasının çözümündeki katkılarından dolayı Doç. Dr. Ufuk GÜNDÜZ ZAFER'e, araştırma görevlisi arkadaşlarıma, laboratuvar görevlilerine, manevi desteğini esirgemeyen aileme, anneanne ve dedeme, deneysel çalışmalarım ve tez yazımı sırasında yardım ve katkılarını hiçbir zaman benden esirgemeyen eşim Melih OKUR'a teşekkürü bir borç bilirim.



ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge		Sayfa
Çizelge 2.1.	Farklı lignoselülozik maddelerin bileşimi.....	7
Çizelge 2.2.	Ayçiçeği kabuğunun besin maddesi içeriği.....	9
Çizelge 2.3.	İnhibitör grupları ve fermantasyona etkileri.....	14
Çizelge 2.4.	Farklı zehir giderme yöntemleri ve zehir giderici etkileri.....	15
Çizelge 2.5.	Etil alkolün fiziksel özellikleri.....	28
Çizelge 6.1.	Farklı zehir giderici ön işlemlerin toplam furanlara etkisi.....	63
Çizelge 6.2.	Ayçiçeği kabuğu hemiselüloz hidrolizatına uygulanan ön işlemlerin ve mikroorganizma adaptasyonunun fermantasyon sonuçları.....	65
Çizelge 6.3.	Ayçiçeği kabuğu hemiselüloz hidrolizatının fermantasyonuna pH ve çalkalama hızının etkisi.....	67
Çizelge 6.4.	Substrat ve biyokütle konsantrasyonları arasındaki lineer bağıntılar.....	70
Çizelge 6.5.	Etanol ve biyokütle konsantrasyonları arasındaki lineer bağıntılar.....	71
Çizelge 6.6	Eşitlik 6.11 (Model 1) için lineer olmayan regresyon sonuçları.....	72
Çizelge 6.7	Eşitlik 6.14 (Model 2) için lineer olmayan regresyon sonuçları.....	74
Çizelge 7.1.	Ayçiçeği kabuğu hidrolizatının <i>Pichia stipitis</i> mayası ile fermantasyonunun literatürle karşılaştırılması.....	79
Çizelge 7.2.	Model 1 ve 2'den hesaplanan kinetik parametreler...	87
Çizelge 7.3.	Ayçiçeği kabuğu hidrolizatının fermantasyon kinetiğinin literatürle karşılaştırılması.....	90
Çizelge E6.1	Sentetik D-Ksiloz ile fermantasyon deney sonuçları	114

Çizelge E6.2	CaO ile pH=10'a aşırı titrasyon ön işlemi görmüş hidrolizat ile fermantasyon deney sonuçları.....	114
Çizelge E6.3	CaO ile pH=10'a aşırı titrasyon + Na ₂ SO ₃ ön işlemi görmüş hidrolizat ile fermantasyon deney sonuçları...	115
Çizelge E6.4	CaO ile pH=10'a aşırı titrasyon + Aktif karbon ön işlemi görmüş hidrolizat ile fermantasyon deney sonuçları.....	115
Çizelge E6.5	CaO ile pH=6'a nötralize edilmiş hidrolizat ile fermantasyon deney sonuçları.....	116
Çizelge E8.1	Sentetik D-Ksiloz ile fermantasyon deney sonuçları...	121
Çizelge E8.2	CaO ile pH=10'a aşırı titrasyon ön işlemi görmüş hidrolizat ile fermantasyon deney sonuçları.....	121
Çizelge E8.3	CaO ile pH=10'a aşırı titrasyon + Na ₂ SO ₃ ön işlemi görmüş hidrolizat ile fermantasyon deney sonuçları...	122
Çizelge E8.4	CaO ile pH=10'a aşırı titrasyon + Aktif Karbon ön işlemi görmüş hidrolizat ile fermantasyon deney sonuçları.....	122
Çizelge E8.5	CaO ile pH=6'a nötralize edilmiş hidrolizat ile fermantasyon deney sonuçları.....	123
Çizelge E10.1	CaO ile pH=10'a aşırı titrasyon ön işlemi görmüş hidrolizatın adapte mikroorganizma ile fermantasyonu.....	128
Çizelge E10.2	CaO ile pH=10'a aşırı titrasyon + Na ₂ SO ₃ ön işlemi görmüş hidrolizatın adapte mikroorganizma ile fermantasyonu.....	128
Çizelge E10.3	CaO ile pH=6'a titrasyon ön işlemi görmüş hidrolizatın adapte mikroorganizma ile fermantasyonu	129
Çizelge E12.1	Ayçiçeği kabuğu hidrolizatının <i>Pichia stipitis</i> ile fermantasyonu (pH=6, 70rpm).....	134
Çizelge E12.2	Ayçiçeği kabuğu hidrolizatının <i>Pichia stipitis</i> ile fermantasyonu (pH=6, 100rpm).....	134
Çizelge E12.3	Ayçiçeği kabuğu hidrolizatının <i>Pichia stipitis</i> ile	

	fermantasyonu (pH=6, 130rpm).....	135
Çizelge E12.4	Ayçiçeği kabuğu hidrolizatının <i>Pichia stipitis</i> ile fermentasyonu (pH=5,5, 100rpm).....	135
Çizelge E12.5	Ayçiçeği kabuğu hidrolizatının <i>Pichia stipitis</i> ile fermentasyonu (pH=6,5, 100rpm).....	136
Çizelge E12.6	Ayçiçeği kabuğu hidrolizatının <i>Pichia stipitis</i> ile fermentasyonu (pH=7, 100rpm).....	136
Çizelge E14.1	25 g/L indirgen şeker içeren ayçiçeği kabuğu hidrolizatı ile fermentasyon deney sonuçları.....	142
Çizelge E14.2	35 g/L indirgen şeker içeren ayçiçeği kabuğu hidrolizatı ile fermentasyon deney sonuçları.....	142
Çizelge E14.3	45 g/L indirgen şeker içeren ayçiçeği kabuğu hidrolizatı ile fermentasyon deney sonuçları.....	143
Çizelge E14.4	55 g/L indirgen şeker içeren ayçiçeği kabuğu hidrolizatı ile fermentasyon deney sonuçları.....	143
Çizelge E20.1	25 g/L indirgen şeker içeren hidrolizat deney sonuçları ile Model 1 arasındaki % bağıl hata değerleri.....	168
Çizelge E20.2	25 g/L indirgen şeker içeren hidrolizat deney sonuçları ile Model 2 arasındaki % bağıl hata değerleri.....	168
Çizelge E20.3	35 g/L indirgen şeker içeren hidrolizat deney sonuçları ile Model 1 arasındaki % bağıl hata değerleri.....	169
Çizelge E20.4	35 g/L indirgen şeker içeren hidrolizat deney sonuçları ile Model 2 arasındaki % bağıl hata değerleri.....	169
Çizelge E20.5	45 g/L indirgen şeker içeren hidrolizat deney sonuçları ile Model 1 arasındaki % bağıl hata değerleri.....	170
Çizelge E20.6	45 g/L indirgen şeker içeren hidrolizat deney sonuçları ile Model 2 arasındaki % bağıl hata değerleri.....	170

Çizelge E20.7	55 g/L indirgen şeker içeren hidrolizat deney sonuçları ile Model 1 arasındaki % bağıl hata değerleri.....	171
Çizelge E20.8	55 g/L indirgen şeker içeren hidrolizat deney sonuçları ile Model 2 arasındaki % bağıl hata değerleri.....	171



ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil		Sayfa
Şekil 2.1.	Lignoselülozik maddelerin hidroliz ürünleri.....	5
Şekil 2.2.	Glikoz moleküllerinin oluşturduğu selüloz molekülü.....	6
Şekil 2.3.	Lignoselülozik maddelerden etanol üretimi akım şeması.....	11
Şekil 2.4.	Tipik bir fermantasyon prosesi.....	18
Şekil 2.5.	Mikroorganizmaların üreme evreleri.....	21
Şekil 2.6.	D-Ksilozun yapısı.....	27
Şekil 6.1.	Ön işlem görmemiş ayçiçeği kabuğu hidrolizatının 2 N NaOH ile titrasyon eğrisi.....	63
Şekil 6.2.	Farklı hava akış hızlarındaki büyüme eğrileri.....	68
Şekil 6.3.	Biyokütle ve substrat konsantrasyonları arasındaki ilişki.....	69
Şekil 6.4.	Biyokütle ve etanol konsantrasyonları arasındaki ilişki.	71
Şekil 6.5	Spesifik büyüme hızı ile substrat konsantrasyonu arasındaki ilişki.....	73
Şekil 7.1.	25 g/L indirgen şeker içeren hidrolizatın Eşitlik 6.11'e (Model 1) ait konsantrasyon-zaman grafiği.....	83
Şekil 7.2.	25 g/L indirgen şeker içeren hidrolizatın Eşitlik 6.14'e (Model 2) ait konsantrasyon-zaman grafiği.....	83
Şekil 7.3.	35 g/L indirgen şeker içeren hidrolizatın Eşitlik 6.11'e (Model 1) ait konsantrasyon-zaman grafiği.....	84
Şekil 7.4.	35 g/L indirgen şeker içeren hidrolizatın Eşitlik 6.14'e (Model 2) ait konsantrasyon-zaman grafiği.....	84
Şekil 7.5.	45 g/L indirgen şeker içeren hidrolizatın Eşitlik 6.11'e (Model 1) ait konsantrasyon-zaman grafiği.....	85
Şekil 7.6.	45 g/L indirgen şeker içeren hidrolizatın Eşitlik 6.14'e (Model 2) ait konsantrasyon-zaman grafiği.....	85

Şekil 7.7.	55 g/L indirgen şeker içeren hidrolizatın Eşitlik 6.11'e (Model 1) ait konsantrasyon-zaman grafiği.....	86
Şekil 7.8.	55 g/L indirgen şeker içeren hidrolizatın Eşitlik 6.14'e (Model 2) ait konsantrasyon-zaman grafiği.....	86
Şekil 7.9	25 g/L indirgen şeker içeren hidrolizatın Eşitlik 6.11'e (Model 1) ait konsantrasyon-zaman grafiği.....	88
Şekil 7.10	35 g/L indirgen şeker içeren hidrolizatın Eşitlik 6.11'e (Model 1) ait konsantrasyon-zaman grafiği.....	88
Şekil 7.11	45 g/L indirgen şeker içeren hidrolizatın Eşitlik 6.11'e (Model 1) ait konsantrasyon-zaman grafiği.....	89
Şekil 7.12	55 g/L indirgen şeker içeren hidrolizatın Eşitlik 6.11'e (Model 1) ait konsantrasyon-zaman grafiği.....	89
Şekil E2.1	<i>Pichia stipitis</i> mayasına ait büyüme eğrisi.....	104
Şekil E5.1	%20 ve %40 oranında hidrolizat içeren büyüme ortamlarına ait büyüme eğrileri.....	112
Şekil E7.1	30 g/L indirgen şeker içeren hidrolizatın fermantasyonunda ön işlemlerin biyokütle büyümesine etkisi.....	118
Şekil E7.2	30 g/L indirgen şeker içeren hidrolizatın fermantasyonunda indirgen şeker konsantrasyonu.....	118
Şekil E7.3	30 g/L indirgen şeker içeren hidrolizatın fermantasyonunda etanol konsantrasyonu.....	119
Şekil E9.1	48 g/L indirgen şeker içeren hidrolizatın fermantasyonunda ön işlemlerin biyokütle büyümesine etkisi.....	125
Şekil E9.2	48 g/L indirgen şeker içeren hidrolizatın fermantasyonunda indirgen şeker konsantrasyonu.....	125
Şekil E9.3	48 g/L indirgen şeker içeren hidrolizatın fermantasyonunda etanol konsantrasyonu.....	126
Şekil E11.1	Ayçiçeği kabuğu hidrolizatının adapte edilmiş mikroorganizma ile fermantasyonunda farklı ön işlemlerin biyokütle konsantrasyonuna etkisi.....	131

Şekil E11.2	Ayçiçeği kabuğu hidrolizatının adapte edilmiş mikroorganizma ile fermantasyonunda farklı ön işlemlerin indirgen şeker konsantrasyonuna etkisi.....	131
Şekil E11.3	Ayçiçeği kabuğu hidrolizatının adapte edilmiş mikroorganizma ile fermantasyonunda farklı ön işlemlerin etanol konsantrasyonuna etkisi.....	132
Şekil E13.1	Ayçiçeği kabuğu hidrolizatının fermantasyonunda pH'ın biyokütle konsantrasyonuna etkisi (100rpm).....	138
Şekil E13.2	Ayçiçeği kabuğu hidrolizatının fermantasyonunda pH'ın indirgen şeker konsantrasyonuna etkisi (100rpm)	138
Şekil E13.3	Ayçiçeği kabuğu hidrolizatının fermantasyonunda pH'ın etanol konsantrasyonuna etkisi (100rpm).....	139
Şekil E13.4	Ayçiçeği kabuğu hidrolizatının fermantasyonunda çalkalama hızının biyokütle konsantrasyonuna etkisi (pH=6).....	139
Şekil E13.5	Ayçiçeği kabuğu hidrolizatının fermantasyonunda çalkalama hızının indirgen şeker konsantrasyonuna etkisi (pH=6).....	140
Şekil E13.6	Ayçiçeği kabuğu hidrolizatının fermantasyonunda çalkalama hızının etanol konsantrasyonuna etkisi (pH=6).....	140
Şekil E15.1	25 g/L İndirgen şeker içeren ayçiçeği kabuğu hidrolizatının fermantasyonuna ait konsantrasyon-zaman grafiği	145
Şekil E15.2	35 g/L İndirgen şeker içeren ayçiçeği kabuğu hidrolizatının fermantasyonuna ait konsantrasyon-zaman grafiği.....	145
Şekil E15.3	45 g/L İndirgen şeker içeren ayçiçeği kabuğu hidrolizatının fermantasyonuna ait konsantrasyon-zaman grafiği.....	146
Şekil E15.4	55 g/L İndirgen şeker içeren ayçiçeği kabuğu hidrolizatının fermantasyonuna ait konsantrasyon-zaman grafiği.....	

RESİMLERİN LİSTESİ

Resim	Sayfa
Resim 4.1. Hidrolizat hazırlanan deney düzeneği	50
Resim 4.2. Fermentör Düzeneği	57



EKLERİN LİSTESİ

Ek	Sayfa
Ek-1 Mikroorganizma İçin Ağırlık Tayini.....	101
Ek-2 <i>Pichia stipitis</i> NRRL Y-124 Mayasına Ait Büyüme Eğrisi.....	103
Ek-3 DNS Yöntemiyle İndirgen Şeker Analizi.....	105
Ek-4 Etil Alkol Analizi.....	107
Ek-5 % 20 ve % 40 Hidrolizat İçeren Büyüme Ortamında <i>Pichia stipitis</i> NRRL Y-124 Mayasına Ait Büyüme Eğrisi.....	111
Ek-6 30 g/L İndirgen Şeker İçeren Ayçiçeği Kabuğu Hidrolizatı İle Fermantasyon Deney Sonuçları.....	113
Ek-7 30 g/L İndirgen Şeker İçeren Ayçiçeği Kabuğu Hidrolizatı İle Fermantasyonuna Ait Konsantrasyon-Zaman Grafikleri.....	117
Ek-8 48 g/L İndirgen Şeker İçeren Ayçiçeği Kabuğu Hidrolizatı İle Fermantasyon Deney Sonuçları.....	120
Ek-9 48 g/L İndirgen Şeker İçeren Ayçiçeği Kabuğu Hidrolizatı İle Fermantasyonuna Ait Konsantrasyon-Zaman Grafikleri.....	124
Ek-10 Ayçiçeği Kabuğu Hidrolizatına Mikroorganizma Adaptasyonu İle Fermantasyon Deney Sonuçları.....	127
Ek-11 Ayçiçeği Kabuğu Hidrolizatına Mikroorganizma Adaptasyonu İle Fermantasyonuna Ait Konsantrasyon-Zaman Grafikleri.....	130
Ek-12 Ayçiçeği Kabuğu Hidrolizatının Fermantasyonuna pH ve Çalkalama Hızının Etkisi.....	133
Ek-13 Ayçiçeği Kabuğu Hidrolizatının Farklı pH Ve Çalkalama Hızlarındaki Fermantasyonuna Ait Konsantrasyon-Zaman Grafikleri.....	137
Ek-14 Ayçiçeği Kabuğu Hidrolizatının Fermentör Sistemindeki Deney Sonuçları.....	141
Ek-15 Ayçiçeği Kabuğu Hidrolizatının Fermentör Sistemindeki Deneylerine Ait Konsantrasyon-Zaman Grafikleri.....	144
Ek-16 Substrat ve Biyokütle Konsantrasyonlarına Ait Lineer	

Regresyon İstatistikleri.....	147
Ek-17 Etanol ve Biyokütle Konsantrasyonlarına Ait Lineer Regresyon İstatistikleri.....	152
Ek-18 Model 1'e Ait Lineer Olmayan Regresyon İstatistikleri.....	157
Ek-19 Model 2'e Ait Lineer Olmayan Regresyon İstatistikleri.....	162
Ek-20 Model ve Deneysel Sonuçlar Arasındaki % Bağlı Hata Değerleri.....	167
Ek-21 İnternet Kaynakları.....	172



SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış bazı simgeler, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

Simgeler	Açıklama
μ	Spesifik büyüme hızı (st^{-1})
μ_m	Maksimum spesifik büyüme hızı (st^{-1})
$Y_{X/S}$	Biyokütle verimi (g/g)
$Y_{P/S}$	Ürün verimi (g/g)
E_{max}	Maksimum etanol konsantrasyonu (g/L)
Q_P	Volumetrik üretim hızı (g/L.saat)
C_X	Biyokütle konsantrasyonu (g/L)
C_S	Substrat konsantrasyonu (g/L)
C_P	Ürün (etanol) konsantrasyonu (g/L)
c	sabit
K_S	Monod doygunluk sabiti (g/L)
K_I	Substrat inhibizasyonu terimi (g/L)
r_X	Biyokütle oluşum hızı (g/L.st)
r_S	Substrat harcanma hızı (g/L.st)
r_P	Ürün oluşum hızı (g/L.st)

Kısaltmalar	Açıklama
-------------	----------

RSS	Artık kareler toplamı
-----	-----------------------

1.GİRİŞ

Son yıllarda etanolün alternatif bir yakıt olarak özellikle iki nedenden dolayı ilgi çektiğini söyleyebiliriz. Öncelikle 1970'lerdeki petrol krizi petrole olan ilgiyi azaltırken lignoselülozik maddelerden etanol üretilmesi için yenilenebilir kaynaklara yönelmeyi hızlandırmıştır. Buna ilave olarak yenilenebilir enerji kaynaklarından etanol üretim prosesinin atmosfere net karbondioksit ilavesi yoktur. Etanol 'ün emisyonu ve zehirliliği petrolünkünden daha düşüktür. Bu özellikler etanol'ü çevreye karşı yararlı bir enerji kaynağı haline getirmektedir. Lignoselülozik maddeler bol ve ucuz hammadde kaynağı oluşturmalarına rağmen etanol üretimi için mevcut prosesler, son derece kapsamlı ve maliyetlidir. Lignoselülozik maddelerden etanol üretimi şu basamakları içermektedir (1).

- Lignoselülozik yapının fermente edilebilir substrata bozunması
- Fermantasyon
- %95'lik etanol elde etmek için fermantasyon karışımının distilasyonu.

Lignoselülozik maddeler temel olarak selüloz, hemiselüloz lignin, üronik asitler ve asetil gruplardan oluşmaktadırlar. Selüloz ve hemiselüloz doğada en bol bulunan yenilenebilir kaynaklardır ve ligninle beraber bitki atığının kuru ağırlığının % 95 'ini oluştururlar. Hemiselülozik ve selülozik kısımlar glukoz, mannoz, galaktoz, ksiloz ve arabinozdan oluşan monosakkaritleri içerir ve kompozisyonları da hammaddenin doğasına bağlıdır (2).

Selüloz lineer, β -D glukoz biriminin kristal polimeridir, yapısı rijittir ve bozunması için sert reaksiyon koşulları gerektirir. Hemiselülozun bileşimi lignoselülozik hammaddenin kaynağıyla değişmekle birlikte, kristal yapıya sahip olmadığı için kolayca hidroliz olur.

Etanol üretimi için incelenen lignoselülozik hammaddeler sert odun, yumuşak odun, ormancılık ve tarımsal artıklar ve evsel katı atıklardır.

Hammaddelerdeki selüloz ve hemiselülozun bileşimi kaynağa bağlı olarak değişmektedir. Selüloz ve hemiselüloz toplam kuru ağırlığın sırasıyla yaklaşık %36-61 ve %13-39'unu oluşturmaktadırlar. Hammaddedeki pentoz kapasitesi, etanole fermente olan pentoz olarak önemlidir. Bunlar da yaklaşık olarak %6-28 aralığında değişmektedir.

Bitkisel kaynaklı hammaddeye dayanan mevcut alkol üretim proseslerinde lignoselülozik yapının bozunması ön hidroliz (hemiselüloz yapının bozunması) ve selülozun bozunması olmak üzere iki aşamada gerçekleştirilmektedir. Ön hidroliz işlemi buharla ön işlem, dondurarak patlama, asitle muamele, organik çözücü ile muamele, alkali ile muamele ve beyaz rot küf gibi fiziksel, kimyasal yada biyolojik metotlarla yapılmaktadır. Selülozun hidrolizi yüksek sıcaklıkta sulu mineral asit yöntemleri, düşük sıcaklıkta konsantre mineral asit yöntemleri ve düşük sıcaklıkta enzime dayalı yöntemler olarak sıralanabilmektedir (1). Lignoselülozik yapının bozunması sırasında hidrolizat sadece fermente edilebilir şekerleri içermez, bu arada geniş bir aralıkta mikroorganizmayı inhibe edici bileşik de oluşur. Bu bileşikler seyreltik asitler, furfural, hidroksimetilfurfural ve fenolik bileşiklerdir. Bu bileşikleri ortamdan uzaklaştırmak için, nötrleştirme, CaO'le muamele (overliming), iyon değişimi, çözücü ekstraksiyonu, aktif karbonla muamele gibi çeşitli zehir giderme metotları geliştirilmiştir (1,3,4).

Zehir giderme işlemi uygulanmış hemiselüloz hidrolizatı 5-C ve 6-C şeker polimerleri olan pentoz ve heksozları içermektedir. Pentoz fraksiyonunun ana bileşeni olan ksiloz *Candida shehatae*, *Pachysolen tannophilus* ve *Pichia stipitis* gibi mayalar yardımıyla etanole fermente edilmektedir. Ticari amaçlı kullanılan alkol üretim proseslerine heksozların etanole fermantasyonu için yaygın olarak *Saccharomyces cerevisiae* kullanılmaktadır. Heksozlar ve pentozlar uygun mikroorganizmalar yardımıyla aynı anda fermente edilebilmektedirler (1).

Lignoselülozik maddeler bol ve ucuz olmaları nedeniyle etanol üretimi için oldukça uygun hammaddelerdir. Ayçiçeği tohum kabukları, yapısındaki potansiyel şekeri ifade eden hemiselüloz pentoz oranının %21,5 (5) olması nedeniyle lignoselülozik bir hammadde olarak kullanılması düşünülebilir. Ayçiçeği kabuğu yıllık bir bitkidir ve her yıl ülkemizde yaklaşık 950 000 ton ayçiçeği üretilmektedir. Bunun yaklaşık 550 000 tonu yağ fabrikası sıkım artığı olarak ayrılmakta ve bu sıkım artıkları yakıt olarak ve hayvan yemi olarak kullanılmaktadır (6). Bu çalışmada Antakya yöresindeki bir yağ fabrikasının sıkım artığı olan ayçiçeği kabuklarının fermentasyon yolu ile alkol elde edilmesinde ucuz bir hammadde kaynağı olarak değerlendirme olanaklarının araştırılması amaçlanmıştır.

Çalışma birkaç aşamada yürütülmüştür. Birinci aşama üç kısımdan oluşmaktadır. İlk kısmında ayçiçeği kabuğu hidrolizat örnekleri öncelikle bazı zehir giderici ön işlemlere tabi tutulmuştur. Hidrolizat örneklerine uygulanan ön işlemler; CaO ile aşırı titrasyon, CaO ile aşırı titrasyon + aktif karbon ile işlem, CaO ile aşırı titrasyon + sodyum sülfat ilavesi, CaO ile nötrleştirme'dir. Bu ön işlemler arasında en etkin olanı, bu hidrolizat örneklerinin *Pichia stipitis* mayası ile fermentasyon sonuçlarının karşılaştırılmasıyla belirlenmiştir.

İkinci kısmında mikroorganizmalar ayçiçeği kabuğu hemiselülozik hidrolizatına ilk önce eğik agar ortamında, daha sonra hidrolizat içeren büyüme ortamında adapte edilmişlerdir ve fermentasyon işlemi gerçekleştirilerek adaptasyon işleminin uygulanabilir olup olmadığına karar verilmiştir.

Üçüncü bölümde, zehir giderme işlemi uygulanmış hidrolizat ile, başlangıç pH değeri ve çalkalama hızı gibi parametrelerin ayçiçeği kabuğu hidrolizatının alkol fermentasyonuna etkilerini belirlemek için çalkalamalı kaplarda deneysel çalışmalar yapılmıştır.

Çalışmanın son kısmında ise küçük ölçekli bir fermentör sistemi kurulmuştur. Önce ayçiçeği kabuğu hidrolizatının bu sistemdeki *Pichia stipitis* ile alkole dönüşümüne hava akış hızının etkisi araştırılmıştır. Daha sonra ise belirlenen hava akış hızında, ayçiçeği kabuğu substrat olarak kullanılarak *Pichia stipitis* mayası ile kinetik çalışmalar gerçekleştirilmiştir. Elde edilen deneysel veriler kullanılarak ayçiçeği kabuğu hidrolizatının *Pichia stipitis* mayası ile fermantasyonuna ait kinetik modeller elde edilmiştir.

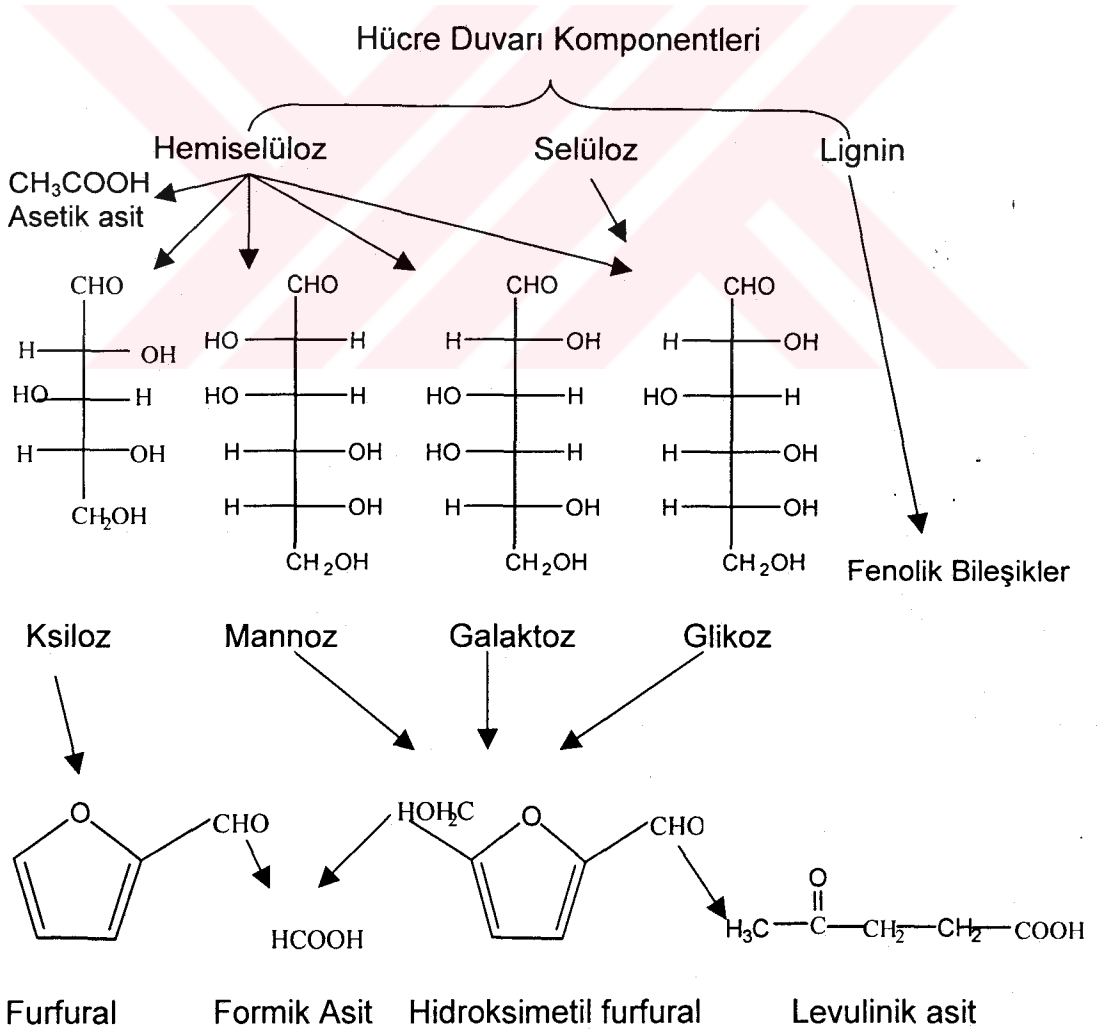


2. KURAMSAL TEMELLER

2.1 Lignoselülozik Maddeler

Tarımsal veya endüstriyel aktivitelerin atık akımları ile orman ürünlerinin içerdiği lignoselülozik maddeler geniş dağılımları, yenilenebilir karakterleri ve düşük maliyetle büyük miktarlarda kullanılabilme özelliklerinden dolayı etanol üretimi için önemli bir hammadde kaynağı oluştururlar (7).

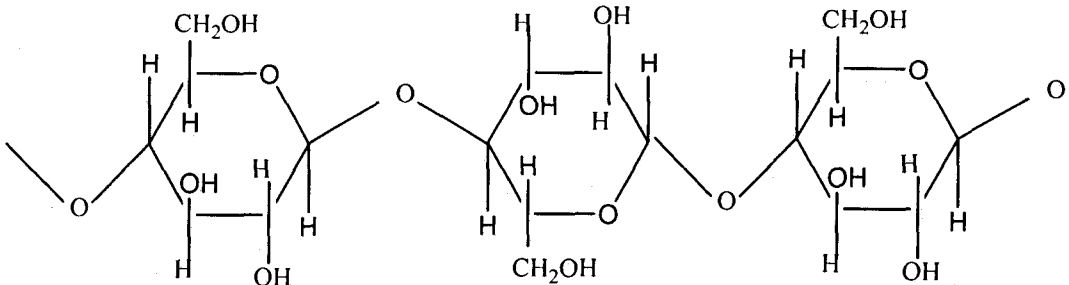
Lignoselülozik maddeler temel olarak selüloz, hemiselüloz, lignin, özütlenebilir maddeler ve inorganik gruplardan oluşurlar (Şekil 2.1.).



Şekil 2.1. Lignoselülozik maddelerin hidroliz ürünleri (8)

Yüksek bitkilerin hücre duvarları lignoselüloz içerir. Lignin ayrıldığı zaman geriye bir polisakkarit türevi kalır. Bitki hücresindeki polisakkarit kompleksine holoselüloz denir. Holoselüloz hidroliz edilirse selüloz, hemiselüloz, üronik asitler ve asetil gruplar verir (9). Selüloz yapı maddesi olarak bitkilerde ve bitkisel hücre zarlarında yaygın olarak bulunur. Selüloza bazı omurgasız deniz hayvanlarında da rastlanır. $(C_6H_{10}O_5)_x$ kapalı formülü ile bilinen selüloz, glikoz moleküllerinin 1 ve 4 karbonlarının glikozid bağı ile bağlanması sonucu meydana gelmiştir. Düz bir zincir yapısına sahip olup molekül başına 300-2500 glikoz kalıntısı düşer ve buna bağlı olarak molekül ağırlığı 50 000-2000 000 arasında değişebilir. Asitlerle tam hidrolizi β -glikozu, sınırlı hidrolizi ise sellobiyozu oluşturur. Şekil 2.2'de selüloz molekülünden bir parçasının formülü görülmektedir (10).

Glikoz molekülleri iplikler oluşturmak için birbirine bağlandığında, üçten fazla birim olmuşsa, suda çözülmez hale gelirler. Bu nedenle bu polimerdeki şekeri (glikoz) kullanmak için, iplikler öncelikle çözünür şekerler doğrultusunda depolarize edilmelidir. Nişasta ve selülozu, glikoz yönünden hidrolize etmek için, kimyasal işlemlere başvurmak gerekir. Selülozun indirgenmesi, nişastanın aksine selüloz ipliklerinin dallı olmaması ve glikoz moleküllerinin α -1,4 yerine β -1,4 bağları ile bağlı olması yüzünden daha da komplikedir.



Şekil 2.2. Glikoz moleküllerinin oluşturduğu selüloz molekülü (10)

Bu monomerik yapı (Şekil 2.2) selüloz ipliklerine, komşu ipliklerin glikoz moleküllerinin hidroksil grupları arasındaki hidrojen bağları tarafından, üç boyutlu kristal oluşturma yeteneği vermektedir. Doğal selülozun hidrolizini engelleyen daha ileri bir komplikasyon da, yüksek molekül ağırlıklı polimer ligninin varlığıdır (9).

Hemiselülozlar düşük molekül ağırlıklı polisakkaritlerdir. Yapılarında D-ksiloz, L-arabinoz D-mannoz, D-glikoz, D-galaktoz, üronik asitler ve asetil grupları içerirler. Hücre duvarında en bol bulunan hemiselüloz tipleri glukolar, mannanlar ve ksilanlardır. Hemiselülozların en önemli bileşenlerinden birisi olan ksilanlar homopolimerdir ve β -1,4 bağlı ksiloz kalıntıları içerir. Hemiselülozların yapıları kristalli değildir ve böylece kolayca hidroliz edilirler. Her bir bileşiğin oranı bitki kaynağına bağlı olarak değişmektedir (11).

Lignin doğada en bol bulunan polimerdir. Hücre duvarında bulunur, yapısal dayanıklılık, geçirmezlik, mikrobiyal saldırılara ve oksidatif etkilere karşı direnç sağlar. Yapısal olarak lignin, amorf heteropolimerdir, suda çözünmez, ve farklı tipteki bağlarla bağlanmış fenil propan birimlerini içerir (12).

Çizelge 2.1. Farklı lignoselülozik maddelerin bileşimi (1)

Lignoselülozik Hammadde	Selüloz (%)	Hemiselüloz (%)	Lignin (%)	Pentoz (%)
Tarımsal atıklar				
Buğday Sapı	36	28	29	28
Mısır koçanı	36	28	—	28
Ormancılık Artıkları				
Ladin	43	26	29	6
Çam	44	26	29	8
Huş Ağacı	40	39	21	25
Söğüt	37	23	21	14
Kavak	51	29	16	16
Evsel Katı Atıklar				
Kağıt Temelli	43	13	6	—
İşlenmiş Atıklar	47	25	12	—
Gazete Atıkları	61	16	21	—

Lignoselülozik maddeler genel olarak, tarımsal atıkları, ormanda ekonomik değeri olmayan ormancılık artıkları ve evsel katı atıkları içermektedir. Bazı lignoselülozik hammaddelerin selüloz, hemiselüloz ve lignin içerikleri Çizelge 2.1'de gösterilmektedir.

Selüloz ve hemiselüloz bitki kuru ağırlığının yaklaşık % 36-61 ve % 13-39'unu oluştururlar (Çizelge 2.1.). Lignoselülozik hammaddedeki pentoz kapasitesi etanole fermente olan pentoz olarak önemlidir. Buda toplam kuru ağırlığın % 6-28'ini oluşturur (1).

2.2 Ayçiçeği Kabuğu (*Helianthus Annuus*)

Günebakan, gündöndü ve günçiçeği olarak da bilinen ayçiçeği "Asteroceae" (Compositae) familyasından bir yıllık bir bitkidir. Anayurdu Kuzey ve Güney Amerika olan ayçiçeğinin 1-5 metre uzunluğunda tüylü bir gövdesi, 7,5-30 cm uzunluğunda, kalın dişli, geniş yaprakları vardır. Çiçek başının (kümeç) eni, yabani olanlarda 7,5-15 cm, kültürü yapılanlarda 30 cm'den daha fazladır. Kömecin ortasındaki çiçekler kahverengi, sarı yada mor, kenardakiler ise sarı renktedir (13). Kömecin üstündeki çiçek sayısı 1500'ü bulabilir. Taneler kömecin üstünde sıkça dizili birer akendir. Bu aken 1 cm boyunda, gri, siyah yada beyaz ve gri çizgili, selülozdan bir kabukla kaplı, oval bir meyvedir; içinde aynı biçimde serbest bir tohum bulunur (14).

Ayçiçeği kabuğu her bitkide olduğu gibi, taneyi kaplar ve dış etmenlerden korur. Yağlık ayçiçeği tanesinin toplam ağırlığının yaklaşık % 21-30'u kabuktur. Çerezlik çeşitlerde bu oran % 36-50 arasında değişir. Ancak çerezlik ve yağlık tiplerin kimyasal kompozisyonları arasında, çerezliklerin biraz daha fazla lif içermesi hariç, belirgin bir fark yoktur. Ayçiçeğinde, tanedeki kabuk ve yağ oranı arasında ters bir bağıntı vardır. İyi bir yağlık ayçiçeği hibrit çeşidin tanesindeki yağ oranı % 50'nin üzerinde ve kabuk oranı ise % 20 civarında olmalıdır.

Gerek yağlık gerekse çerezlik taneler, yüksek oranda lif (ham selüloz), düşük miktarlarda da ham yağ ve kül içerirler. Kabuktaki selüloz, lignin, hemiselüloz (çoğunluğu glukuronoksilan) miktarları % 74-90 olup, arta kalan kısmı da lipit, protein ve mineral maddelerdir. Kabuğun besin maddesi içeriği Çizelge 2.2 'de verilmiştir.

Çizelge 2.2. Ayçiçeği kabuğunun besin maddesi içeriği (15)

Besin Maddesi İçeriği	%'de Miktarı
Kuru Madde	85-92
Ham Protein	3,5-9
Hazım Edilebilir Protein	2-4
Hazım Edilebilir Besin Maddesi Toplamı	35-45
Ham Selüloz	40-50
Lignin	13-16
Kül	2-3
Yağ	0,05-3
Ca	0,37
Mg	0,15-0,25
P	0,12

Ayçiçeği bitkisinin ülkemizdeki yıllık üretimi Enerji ve Doğal Kaynaklar Bakanlığının verilerine göre 950 000 tondur (Enerji ve Doğal Kaynaklar Bakanlığı,2000). Bu üretimin yaklaşık 550 000 tonu küspe olarak elde edilmektedir. Bu küspenin çok değişik kullanım alanları bulunmaktadır.

Ülkemizde ayçiçeği işleyen bazı fabrikalarda kabuk tamamen küspe eldesin de kullanılırken, bazı fabrikalarda da özellikle yüksek proteinli küspe elde edilmek istendiğinde, yaklaşık % 7-12 arasında bir ek ürün olarak çıkmaktadır. Bu durumda da ısıtma kazanlarında enerji ihtiyacını karşılamak için kömür ile karıştırılarak yakılmaktadır.

Ayçiçeği gerek tanesinin tümü, gerekse sadece kabuğu, herhangi bir kimyasal maddeyle muamele edilmediği müddetçe zararlı bir madde içermez. Ancak yakılma işlemi sırasında atmosfere karışan net CO₂ ve diğer gazlar, aynen diğer yakacak ürünlerinin kullanılmasında olduğu gibidir. Ayçiçeği kabuğunun yakıt değeri 8300-8500 BTU/pound civarında değişmektedir. Sonuç olarak, ayçiçeği işleyen fabrikaların nakliye maliyetlerinde ayçiçeği kabuğu belirli bir hacim kapladığından, genelde kabuğunun çıkartılması daha ekonomik olmakta ve ayçiçeği kabuğu yakılarak ısı enerjisi elde edilmesi de tesislere artı bir değer getirmektedir. Ancak fırınlarda yakılması sırasında kabukların fazla miktarda kül bırakması bir dezavantajdır (15)

Tohumlardan yağ çıkarıldıktan sonra kalan küspe, fazlaca bitkisel kabuk içerdiği ve bunlar az sindirilebilir olduğu için enerji değeri bakımından orta derecede bir yemdir. Proteinleri metionince zengindir, ama lizince fakirdir. Tane kılıflarının besin değeri de düşüktür (14). Ayçiçeği kabukları sığır yetiştiriciliğinde saman yerine altlık olarak kullanılabilir. Çünkü saman ile aynı oranda sıvı emme kapasitesine sahiptir. Bu kabuklar kereste endüstrisinde dolgu ve yalıtım maddesi, biyolojik yakıt eldesinde ve paketleme materyali olarak da kullanılabilir. Ayçiçeği kabukları, özellikle bazı türlerde kabuğunda içerdiği antociyanin olarak bilinen kırmızı boya maddesi nedeniyle gıdalarda doğal katkılı boya olarak kullanılmaktadır. Yine bu kabuklar Kanada'da silindir şeklinde preslenerek çıra malzemesi olarak ve Rusya'da da etil alkol ve boya malzemesi eldesinde kullanılır.

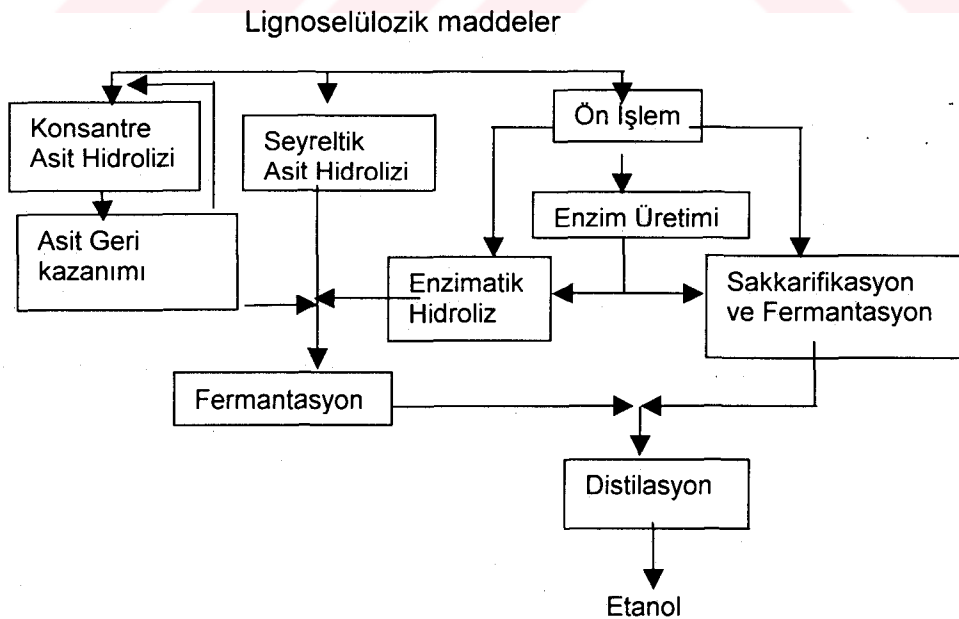
Lignoselülozik bir madde olarak ayçiçeği kabuğu, fermantasyon yoluyla şeker üretiminde, bazı kimyasallara ve değerli bileşiklere dönüşümde oldukça ucuz bir kaynaktır. Örneğin ayçiçeği kabuğunun asit veya selülaz enzimleriyle hidrolizi, kabukta şeker oranını arttırarak besi değerinin artmasına ve yine maya için gerekli maddelerin oluşumuna yol açmaktadır (15).

2.3 Selüloz ve Hemiselülozik Maddelerin Hidrolizi

Lignoselülozik maddeleri fermente edilebilir şekerlere hidroliz etme işlemi iki basamakta gerçekleşmektedir (şekil 2.3). Birinci basamakta, hemiselüloz yapı ön hidroliz işlemi ile hidroliz edilir. İkinci basamakta ise, selüloz yapı hidroliz edilerek daha basit şekerlere dönüştürülür. Hemiselüloz yapının fermente edilebilir şekerlere hidroliz edilmesinde kullanılan fiziksel, kimyasal ya da biyolojik metotlar şu şekildedir:

- Buharla ön işlem,
- Dondurarak patlama,
- Asitle muamele (HCl , H_2SO_4 , H_3PO_4 , SO_2),
- Alkali ile muamele (NaOH),
- Organik çözücü ile muamele (etil alkol, etilen glikol),
- Beyaz rot küf.

Önhidroliz işlemi sonunda hemiselüloz hidrolizatı mono ve oligosakkaritleri içerir (1).



Şekil 2.3. Lignoselülozik maddelerden etanol üretimi akım şeması (16)

Lignoselülozik maddeleri hidroliz etmede şu yöntemler kullanılmaktadır:

- Yüksek sıcaklıkta sulu mineral asit yöntemleri (H_2SO_4)
- Düşük sıcaklıkta konsantre mineral asit yöntemleri (H_2SO_4 yada HCl)
- Düşük sıcaklıkta enzime dayalı yöntemler (9) .

Selüloz ve hemiselülozların kimyasal hidrolizi için koşullar farklıdır. Amorf pentozanların hidrolizi düşük sıcaklık ve seyreltik asitlerle gerçekleştirilirken kristal selülozun hidrolizi asidik ya da enzimatik olmaktadır. Enzimatik hidroliz selülaz enzimi ile gerçekleşir. Selülaz enzimi üreten organizmalar arasında küfler, bakteriler ve aktinomisetler sayılabilir. Bu organizmaların etkin olanları *Trichoderma*, *Thermomonospora*, *Chaetomium*, *White rot fungi* ve *Clostridia* türleridir. Bu enzimin üretimi pahalı olduğundan, enzimatik hidroliz normal oda koşullarında gerçekleşmesine rağmen ($T=25-30^{\circ}C$, $pH=6-7$, $P=1$ atm) asit hidrolizi tercih edilir. Asit hidrolizinde genellikle sülfürik asit kullanılır ve bu hidroliz ya seyreltik asit ($A<2M$) ve yüksek sıcaklıkta ($150-250^{\circ}C$) ya da derişik asit ($A>2M$) ve düşük sıcaklıkta ($50-100^{\circ}C$) gerçekleşir(17). Konsantre asit ve düşük sıcaklıkta hidroliz yapıldığı zaman yüksek verimde (teorik verimin %90'ı) şekerli ürünler elde edilir. Seyreltik asit ve yüksek sıcaklıklarda ise hidroliz verimi teorik verimin % 50-60'ı arasındadır (16). Genellikle asit derişimi ve sıcaklık arttıkça hidroliz süresi düşer.

Kuvvetli asit yöntemleri, kullanılan techizatın paslanmasına yol açmakta ve yeniden kullanmak için asidin eski halini almasına dayanmaktadır. Sulu asit yöntemleri, selüloziklerin şekerlere kabul edilebilir dönüşme oranlarına ulaşabilmek için yüksek sıcaklık gerektirmektedir, ancak bu yüksek sıcaklıkta şekerin çürümesi ve techizatın aşınma oranı artmaktadır.

Enzime dayalı hidroliz işlemlerinin avantajları, katalizörün aşırı spesifik olması ve şeker bozunmasının söz konusu olmayışdır. Diğer taraftan ticari ölçekte kullanım için selülozların üretim maliyeti kısıtlayıcıdır. Ayrıca dışdaki lignin kılıfını kırmak, selüloz liflerini dekristalize etmek ve polimerlere enzimin

girişine izin vermek için biyokütlenin kapsamlı ön işlem geçirdiği durum haricinde, hidroliz oranları da düşüktür. Bununla birlikte, mikrobiyal ve enzime dayalı yöntemler organik çözücü delignifikasyonuna ve asit katalize-selüloz hidrolizine alternatif bir yaklaşım sunabilir (9).

2.4 Lignoselülozik Maddelerin Bozunma Ürünleri

Lignoselülozik maddelerin etanole ekonomik olarak dönüşmesi için substrattaki karbonhidratların fermente edilebilir şekerlere tamamen dönüşmesi gerekir. Ancak lignoselülozik yapının bozunması sırasında sadece fermente edilebilen şekerler çözünmez, geniş bir aralıkta fermantasyon mikroorganizmalarını zehirleyen bazı zararlı bileşikler de oluşur. Bu bileşikler inhibitör olarak adlandırılırlar. Inhibitörlerin yapısı ve bileşimi, hammaddeye, ön hidroliz ve hidroliz işlemlerine bağlı olup fermantasyon prosesleri için oldukça önemlidir.

Lignoselülozik hidrolizatlardaki bu inhibitörler bir kaç grupta toplanabilirler. Bunların büyümeye ve fermantasyona etkileri Çizelge 2.3'de gösterildiği gibidir.

- Birinci grup ön hidroliz ve hidroliz basamağında oluşan asetik asit (hemiselüloz yapısındaki asetil gruplarından gelen) ve ekstraktifleri içeren maddelerdir. Ekstraktifler terpenler, alkoller ve aromatik bileşiklerden oluşmaktadırlar. Asetik asitin inhibitör etkisi ise ortam pH'ını düşürmesinden kaynaklanmaktadır (1).
- İkinci grup, ön hidroliz ve hidroliz işlemi sırasında şekerlerin parçalanması sırasında oluşurlar. Bunlar furfural (ksiloz parçalanma ürünü), 5-hidroksimetil furfural (heksozların parçalanma ürünü), levülinik asit (hidroksimetil furfural bozunma ürünü), formik asit (furfural ve hidroksimetil furfuralın parçalanma ürünü) gibi maddelerdir(8).

- Üçüncü grup ise ön hidroliz ve hidroliz basamağında lignin parçalanması sırasında oluşurlar. Bu gruptaki inhibitörler, geniş bir aralıkta aromatik ve poliaromatik bileşikleri içerirler.

Etanol, asetik asit, gliserol ve laktik asit mikroorganizmaları inhibe eden fermentasyon ürünleridir. Kükürt dioksit gibi katkı maddeleri ve ekipmandan gelen metaller de fermentasyonu inhibe ederler. Sülfidler yiyecek endüstrisinde koruyucu olarak yaygın olarak kullanılmaktadırlar. SO₂'nin inhibitör etkisi asetik asite benzer, pH'a bağlıdır. Inhibitörler sadece fermentasyon hızını azaltmazlar, aynı zamanda ürüne de etki ederler.

Çizelge 2.3. Inhibitör grupları ve fermentasyona etkileri (1)

Inhibitör grubu	Inhibitör	Konsant rasyon (g/l)	Mikroorganiz ma	%büyüme(g) ve fermentasyon(f) inhibisyonu
Ön işlem sırasında açığa çıkanlar	Asetik Asit	1,4	S.cerevisiae	%50(f);pH=4,5
	"	4,3	"	%50(f);pH=5,5
	"	8,0	P.stipitis	%98(f);pH=5,1
	"	8,0	"	%25(f);pH=6,5
Şeker parçalanma ürünleri	Furfural	1,0	P.stipitis	%47(g); %71(f)
	5-hidroksimetil furfural	3,0	"	%69(g); %90(f)
Lignin parçalanma ürünleri	p-hidroksibenzaldehit	0,4	K.pneumoniae	%68(g)
	"	1,0	S.cerevisiae	%48(f)
	Syngalaldehit	0,5	K.pneumoniae	%40(g)
	"	0,22	S.cerevisiae	%72(f)
Fermentasyon ürünleri	Asetaldehit	5,0	S.cerevisiae	%80(g)
	Etanol	120	S.cerevisiae	%100(g)
	Formik asit	2,7	S.cerevisiae	%80(g)
	Laktik asit	38	S.cerevisiae	%80(g)
Diğerleri	Krom	0,1	P.tannophilus	%95(f)
	Bakır	0,04	P.tannophilus	%29(f)
	Demir	0,5	P.tannophilus	%45(f)
	Nikel	0,05	P.tannophilus	%92(f)

Sonuç olarak hidrolizatlar, birçok bileşenin kompleks karışımından oluşurlar. Örneğin huş ağacının buhar ön işlemlili hemiselüloz hidrolizatı, gaz kromatografisinde analiz edildiğinde altmıştan fazla bileşene ayrılmıştır. Her

bir bileşenin hidrolizat içerisinde ne tür bir etki yarattığı yeterince bilinmemektedir (1).

2.5 Zehir Giderme Yöntemleri

Lignoselülozik maddelerin hidrolizi sonucu ortaya çıkan, fermantasyona ve mikroorganizmalara zararı olan zehirli bileşikler hidrolizattan uzaklaştırmak için çeşitli metotlar geliştirilmiştir. Bunlar :

- Aşırı $\text{Ca}(\text{OH})_2$ ile muamele (Overliming)
- Aktif karbon ile muamele
- Organik çözücülerle ekstraksiyon
- İyon değiştirici kolonlardan geçirme
- Moleküler eleklerle muamele
- Buharla sıyırma (1,3,4).

Çizelge 2.4. Farklı zehir giderme yöntemleri ve zehir giderici etkileri (1)

Yöntem	Zehir Giderici Etki
Buharla sıyırma	Asetik asit, furfural ve fenollerin ayrılması
CaO , NaOH , KOH ile nötralizasyon ve aktif karbon	Asetik asit konsantrasyonunun düşürülmesi
$\text{Ca}(\text{OH})_2$, CaO yada KOH ile $\text{pH}=10$ 'a yada $\text{pH}=6,5$ 'e nötralizasyon, H_2SO_4 'le $\text{pH}=6,5$ 'e düşürülmesi	Asetat, ağır metaller, furfural, taninler, terpenler ve fenollerin çökmesi
Eter ekstraksiyonu	Furfuralın ayrılması
Vakum altında evaporasyon	Asetik asitin ayrılması
Etil asetat ekstraksiyonu	Lignin bozunma ürünlerinin ayrılması
Moleküler elekler	Asetik asit, furfural ve çözünabilir ligninin kısmen ayrılması
Karışık iyon değiştirici içeren kolondan geçirme	Asetik asit, furfural ve çözünabilir ligninin kısmen ayrılması
Anyon/kasyon değiştirici reçineler	Asetik asitin kısmen ayrılması ve metal iyonlarının ayrılması
İyon değiştiricilerle muamele	Aromatik monomer ve dimerlerin ayrılması

Lignoselülozik hidrolizatın aşırı $\text{Ca}(\text{OH})_2$ ile işlem görmesi oldukça yaygın olarak kullanılan ve en ekonomik olan (3) zehir giderme yöntemlerinden birisidir ve birkaç farklı şekilde yapılmaktadır. Bu işlemde hidrolizatın pH'ı $\text{Ca}(\text{OH})_2$ ile 10 'a çıkartılır, belli bir süre karıştırılır ve çökelek ayrılır. Daha sonra H_2SO_4 ile $\text{pH}=5$ 'e düşürülür. Bu işlem ısıyla birleştirilebilir, çünkü yüksek sıcaklıkta furfural gibi uçucu bileşikler hidrolizattan ayrılırlar.

Yapılan çalışmalarda overliming olarak bilinen bu işlemin lignoselülozik hidrolizata uygulanması ile ortamdaki furfural, hidroksimetil furfural ve fenolik bileşiklerin % 20 oranında azaldığı gözlemlenmiştir (18).

Zehir giderme işlemi sıcaklığa, kullanılan hidroksite ve koşullara bağlıdır. Farklı zehir giderme yöntemleri hidrolizatta farklı değişiklikler yaratmaktadır, bu değişiklikler Çizelge 2.3'de gösterilmektedir. Zehir giderme yönteminin seçimi, işlem görecektir hidrolizat tipine ve kullanılacak fermantasyon organizmasına bağlıdır (19).

Zehir giderme işlemlerine bir alternatif, mikroorganizmanın lignoselülozik hidrolizat ortamına adapte edilmesidir. Hidrolizata adapte edilmiş mikroorganizmalar yüksek üretim hızında fermente edilerek yüksek verimde ürüne dönüşürler. Genetik olarak geliştirilmiş rekombinant mikroorganizma kullanımı ise diğer bir alternatiftir (1).

2.6 Fermantasyon

Fermantasyon yolu ile yeni organik ve biyokimyasal maddelerin üretimi ya da benzer ilkelere dayanılarak atık suların arıtılması çağımız teknolojisinin en güncel konuları arasında yer almış bulunmaktadır (10). Herhangi bir maddenin mikroorganizmalar tarafından bazı değişikliklere uğratılması doğal olarak işleyen bir süreçtir. Bu değişiklikler mayalar, bakteriler ve küf mantarları gibi mikroorganizmaların yaşamlarını sürdürebilmeleri için şart olan olaylar sayesinde olur. Mikroorganizmalar tarafından salgılanan

enzimler yardımıyla bazı maddelerde meydana getirilen değişikliklerin tümüne fermentasyon denir.

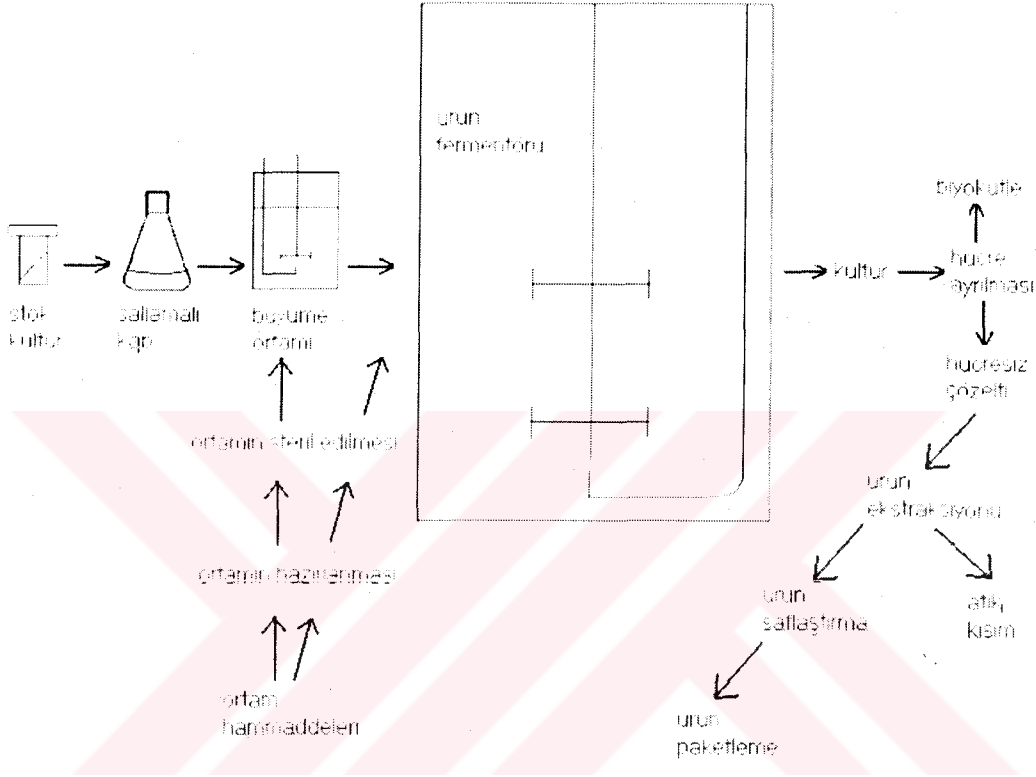
Günümüz insanı mikroorganizmaları yaşatan olayları kullanarak kendine gerekli bazı maddeleri üretmeyi başarmıştır. Bunu da fermentasyonun hücrel yaratıkların yaşamsal etkinlikleri ile yürüyen bir proses olduğunu ortaya çıkaran Louis Pasteur'e borçludur. Bu olaydaki mikroorganizmaların görevlerinin anlaşılması, çeşitli mayaların bulunması ve fermentasyonu etkileyen dış koşulların saptanması insanlara fermentasyonu istenilen yöne yönlendirme imkanı sağlamıştır. Fermentasyonun ne olduğunu tam anlamadan insanlar onu kullanarak ekmek, yoğurt, veya konserve gibi yiyecekler hazırlamışlardır. Fermentasyonla üretilen en eski ticari ürün ise alkoldür. Daha sonra, aseton, bütanol, asetik asit, laktik asit, nitrik asit ve bir çok antibiyotik fermentasyonla üretilmiştir (20).

Mikroorganizmaların neden olduğu pek çok kimyasal reaksiyon çok karmaşık bir yapıya sahiptir ve bu nedenle kolaylıkla sınıflandırılmazlar; bunun üzerine, fermentasyonun kendisinin, kimyasal bir dönüşüm olduğu düşüncesi geliştirilmiştir. Tipik bir fermentasyon prosesi Şekil 2.4'te gösterilmektedir. İyi bir fermentasyon prosesi için, beş temel unsurun varlığı gerekmektedir;

- İstenilen son ürünü meydana getirecek bir mikroorganizma. Bu mikroorganizma kolaylıkla ve hızla çoğalmalı ve biyolojik tekdüzeliği sağlamaya yetenekli olmalı, diğer bir deyimle, önceden kararlaştırılan verimi sağlayabilmelidir.
- Nişasta veya şekerler gibi ekonomik olarak var olan bir hammadde.
- Kabul edilebilir verimlilik.
- Hızlı fermentasyon.
- Kolaylıkla ayrılabilen ve saflaştırılabilen bir ürün (21).

Fermentasyon ile meydana gelen kimyasal değişmelerde, mikroorganizmaların, cihazların ve fermentasyonun kendisine dikkat

edilmelidir. pH, sıcaklık, havalandırma, karıştırma, saf kültür fermantasyonu, ürün homojenliği ve seçilen mikroorganizmaların çevre koşullarında veya bu koşullarda yapılabilecek küçük değişiklikler ile elde edilen ortamlarda kolaylıkla büyümesi fermantasyon için kritik faktörlerdir.



Şekil 2.4 Tipik bir fermantasyon prosesi (22).

Fermantasyon ile üretilen kimyasal maddeler ya seçilen mikroorganizmanın yaşadığı sürece kendisi tarafından üretilir ya da yaşamı sırasında meydana gelen enzimler ile üretilir. Bu nedenle, fermantasyonda mikroorganizmaların seçimi ve çoğaltılması çok önemlidir (20).

2.6.1 Mikrobial Besi Ortamı

Mikroorganizmaların gelişme ve üremesi için gerekli besinleri ve uygun koşulları içeren ortama besi yeri (besin ortamı) adı verilir. Mikroorganizmalar için hazırlanacak besi ortamının bileşimi, belirli bir mikroorganizmanın gelişmesi, üremesi ve fizyolojik yaşamlarını sürdürebilmeye yetecek nitelikte

gerekli maddeleri içermelidir (10). Büyüme ve ürün oluşumunun stokiometrisini gösteren bir eşitlik aerobik bir fermentasyon için şu şekilde yazılabilir :

Karbon ve enerji kaynağı + azot kaynağı + O_2 + diğer besin kaynakları $\rightarrow$ biyokütle+ürünler+ CO_2 + H_2O +ısı

Anaerobik metabolizmada besi yerindeki karbonun yaklaşık % 10'u; aerobik metabolizmada ise % 55'i hücre yapısını oluşturmak üzere kullanılır. Genel olarak besi ortamına katılan karbonlu bileşikler mikroorganizmalar tarafından aynı zamanda enerji kaynağı olarak da kullanılırlar. Karbon kaynağı olarak en sık kullanılan bileşikler karbonhidratlardır. Özellikle melas, nişasta, selüloz gibi artık karbonhidratların kullanılması ekonomik açıdan da yararlıdır. Ayrıca, çok yaygın, ucuz ve oldukça bol oluşu nedeni ile hidrokarbonlarda son yıllarda önem kazanmışlardır (10). Fermentasyon uygulamalarında, seçilen substratın ekonomik olarak elverişliliği yanında mikroorganizmanın fizyolojik gereksinimini karşılamada uygunluğu önemlidir. Bu nedenle, mikrobiyal biyokütle üretiminde şu hususlara dikkat edilmelidir:

- Substratın ekonomik değeri çok düşük olmalıdır veya hiç olmamalıdır.
- Üretim hacmi yüksek olmalı ve devamlılık göstermelidir.
- Kolay elde edilebilmelidir.
- Taşınması ve saklanması kolay yollardan olmalıdır.
- Kullanılacak mikroorganizmaların gereksinimlerine uygun olmalıdır.

Besin elementleri içerisinde, önem itibarıyla karbondan sonra gelen azot, protein, nükleik asitler ve vitaminlerin yapısına katılır. Bu nedenle biyokütle üretiminde kullanılacak azot kaynağının niteliği ve niceliği önemli bir faktördür.

Mineral maddeler önemli besin maddelerindendir, büyük bir bölümü ya enzim aktivatörü olarak işlev görürler, ya da hücre enzimlerinin veya hücrenin bizzat yapısına katılırlar. Bu gruba giren elementlerin başında K, S, P, Mg,

Ca, Fe gibi elementlerle; Zn, Cu, Co, Mn ve Mo gibi iz elementler gelir. Kükürt, kükürtlü amino asitlerin ve kükürtlü vitaminlerin sentezinde kullanılır. Fosfor ise, nükleotit ve nükleik asitlerin temel yapılarındandır. Potasyum, protein sentezinde görevli enzimlerin ve diğer bazı enzimlerin aktivatörüdür (9).

Mikroorganizmanın besi ortamında gelişip büyüebilmesi için yukarıda saydığımız besinler tek başına yeterli değildir, bunların yanında besi ortamının sıcaklık ve pH'ı kullanılan mikroorganizmanın en iyi üreyebildiği noktalarda bulunabilecek şekilde ayarlanmalıdır. Ayrıca ortamdaki çözünmüş oksijen miktarı, üreme hızı ve verimi üzerine çok önemli bir şekilde etki etmektedir.

2.6.2 Fermantasyon Mikroorganizmaları

Doğada bir çok mikroorganizma vardır. Bunların her biri farklı bir fermantasyona neden olduğundan bu mikroorganizmalara bağlı metabolizma sayısı da çoktur. Ancak, bunların birkaç tanesi endüstride kullanılmaktadır. Fermantasyondan sorumlu olan mikroorganizmalar morfoloji, üreme şekli, serbest oksijene karşı davranışı, çeşitli maddeleri etkileme bakımından birbirlerinden ayrılırlar. Bunlar bakteriler, mayalar ve küf mantarlarıdır (20).

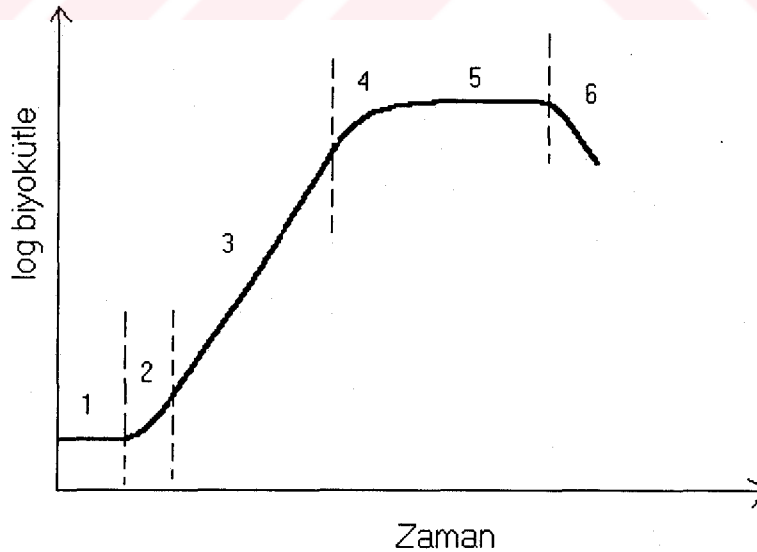
Maya hücrelerinin daha büyük olması, dolayısıyla kültür sıvısından daha kolay ayrılmasının yanında, yapılarında bakterilere göre daha az nükleik asit bulundurması mayaların daha yaygın olarak kullanılmasını sağlamıştır. Mayalar yuvarlak ve oval, tomurcuklanma suretiyle üreyen tek hücreli mikroskopik mantarlardır. Oksijensiz ortamda, şekeri alkol ve karbonik asite çevirirler. Oksijenli ortamda ise, şekeri alkole çevirmeden yeni maya hücrelerinin yapımı için harcarlar (9).

Etanol fermantasyonu için incelenen mayalar arasında *Saccharomyces cerevisiae* ve *Zymomonas mobilis* glikozu etanole hızlı ve verimli bir şekilde

dönüştürürler. Ancak bu mayalar ksiloz ve arabinoz gibi şekerleri etanole fermente edebilme yeteneğine sahip değildirler. *Pachysolen tannophilus*, *Pichia stipitis* ve *Candida shehatae* mayaları ksilozu oldukça iyi bir verimle etanole dönüştürürler (23). Bu mayalardan *Pichia stipitis* ksilozu oldukça kısa bir sürede, yüksek etanol verimiyle ksilitol üretmeden ve oldukça geniş bir aralıktaki şekerleri *Candida shehatae*'dan daha iyi bir şekilde etil alkole fermente edebilmektedir (24).

2.7 Kesikli Fermantasyon Kinetiği

Genellikle belirli düzeyde ve istenilen tür yada türlerde mikroorganizmayı içeren besin ortamına kültür denilmektedir. Kesikli kültürlemede mikroorganizmaların çoğalması ortamdaki gerekli besin maddeleri tükeninceye kadar sürer. Kültüre alınan mikroorganizmaların değişmeyen pH, sıcaklık, iyon kuvveti ve basınç gibi dış koşullar altında belirli substrat konsantrasyonunda gelişme ve üremeleri çeşitli evrelerden oluşmaktadır. Bu evreler Şekil 2.5'de görülmektedir.



Şekil 2.5 Mikroorganizmaların üreme evreleri

1. Gelişme evresi (lag fazı) : Belirli bir besin ortamına ekilen mikroorganizmalar yeni ortama uyum (adaptasyon) gösterip çoğalmaya başlayıncaya kadar belirli bir süre geçer. Bu sırada hücre sayısında hemen hemen hiçbir artış gözlenmez. Mikrobiyal teknolojide bu sürenin kısaltılması ekonomik yönden büyük yararlar sağlar.
2. Geçiş Evresi : Gelişme evresinden sonra mikroorganizma sayısı yavaş yavaş artmaya başlar. Bu kısma hızlandırılmış ya da hızlandırılma evresi denir.
3. Logaritmik Evre : Mikroorganizma sayısı ya da konsantrasyonu belirli bir düzeye ulaştınca logaritmik evreye varılır. Bu evreye eksponansiyel faz da denilmektedir. Bu evrede mikroorganizmaların canlı, genç ve dinç olduğu kabul edilir. Logaritmik evrede mikroorganizmalar üssel (eksponansiyel) olarak arttığı için kesikli kültürlemede ortamdaki besinler giderek azalır.
4. Duraklama Evresi : Logaritmik evreden sonra mikroorganizmaların yaşlanması ve ölüm olayının belirginleşmesi nedeni ile çoğalmada yavaşlama yani logaritmik evreye kıyasla üreme hızında azalma gözlenir. Buna duraklama evresi denilmektedir.
5. Sabit Evre : Kesikli kültürlemede duraklama evresini sabit evre izler. Bu evrede kimi mikroorganizmalar ürer, kimileri ölür ve bazıları da üremeden yaşamlarını sürdürürler. Bu üç olay birbirini dengelediği için mikroorganizmalarda zamana göre net artış ya da azalış gözlenmez.
6. Ölüm yada Göçüş Evresi : Mikrobiyal kinetiğin son kısmında mikroorganizmaların ölüm hızları arttığı için zamanla konsantrasyonlarında azalma gözlenir. Bu evreye ölüm fazı denilir. Bu evrede mikroorganizmaların dışa salgıladıkları enzimlerden ötürü hücre zarlarında hidroliz ve parçalanma olayları belirgin bir hal alır. Hidroliz ve parçalanma olayları belirgin bir hal alır.

lipolitik enzimlerin meydana getirdiği bu olaya genel olarak lisis (lysis) adı verilir.

Mikrobiyal kinetik bağıntıları genellikle bakteriler üzerindeki incelemelere dayanılarak türetilmiştir. Ancak bu bağıntılar genellikle tüm mikroorganizmalar için geçerli sayılmaktadır (10). Mikrobiyal hücrelerin büyümesi otokatalitik bir olaydır. Bu nedenle hücre kuru ağırlığındaki artma hızı, başlangıçtaki hücrelerin konsantrasyonu ile orantılıdır. Mikroorganizma konsantrasyonunun başlangıçtaki miktarın iki katı olması için geçen süreye ikilenme süresi adı verilmektedir ve t süre sonra iki katına çıkma sayısı:

$$n = t/t_d \quad [2.1]$$

şeklinde dir. Burada n ; iki katına çıkma sayısı, t ; geçen süre (saat), t_d ; kültürün iki katına çıkma zamanı (saat) dır.

Kültürdeki hücrelerin kuru ağırlığı t zaman sonra, başlangıç hücre yoğunluğuna bağlı olarak şu şekilde ifade edilir:

$$X = X_0 2^n = X_0 2^{t/t_d} \quad [2.2]$$

Eşitliğin logaritması alınarak, düzenlenirse:

$$\ln(X/X_0) = \ln 2 \cdot t/t_d \quad [2.3]$$

$$\frac{\ln X - \ln X_0}{t} = \frac{\ln 2}{t_d} = \frac{0,693}{t_d} \quad [2.4]$$

Zamana karşı $\ln(X-X_0)$ grafiği, eğimi $0,693/t_d$ olan düz bir doğru verir ki bu doğrunun eğimi spesifik büyüme hızı, μ olarak tanımlanır. Spesifik büyüme

hızı, μ sadece eksponensiyel fazda büyümeyi tanımlar ve bu faz boyunca sabittir. Mikroorganizmalar için genel kütle denklığı şu şekilde yazılabilir.

$$\frac{dX}{dt} = \mu X - \frac{F}{V} \cdot X - \alpha X \quad [2.5]$$

Bu eşitlikte, F kültürden ayrılan hücrelerin akış hızı, V kültürün hacmi, α spesifik ölüm hızıdır. Kesikli bir sistemde olduğu gibi eğer sistemden hücre çıkışı yoksa ve $\alpha \ll \mu$ ise eşitlik yeniden düzenlenerek şu hale gelir:

$$\frac{1}{X} \cdot \frac{dX}{dt} = \mu \quad [2.6]$$

spesifik büyüme hızı, μ (saat⁻¹) Eşitlik 2.4.'deki tanımıyla aynıdır.

Substratlar sadece karbon ve enerji gerekliliği ile hücre büyümesi için yapısal bileşenleri sağlamak için değil fakat aynı zamanda hücre canlılığını korumak için ve ürün oluşumu içinde harcanmaktadır. Substratın harcanma hızı kısaca aşağıdaki eşitlikle tanımlanabilir:

$$\left[\begin{matrix} \text{substrat} \\ \text{birikimi} \end{matrix} \right] = \left[\begin{matrix} \text{substrat} \\ \text{beslemesi} \end{matrix} \right] - \left[\begin{matrix} \text{büyüme için} \\ \text{harcanan substrat} \end{matrix} \right] - \left[\begin{matrix} \text{ürün sentezi için} \\ \text{harcanan substrat} \end{matrix} \right] - \left[\begin{matrix} \text{bakım gereklilikleri için} \\ \text{harcanan substrat} \end{matrix} \right] - \left[\begin{matrix} \text{substrat} \\ \text{çıkışı} \end{matrix} \right]$$

$$-\frac{dS}{dt} = \frac{F}{V} \cdot S - \frac{\mu X}{Y_{X/S}} - \frac{q_p X}{Y_{P/S}} - mX - \frac{F'}{V} \cdot S \quad [2.7]$$

Bu eşitlikte F ve F' biyoreaktöre giren ve çıkan ortamın akış hızı, V kültür hacmi, S ve S' kültüre giren ve çıkan substrat konsantrasyonu, $Y_{X/S}$ biyokütle verim katsayısı, $Y_{P/S}$ ürün verim katsayısı, μ ve q_p sırasıyla spesifik büyüme ve ürün oluşum hızları, m bakım katsayısını ifade etmektedir. Yazılan bu eşitlik reaktöre taze substratın beslenmesi durumunda geçerlidir. Eğer

reaktöre taze substrat beslemesi yoksa ve reaktörden substrat çıkışı yoksa eşitlik aşağıdaki yazılabilir:

$$-\frac{dS}{dt} = \frac{\mu X}{Y_{X/S}} - \frac{q_p X}{Y_{P/S}} - mX \quad [2.8]$$

Özellikle aerobik kültürlerde bakım katsayısı, $\mu X / Y_{X/S}$ terimine göre çok küçüktür ve eğer ürün oluşumuna katkısı yoksa eşitlik şu şekilde basitleştirilebilir:

$$-\frac{dS}{dt} = \frac{\mu X}{Y_{X/S}} \quad [2.9]$$

$$q_s = \frac{1}{X} \cdot \frac{dS}{dt} \quad [2.10]$$

$$q_s = \frac{\mu}{Y_{X/S}} - \frac{q_p}{Y_{P/S}} - m \quad [2.11]$$

Mikrobiyal hücrelerin büyümesi sırasında ürün oluşumu varsa ürün oluşum hızı şu şekilde tanımlanır:

$$\frac{dP}{dt} = q_p \cdot X - \frac{F}{V} \cdot P - \beta P \quad [2.12]$$

Bu eşitlikte P ürün konsantrasyonu (g/l), β ürün bozunma hızıdır. Ürün bozunması yoksa ve reaktörden ürün çıkışı yoksa eşitlik şöyledir:

$$\frac{dP}{dt} = q_p X \quad [2.13]$$

q_p spesifik ürün oluşum hızı şu şekildedir.

$$q_p = \frac{1}{X} \cdot \frac{dP}{dt} \quad [2.14]$$

büyüme hızı, substrat harcanma hızı ve ürün oluşum hızı volumetrik ve spesifik hızlar cinsinden ifade edilebilir. Volumetrik hızlar (g/l.st) mikroorganizma konsantrasyonuna bağlıdır, biyoreaktörün birim hacmi başına substrat harcanma hızı yada ürün sentez hızı olarak tanımlanır. Bu verimlilikler endüstriyel boyutlu fermantasyon proseslerinin tasarımı ve işletilmesi için son derece önemlidir. Spesifik hızlar (μ , q_p , q_s ; st^{-1}) mikroorganizma konsantrasyonuna bağlıdır ve mikrobiyal hücre metabolizmasının etkinliğini ifade eder.

Büyümeyle direk olarak ilişkili olan ürün oluşum hızı ise şu şekilde ifade edilir:

$$\frac{dP}{dt} = \frac{\mu X}{Y_{P/X}} \quad [2.15]$$

Burada $Y_{P/X}$ ürün verim katsayısıdır. Biyokütle ve ürün verimleri $Y_{X/S}$ ve $Y_{P/S}$ son derece önemli parametrelerdir. Substratın biyokütle ve ürüne dönüşüm etkinliğini gösterirler.

$$Y_{X/S} = \frac{\Delta X}{\Delta S} \quad [2.16]$$

$$Y_{P/S} = \frac{\Delta P}{\Delta S} \quad [2.17]$$

$Y_{X/S}$, biyokütle verim katsayısı (gr oluşan mikroorganizma kuru ağırlığı/gr harcanan toplam substrat), $Y_{P/S}$, ürün verim katsayısı (gr oluşan ürün / gr harcanan toplam substrat). $Y_{X/S}$ ve $Y_{P/S}$ yukarıdaki iki eşitlikte tanımlandığı gibi biyokütle, oluşumu ürün ve harcanan substratın toplam miktarının

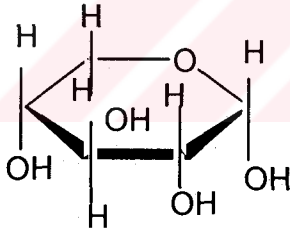
bulunmasıyla belirlenebildiği gibi biyokütle ve ürün oluşum hızı yada substrat harcanma hızları yardımıyla da bulunabilirler (25) :

$$Y_{X/S} = \frac{\mu}{q_S} \quad [2.18]$$

$$Y_{P/S} = \frac{q_P}{q_S} \quad [2.19]$$

2.8 Ksiloz

Odun, saman ve ağaç zambkı gibi maddelerde bileşik halinde bulunan D-Ksiloz, bu tür maddelerin hidrolizi ile elde edilir. Hayvanların iştembelerinde bulunan bazı bakterilerce polisakkaritlerin hidrolizi sonunda da bir miktar ksiloz oluşmaktadır (10). D-ksiloz şekerinin yapısı Şekil 2.6'daki gibidir.



Şekil 2.6 D-Ksiloz'un yapısı

2.9 Etil Alkol ve Özellikleri

$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$ kimyasal formülü ile gösterilen etil alkol ya da kısaca etanol yapısında $-\text{OH}$ hidroksil grubu içeren organik bir bileşiktir. Etil alkol renksiz, berrak, uçucu, kolay tutuşabilen, hoş kokulu bir maddedir. Seyreltik sulu çözeltilerde hoş bir tada sahiptir, fakat daha konsantre çözeltilerde yakıcı bir tadı vardır. Molekül ağırlığı 46,07 g/mol olan etil alkol $78,32^\circ\text{C}$ 'de kaynamakta ve $-114,1^\circ\text{C}$ 'de erimektedir. Etil alkolün fiziksel özellikleri (Çizelge 2.5) de özetlenmektedir. Etil alkolün fiziksel ve kimyasal özellikleri

öncelikle hidroksil grubuna bağlıdır. Hidroksil grubu moleküle hem polarlık verir ve hem de molekül içi hidrojen bağlarında artmaya neden olur.

Çizelge 2.5. Etil alkolün fiziksel özellikleri (26)

Molekül Ağırlığı (g/mol)	46,07
Donma Noktası (°C)	-114,1
Kaynama Noktası (°C)	78,32
Kritik Sıcaklık (°C)	243,1
Yoğunluk (g/ml) 20 °C'de	0,7983
Viskozitesi (mPa.s) 20 °C'de	231
Kaynama Noktasında Buharlaştırma Isısı (J/g)	839,31
25 °C'deki Yanma Isısı (J/g)	29676,69
Tutuşma Sıcaklığı (K)	793
20 °C'deki Özgül Isısı (J / g °C)	2,42
20 °C'deki Isıl İletkenlik (W / m K)	0,170
Zehirliliği (mg / kg) ⁽¹⁾	7060
Oktan Sayısı ⁽²⁾	106

¹ (27)

² (28)

Etil alkol çoğunlukla dehidrasyon, dehidrojenasyon, oksidasyon ve esterifikasyon reaksiyonlarında yer almaktadır. Hidroksil grubundaki hidrojen atomu sodyum, potasyum, kalsiyum gibi aktif metallerle yer değiştirerek metal oksitleri oluştururlar. Esterifikasyon reaksiyonlarında etil alkol'ün, organik ve inorganik asitler, asit anhidritler ve asit halidlerle reaksiyonu sonucu esterler oluşmaktadır. Etil alkol dehidratasyon reaksiyonu ile etilen ya da etil etere dönüşmektedir. Etil alkolün asetaldehite dehidrojenasyonu çeşitli katalizörler varlığında buhar faz reaksiyonu ile gerçekleşmektedir. sodyum hipokloritle reaksiyonu sonucu kloroform oluşmaktadır (26).

Etil alkol 5 grupta incelenir. Bunlar:

- Saf etil alkol: Şeker ve nişasta içeren maddelerin alkol fermantasyonu ve takiben distilasyon işlemleri ile veya sentetik olarak üretilir.

- Etil alkol : Şeker ve nişasta içeren maddelerin alkol fermantasyonu ve takiben distilasyon işlemleri ile veya sentetik olarak üretilen renksiz, berrak, kendine has kokuda, kaynama noktası 78.3 °C ve kimyasal formülü C_2H_5OH olan bir maddedir.
- Tarımsal kökenli saf etil alkol: Şeker ve nişasta ihtiva eden tarımsal maddelerin (üzüm şırası, melas, mısır, incir, elma ve armut gibi) alkol fermantasyonu ve bunu izleyen distilasyon işlemleri sonucu üretilen ve üretildiği hammaddeden gelebileceklerin dışında koku taşımayan etil alkoldür.
- Denature etil alkol : Etil alkolün içilmesini ve içki imalatında kullanılmasını önlemek amacıyla ve denetimi kolaylaştırmak için renk, koku, tat ve kontroller sırasında içine katılabilecek belli bir maddeyle gözlenebilir ve reaksiyon veren maddelerden herhangi birinin veya birkaçının katılması sonucu elde edilen alkoldür.
- Mutlak etil alkol : saf etil alkolün uygun metotlarla suyunun alınması suretiyle hazırlanan ve en az %99.0 (m/m) saflıkta olan etil alkoldür (29).

Endüstriyel etanol, endüstriyel ve tüketici ürünlerinde yaygın olarak kullanılan organik kimyasal maddelerden birisidir. Başlıca kullanımı çözücü olarak ve bazı kimyasalların üretiminde ara hammadde olarak kullanılmasıdır. Çözücü olarak sudan sonra ikincidir ve bir çok endüstri alanında kullanılmaktadır. Etanol, ilaç, plastik, vernik, cila, plastikleştirici, parfüm ve kozmetiklerin üretiminde önemli bir hammaddedir. Ayrıca tuvalet malzemelerinde, içkilerde, motor yakıtlarına %10-20 oranında katılarak ve antifiriz olarak kullanılmaktadır.

2.10 Etil Alkol Üretim Yöntemleri

2.10.1 Etilenin ve etil eterin hidrasyonu ile etil alkol üretimi

Etil alkolün etilenden sentezi için iki proses geliştirilmiştir. İlk geliştirilen proseslerden birisi olan indirekt-hidrasyon prosesi, kuvvetli sülfürik asit-etilen prosesi, etil sülfat prosesi, esterifikasyon-hidroliz prosesi ya da sülfasyon hidroliz prosesi gibi değişik adlarla anılmaktadır. Bu prosesle etil alkol üretimi üç basamakta gerçekleştirilmektedir. Birinci basamakta mono ve di etil sülfatları oluşturmak için etilenin konsantre sülfürik asitte absorpsiyonu, ikinci basamakta etil sülfatların etanole hidrolizi, ve üçüncü basamakta ise seyreltik sülfürik asitin tekrar konsantre hale getirilmesi yapılmaktadır. Absorpsiyon 80°C ve 1,3-1,5 MPa (180-200psia) basınçta % 95-98 sülfürik asit içeren kolon reaktörden etilenin çapraz akımla geçirilmesiyle yapılır. Absorpsiyon ekzotermiktir ve korozyon problemleri nedeniyle sıcaklığı düşürmek amacıyla soğutma yapılması gerekmektedir.

Etil alkolün etilenden sentezi için geliştirilmiş olan diğer proses seyreltik sülfürik asitle direk hidrasyon prosesidir. Bu proses için iki metot geliştirilmiştir. Bunlardan birisi gaz fazındaki reaktantlarla katı yada sıvı katalizörlerin temasta olduğu buhar-faz prosesleri, diğeri ise sıvı ve gaz fazındaki reaktantlarla katı ya da sıvı katalizörlerin temasta olduğu karışık faz proseslerdir. Etanol genellikle buhar-faz prosesiyle üretilmektedir. Seyreltik asit kullanılarak etilenin etanole hidrasyonu düşük sıcaklıkta ve yüksek basınçta gerçekleştirilmektedir.

Etil eterde, etilenin etanole hidrasyonunda kullanılan aynı tip asit katalizörleri kullanılarak alkole hidratlanmaktadır. Eterin hidrasyonunda kullanılan katalizörler, hidroklorik asit, fosforik asit, sülfürik asit, metalik oksitleri ve silikatlardır. 320°C ve 1,01-1,42 MPa koşullarında eterin %50-66 oranında alkole dönüşümü elde edilmiştir.

2.10.2 Etil esterlerin hidrolizi ile etil alkol üretimi

Etil esterden alkol üretimi için asetik asit, klorosülfonik asit kullanılmaktadır, fakat bu proses çok az ticari öneme sahiptir.

2.10.3 Asetaldehitin hidrojenasyonu ile etil alkol üretimi

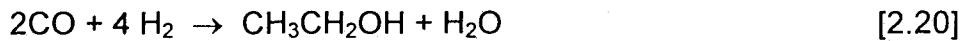
Asetaldehitin etanole hidrojenasyonu 150 °C'de nikel katalizörü kullanılarak yapılmaktadır. Etil eter oluşumunu düşürmek için %0,3 oksijen içeren aşırı hidrojen kullanılması önerilmektedir.

2.10.4 Hidrokarbonların oksidasyonu ile etil alkol üretimi

Etanol, etan, propan ve bütan gibi hidrokarbonların uygun sıcaklık ve basınç altında oksidasyonu ile üretilmektedir.

2.10.5 Sentez gazlarından etil alkol üretimi

Karbon monoksit ve hidrojen karışımı sentez gazlarından etanol üretimi aşağıdaki reaksiyon mekanizması ile gösterilmektedir.



Sentez gazları çöplerden, kentsel pis su, talaş, saman ve diğer atıklardan elde edilmektedir. Toz demir gibi bir katalizör varlığında etanol oluşumunu arttıran ortam koşulları 125-175 °C ve 1,42 MPa (14 atm) basınçtır.

2.10.6 Fermantasyon ile etil alkol üretimi

Fermantasyon, yiyecekler, içecekler, tatlandırıcılar, eczacılık ve kimyasallar gibi bir çok ürünün elde edilmesinde kullanılan insanoğlunun bildiği en eski kimyasal metotlardan birisidir. Fermantasyonla etil alkol üretimi için kullanılan

çok çeşitli tarımsal hammaddeler bulunmaktadır. Bunlar üç sınıfta toplanabilirler.

Fermantasyonla etil alkol üretimi için kullanılan hammaddeler:

- Şekerler : Şeker kamışı, şeker pancarı, melas, meyveler.
- Nişastalı hammaddeler : hububatlar, patates ve kök ürünleri.
- Selülozlu maddeler : odun, tarımsal artıklar ve kağıt fabrikalarının atık sülfite çözeltileri.

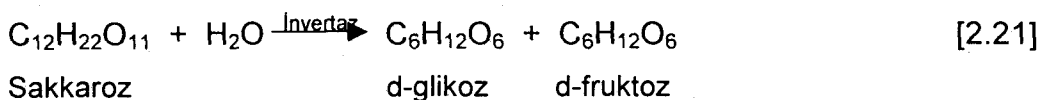
2.10.6.1 Şekerlerden fermantasyonla etil alkol üretimi

Etanol fermantasyonu için yaygın olarak kullanılan şeker melastır, pancar şekeri üretimi esnasında oluşan bir yan üründür. Melas, hayvan besisi katkı maddesi ve fermantasyon için bir şeker kaynağı olarak, uluslararası ölçüde ticareti yapılan bir üründür, % 35-40 oranında sakkaroz, % 15-20 oranında glikoz ve fruktoz gibi invert şeker ve % 28-35 oranında şeker olmayan katıları içermektedir.

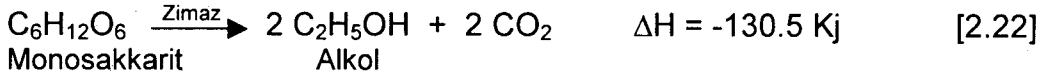
Etanol fermantasyonu için incelenen diğer hammaddeler, şeker pancarı, şeker kamışı, pancar melası, peynir altı suyu (kesilmiş süt suyu), taze ve kurutulmuş meyvelerdir (26).

Endüstride şekerli maddelerden alkol üretiminde önce bir disakkarit olan sakkaroz invertaz enziminin veya başka bir organik katalizör ile katalizlenen inversiyon tepkimesi ile monosakkaritlere dönüştürülür. Bu şekilde elde edilen d-glikoz ve d-fruktoz halindeki bu monosakkaritler kullanılan mayaların salgıladığı zimaz enziminin katalizlediği fermantasyon tepkimesi ile alkol üretilir. Alkol fermantasyonunda yer alan bu reaksiyonlar şu şekildedir (20).

Inversiyon tepkimesi:



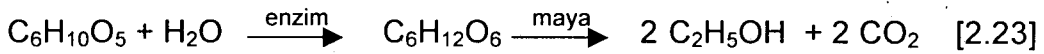
Fermantasyon tepkimesi:



2.10.6.2 Nişastalı hammaddelerden fermantasyonla etil alkol üretimi

Nişasta içeren atıklar zirai, sınai ve evsel atıkların önemli bir kısmını teşkil ederler. Zirai atıklar arasında mısır, patates, pirinç, buğday, yulaf, arpa, şeker pancarı ve kamışı, tatlı sorgum atıkları en belli başlı olanlarıdır. Nişastalı hububat işleyen işletmelerin (un, nişasta, makarna, bira, şeker) katı atıkları yüksek oranda nişasta içerdikleri gibi, meyve, sebze ve yemek atıklarını içeren evsel atıklar da önemli miktarda nişasta içerirler.

Nişastalı maddelerin etil alkole fermantasyonu şeker fermantasyonuna göre daha komplekstir. Çünkü nişasta öncelikle asit ya da enzimatik hidroliz ile glikoz moleküllerine dönüştürülür. Daha sonra glikoz molekülleri fermantasyonla alkole dönüştürülerek elde edilen etanol-su karışımından distilasyon yolu ile saf etanol elde edilir (30). Nişastalı maddelerin etil alkole dönüşümü şu basitleştirilmiş eşitlikle gösterilebilmektedir:



Nişastanın hidrolizinden elde edilen glikoz şurubu *Saccharomyces cerevisiae* ve *Zymomonas mobilis* mayaları kullanılarak oksijensiz (anaerobik) şartlarda fermantasyonla etil alkole dönüştürülür.

Nişastalı atıklardan elde edilen etil alkolün maliyeti benzin fiyatlarına oldukça yakın olduğundan bu yöntemle etil alkol eldesi ekonomik olarak mümkün görünmektedir (17).

2.10.6.3 Selülozlu Maddelerden Fermantasyonla Etil Alkol Üretimi

Selüloz en fazla yenilenen karbon kaynağıdır. Fermantasyonla etil alkol üretimi için incelenen lignoselülozik kaynaklar, her türlü odun artıkları, tarımsal atıklar (pirinç ve buğday gibi tahılların sapları, mısır koçanları v.b.) ve gazete kağıtları gibi artık kağıtlardır (9).

Selülozik maddelerden etanol üretimi birkaç aşamada gerçekleşmektedir. Birinci basamakta, selüloz fermente edilebilir şekerlere dönüştürülür. İkinci basamak, fermente edilebilir şekerlerin etil alkole fermantasyonunu ve etil alkolü saf olarak elde etmek için distilasyon işlemini kapsar (1). Selülozlu maddeleri basit şekerlere hidroliz etmede en çok tercih edilen metotlar asit ve enzime dayalı sakkarifikasyondur. Her bir metodun diğerine göre avantaj ve dezavantajları vardır. Kuvvetli asitler teçhizatın paslanmasına yol açmakta, sulu asit yöntemleri ise yüksek sıcaklık nedeniyle şekerin parçalanmasına ve yine teçhizatın aşınmasına yol açmaktadır (9). Asit hidrolizine bir alternatif enzimlerin kullanılmasıdır.

Fermantasyon sonucunda oluşan etil alkol-su karışımından etanol distilasyon ile ayrılır. Ancak, % 95 etanol içeren etanol-su karışımı azeotrop teşkil ettiğinden % 99 ve daha saf etanol elde edebilmek için azeotropik karışıma benzen, hekzan gibi üçüncü bir bileşen ilave edilmesi gerekir. Distilasyon etanol üretiminde en pahalı basamaktır ve yerine daha ucuz yöntemler (adsorpsiyon ve ekstraksiyon gibi) geliştirilmeye çalışılmaktadır (30).

3. LİTERATÜR ARAŞTIRMASI

3.1 Zehir Giderme Yöntemleri ve Fermantasyon

Tarımsal atıklardaki lignoselülozik kuru ağırlığın yaklaşık %25'ini oluşturan hemiselülozun hidrolizi ile elde edilen hidrolizatın bir hammadde olarak alkol üretiminde kullanılması tarımsal atıkların değerlendirilmesi açısından büyük önem taşımaktadırlar. Ayçiçeği bitkisi her yıl yenilenen bir yağ bitkisi olup, ülkemizde yıllık üretimi Enerji ve Doğal Kaynaklar Bakanlığının verilerine göre 950 000 ton olup bunun 550 000 tonu küspe olarak elde edilmektedir (6). Ayçiçeği kabuklarının değerlendirilmesi için bir çok alternatif kullanım alanı bulunmasına rağmen, kabukların alkol üretimi için değerlendirilmesi çok yeni bir konudur. Yapılan çalışmalarda çeşitli lignoselülozik kaynakların asidik ya da enzimatik hidrolizatlarından etil alkol üretimi için en uygun koşullar araştırılmaktadır.

Hahn-Hagerdal ve arkadaşları (31) yaptıkları çalışmada, seyreltik asit ile ön işlem görmüş mısır koçanı hidrolizatının *Escherichia coli* ATCC 11303, rekombinant *E.coli* (pLOI ve KO11), *Pichia stipitis* (CBS 5773, 6054 ve R), *Saccharomyces cerevisiae*, rekombinant *S.cerevisiae* (TJ1, H550 ve H477), *Fusarium oxysporum* VTT-D-80134 mayalarıyla fermantasyonu laboratuvar deneyleriyle karşılaştırılmıştır. Yapılan fermantasyon deneyleri üç aşamada gerçekleştirilmiştir. İlk olarak pH ve sıcaklık değiştirilerek mikroorganizmaların fermantasyon performansı karşılaştırılmıştır. Burada elde edilen en yüksek etanol verimi pH=7 ve 30°C sıcaklık koşullarında 0,24g/g olarak rekombinant *E.coli* ile elde edilmiştir. İkinci olarak, seçilen optimum koşullarda (pH=7, T=30°C) ortamın besin bileşimi ve oksijen miktarı değiştirilerek mikroorganizmaların gelişimleri incelenmiş ve rec. *E.coli* ile 0,36g/g etanol verimi elde edilmiştir. Son olarak, mikroorganizmaların hidrolizata adapte edilmesiyle 0,54 g/g etanol verimine ulaşılmıştır.

Larsson ve arkadaşları (19) yaptıkları çalışmada, hücre büyümesini ve *Saccharomyces cerevisiae* ile etanol üretimini geliştirmek amacıyla farklı zehir giderme yöntemleri tanımlamışlar ve bütün zehir giderme metotları için ladin seyreltik asit hidrolizatını kullanmışlardır. Fermente edilebilir şekerler ve zehirli bileşiklerin (alifatik asitler, furanlar ve fenolik bileşikler) konsantrasyonlarındaki değişimler belirlenmiş ve lignoselülozik hidrolizatların fermente edilebilirliğini belirlemeye yönelik fermantasyon deneyleri yapılmıştır. Alkali ile muamele, sülfitle işlem, buharlaştırma, anyon değiştiriciler, enzimatik detoksifikasyon, *Trichoderma reesei* ile detoksifikasyon çalışılan farklı zehir giderme yöntemleridir. Yapılan deneyler sonucunda pH=5,5 yada 10'da anyon değiştiricilerle işlem, lakkazla işlem, Ca(OH)_2 ile işlem ve *T. reesei* ile işlem en etkin zehir giderme yöntemleri olarak görülmüştür. Özellikle anyon değiştiricilerle işlem görmüş hidrolizatta zehirli bileşiklerin önemli derece azaldığı ve üretilen etanol miktarının yüksek olduğu görülmektedir.

Hahn-Hagerdal ve Palmqvist'in (4) yaptıkları çalışmada, lignoselülozik hidrolizatların fermantasyonuna, inhibitörlerin ve zehir giderme işlemlerinin etkisi araştırılmıştır. Lignoselülozik maddeler çeşitli yöntemlerle hidroliz edildikten sonra elde edilen hidrolizat fermente edilebilir şekerler yanında üretim hızını ve etanol verimini düşüren mikroorganizma için zehir etkisine sahip zayıf asitler, furanlar ve fenolik bileşikler içermektedir. Yapılan bu çalışmada bu bileşiklere uygulanan alkali yada sülfitle işlem, eter yada etil asetatla ekstraksiyon gibi çeşitli zehir giderme işlemleri fiziksel, kimyasal ve biyolojik metotlar olarak gruplara ayrılmış ve her bir zehir giderme işleminin zehirli bileşikler üzerindeki etkisi incelenmiştir. Fermantasyon koşulları değiştirilerek lignoselülozik hidrolizatların verim ve üretim hızları yükseltilmeye çalışılmıştır. Ayrıca kesikli, yarı kesikli ve sürekli sistemlerde lignoselülozik hidrolizatlar kullanılarak fermantasyon deneyleri yapılmış ve bu deneylerde fermantasyon inhibisyonu ve fermantasyona etkisi her üç sistemde karşılaştırılmıştır.

Hahn-Hagerdal ve Palmqvist'in (8) yaptıkları çalışmanın (4) devamı niteliğinde olan bu derlemede, lignoselülozik maddelerin parçalanması sırasında oluşan ve fermantasyon mikroorganizmalarını zehirleyici özelliği olan inhibitörlere yöneliktir. Bilindiği gibi lignoselülozik maddelerin hidrolizi sırasında fermente edilebilir şekerler yanında fermantasyon mikroorganizmasını inhibe edici birçok bileşik oluşmaktadır. Bu bileşikler hidrolizatların fermantasyonla etanol üretimi için limit etkisine sahiptirler. Eğer inhibitörlerin tipi ve zehirleyici etkisi bilinirse, bunları ortamdaki uzaklaştıran zehir giderme metotları geliştirilir ve daha verimli bir fermantasyon gerçekleştirilir. Dolayısıyla bu çalışmada lignoselülozik maddelerin hidrolizi esnasında oluşan inhibitörler ve bunların fermantasyon verimine ve üretim hızına etkileri araştırılmıştır. Ayrıca hidrolizatta bulunan her bir bileşiğin inhibisyon mekanizması ve birbirlerine olan etkileri bu çalışmanın temelini oluşturmaktadır.

Eken-Saraçoğlu ve Aslan (32) yaptıkları çalışmada, mısır 'koçanı' hemiselülozik hidrolizatının *Pichia stipitis* ve *Candida shehatae* mayaları ile fermantasyonu üzerine farklı zehir giderme işlemlerinin etkisini araştırmışlardır. Bu çalışmada kullanılan hidrolizat 0,3 M H_2SO_4 ile 98°C sıcaklıkta 1 saat sürede hazırlanmış olup hidrolizata uygulanan ön işlemler nötralizasyon, nötralizasyon + NaX, nötralizasyon + klinoptilolit, overliming (CaO ile aşırı muamele), overliming + NaX, overliming + ZSM-39, overliming + klinoptilolit'dir. Deneyler 150 mL çalışma hacmindeki çalkalamalı kaplarda, 80 rpm hızında, pH=6 iken ve 30 °C sıcaklıkta gerçekleştirilmiş olup deneylerde kullanılan indirgen şeker konsantrasyonu 45 g/L'dir. Fermantasyon deneyleri sonucu, en yüksek etanol konsantrasyonu, CaO ile aşırı işlem görmüş hidrolizatın *Pichia stipitis* mayası ile fermantasyonu sonucu 10,4 g/L olarak elde edilmiştir. Bu koşullarda etanol verimi $Y_{P/S} = 0,34$ g/g ve biyokütle verimi $Y_{X/S} = 0,23$ g/g olarak elde edilmiştir.

Ranatunga ve arkadaşları (3) yaptıkları çalışmada, sarı kavak hemiselüloz hidrolizatına farklı zehir giderme işlemlerinin etkisi araştırılmıştır. Öncelikle

hidrolizata üç farklı ön işlem uygulanmıştır. Bunlar ısıtma işlemi görmüş hidrolizat, ısıtma işlemi + anyon değiştiriciyle işlem, ısıtma işlemi + katyon değiştirici + anyon değiştiriciyle işlemidir. Ön işlem görmüş hidrolizat CaO ile aşırı muamele ve direkt nötralizasyon işlemlerine tabi tutulmuştur. Daha etkin bir fermentasyon elde edebilmek için hidrolizat ve sentetik ortam, %30, %60, %80 oranında hidrolizat içerecek şekilde karıştırılmıştır. Yapılan fermentasyon deneyleri sonucunda en iyi sonuç sadece glikoz, ksiloz, asetik asit ve sülfürik asit içeren sentetik hidrolizatlardan elde edilmiştir. CaO ile aşırı muamelenin fermentasyon verimi üzerinde pozitif bir etki yaratmadığı ancak nötralizasyonun daha yüksek bir etanol verimine sahip olduğu sonucuna varılmıştır. Yapılan çalışmada CaO ile aşırı muamelenin asetik asit üzerinde fazla bir etkiye sahip olmadığı, ancak fenolikleri biraz düşürdüğü ve furanları önemli ölçüde azalttığı görülmüştür.

Martinez ve arkadaşları (18) $\text{Ca}(\text{OH})_2$ ile aşırı işlemin lignoselülozik hidrolizatlar üzerine etkisini inceleyen bir çalışma yapmışlardır. Bu çalışmada 25 ve 60 °C'deki overliming işleminin lignoselüloz hidrolizatında meydana getirdiği değişiklikler ve fermentasyon performansı incelenmiştir. Yapılan deneyler sonucunda, 60°C'de işlem yapılması durumunda daha az $\text{Ca}(\text{OH})_2$ gerektiği ve bu sıcaklıktaki işlemin, zehirliliği ve furan derişimini azaltmada 25°C'deki işleme göre daha etkili olduğu sonucuna varılmıştır.

Martinez ve arkadaşları (33) yaptıkları çalışmada hemiselüloz hidrolizatındaki toplam furanları hesaplamak için UV spektrumlarını temel alan basit bir metot geliştirmişlerdir. Buna göre 320 ile 284 nm dalga boylarındaki absorpsiyonlar arasındaki fark toplam furanları (furfural, hidroksimetilfurfural) belirlemede oldukça basit bir metottur. Buna göre toplam furanları hesaplamak için $A_{284} - A_{320} = 0.127 \times \text{toplam furan (mg/l)} + 0.056$ formülü kullanılmaktadır.

Nigam'ın (34) yaptığı çalışmada *Pichia stipitis* mayasının kırmızı meşe ağacı hemiselülozik hidrolizatına adaptasyonu incelenmiştir. İlk önce asetik asit içeren ve içermeyen iki sentetik ortam karşılaştırılmış, asetik asit içeren

ortamda elde edilen etanol derişimi 0,8 g/L (0,02 g etanol / g substrat) iken asetik asit içermeyen ortamda 16,3 g/L (0,44 g etanol / g substrat) olarak bulunmuştur. *P. stipitis* hidrolizata önce eğik agar ortamında daha sonra sıvı hidrolizat ortamında kademeli olarak adapte edilmiştir. % 30 hidrolizat içeren ortama *P. Stipitis*'in adapte edildiğı kültürle (pH=4-6), adapte edilmediğı ortamın (pH=5-6) fermantasyon performansı karşılaştırılmıştır. Adaptasyon yapılmamış ortamda (pH=6) 9,8 g/L etanol elde edilirken adaptasyon yapılmış ortamda (pH=6) 14,5 g/L etanol elde edilmiştir.

Martinez ve arkadaşları (35) yaptıkları çalışmada, lignoselülozik hidrolizatlardaki inhibitörlerin ortamdaki uzaklaştırılması için uygulanan farklı zehir giderme işlemlerinden CaO ile aşırı işlem yöntemi geliştirilmeye çalışılmıştır. Buna göre önce optimum Ca(OH)_2 miktarını belirleyebilmek için 2 N NaOH ile pH 7 veya 11'e titrasyon yapılmıştır. Yapılan deneylerde 15 farklı hidrolizat kullanılmıştır, herbirinin ortalama bileşimi (litrede); 95,24±7,29 g şeker, 5,3 ±2,99 g asetik asit, 1,305±0,288 g toplam furanlar, 2,86±0,34 g fenolik bileşikler olarak ölçülmüştür. Overliming olarak bilinen CaO ile aşırı muamele işlemi sonucunda toplam furanların % 51±9, fenolik bileşiklerin % 41±6 ve şekerin ise %8,7±4,5 oranında azaldığı yapılan ölçümler sonucunda görülmüştür. Ayrıca dokuzun üzerindeki pH'larda şekerin önemli ölçüde düştüğü yapılan çalışmada görülmektedir.

Sene ve arkadaşları (36) yaptıkları çalışmada, şeker kamışı hidrolizatından ksilitol üretimi için *Candida guilliermondii* aşama aşama hidrolizat ortamına adapte edilmiştir. Adaptasyon işlemi dört farklı aşamada gerçekleştirilmiştir. Yapılan deneyler sonucunda, adaptasyon sayısı arttıkça ksilitol veriminin ve hacimsel üretim hızının arttığı görülmüştür. Elde edilen ksilitol verimi 0,59 g/g olarak bulunmuştur. Hidrolizata daha fazla adapte olan mikroorganizmaların ksilozu ksilitole çevirme yeteneğinin daha iyi olduğu görülmüştür. Hidrolizattaki glikozun etanole fermantasyonunun yine adaptasyon sayısının

(1 kere ve 4 kere yapılan adaptasyon arasındaki fark) artmasıyla %40 oranında arttığı görülmüştür.

Lignoselülozik maddelerin hidrolizini inceleyen diğer bir derleme ise Perez ve arkadaşları (12) tarafından yapılmıştır. Bu çalışmada selüloz, hemiselüloz ve ligninin bileşenlerine parçalanması ayrıntılı bir şekilde araştırılmış ve enzimatik hidroliz incelenmiştir. Enzimoloji ve parçalanmanın daha iyi anlaşılabilmesi için ilk önce hücre duvarının yapısı ve bileşenleri tanımlanmıştır. Ağaç, tarımsal ve ormancılık artıkları, evsel katı atıklar gibi doğal lignoselülozik kaynakların parçalanarak yapısındaki selüloz, hemiselüloz ve lignin ürünlerini elde etmek için geliştirilmiş biyolojiksel metotlar araştırılmıştır. Bundan başka kağıt hamuru ve kağıt üretimi sırasında kullanılan enzimler, kağıt hamurunun ağartılması, kağıt fabrikası atık sularının arıtılması bu çalışmada yer alan konular arasındadır.

Niklasson ve arkadaşları (37) yaptıkları çalışmada, seyreltik asit hidrolizatındaki inhibitörlerin overlimingle (CaO ile aşırı işlem) zehir giderme metoduna farklı işlem koşullarının etkisi incelenmiştir. Overliming işlemi, 10, 11, 12 gibi üç farklı pH'ta, 25 ve 60 °C olmak üzere iki farklı sıcaklıkta ve 0, 1, 20, 170 saatlik dört farklı işlem süresinde gerçekleştirilmiştir. Elde edilen hidrolizatların fermentasyon etkinliğini belirlemek için çalkalamalı kaplarda *Saccharomyces cerevisiae* ile deneyler yapılmıştır. pH=12'de, 20 saatten daha uzun süren işlem koşullarında ve her iki sıcaklıktada toplam furanların sıfıra yaklaştığı görülmüştür. Ancak asetik asit hiçbir değişiklikten etkilenmemiştir. Bunun yanında pH ve işlem süresi arttıkça ortamdaki şekerin düşme eğilimi gösterdiği ancak fermentasyon etkinliğinin yükseldiği görülmüştür.

Badal (23) tarafından yapılan çalışmada, lignoselülozik biyokütlenin fermente edilebilir şekerlere dönüşmesi için uygulanan enzimatik sakkarifikasyon işlemi için değişik ön işlemler araştırılmıştır. Tahıl liflerinin enzimatik sakkarifikasyonu ve ön işlemleri araştırılmış ve hemiselülozların

biyodönüşümü için, endo-ksilanaz, β -ksilozidaz ve α -L-arabinofuranosidaz gibi yeni enzimlerin geliştirilmesine çalışılmıştır. Ayrıca yapılan bu derleme çalışmada, hemiselülozların biyodönüşümü sonucu, yakıt etanol, ksilitol, 2,3-bütandiol ve diğer bazı önemli fermentasyon ürünlerinin elde edilmeleri için gerekli ortam koşulları araştırılmıştır.

3.2 Lignoselülozik Hidrolizatların Fermantasyonu

Van Zyl ve arkadaşları (38) yaptıkları çalışmada, şeker kamışı hemiselülozik hidrolizatının farklı alkali çözeltilerle pH=6,5'e nötrleştirme işlemi gördükten sonra *Pichia stipitis* mayası ile fermentasyonu incelenmiştir. Deneyler 130 rpm karıştırma hızında, 30 °C sıcaklık ve 150 ml ortam hacminde çalkalamalı kaplarda yapılmıştır. Hidrolizat NH_4OH ve NaOH ile nötrleştirildiğinde fermentasyon hiç gerçekleşmemiştir. CaO , CaCO_3 , MgCO_3 , Ca(OH)_2 ile nötrleştirildiğinde yapılan fermentasyonlar karşılaştırıldığında, elde edilen en iyi sonuç Ca(OH)_2 ile 11.1 g/l etanol (0.27g/g) üretimiyle sonuçlanmıştır. Aynı deney Ca(OH)_2 ile 300 rpm karıştırma hızı, 30 °C sıcaklık, 1,50 litre ortam hacminde ve pH=6,5 koşullarında gerçekleştirildiğinde 15 g/l etanol (0.38g/g) üretimiyle sonuçlandığı ve fermentasyon süresinin daha kısa olduğu görülmüştür.

Olsson ve Hahn-Hagerdal'ın (1) yaptıkları bu çalışmada, çeşitli fermentasyon organizmaları (bakteri, maya ve mantarlar) ve bunların lignoselülozik hidrolizatlardaki performansı incelenmiştir. Lignoselülozik maddelerin hidrolizi ve hidroliz sırasında yan ürün olarak oluşan inhibitörler, nasıl oluştukları, onların fermentasyon mikroorganizmaları üzerindeki etkileri ve fermentasyona etkileri, daha etkili bir fermentasyon gerçekleştirebilmek için bu inhibitörleri hidrolizat ortamından uzaklaştırma metotları bu derlemenin önemli bir kısmını oluşturmaktadır. Ayrıca fermentasyon ortamının pH, sıcaklık ve besin içeriği yanında bu parametrelerin proses ekonomisi üzerindeki etkileri de incelenmiştir.

Sreenath ve Jeffries (39) yaptıkları çalışmada, sert ağaç ve yumuşak ağaç karışımı olan sekiz farklı ağaç hidrolizatındaki glikoz ve ksiloz karışımının *Pichia stipitis* ve *Candida shehatae* ile fermantasyonunu incelemişlerdir. Fermantasyonlar sonucu *Candida shehatae* ile elde edilen etanol üretim hızı ve verimlerinin (34 g/l etanol) *Pichia stipitis* ile elde edilen sonuçlara oranla daha yüksek olduğu görülmüştür. Asit hidrolizatına 10 mg/l çinko eklemenin etanol üretimini etkilemediği fakat şeker harcanma ve etanol üretim hızını arttırdığı görülmüştür. Yapılan fermantasyon deneylerinde, optimum etanol üretim hızının pH=5,5-6,0 aralığında elde edildiği ve verimin 0,41-0,46g/g aralığında olduğu görülmüştür.

Nigam (40) mikroorganizmaları hidrolizata adapte etmeye yönelik diğer bir çalışmada, *Pichia stipitis* mayasını buğday samanı hemiselüloz hidrolizatına adapte ederek etanole fermantasyonunu incelemiştir. pH=6 'ya nötrleştirilmiş hidrolizat ile CaO ile aşırı titrasyon işlemi görmüş hidrolizatın fermantasyonu karşılaştırılmış ve etanol üretim verimleri sırasıyla 0,15 ve 0,36 g etanol/g substrat olarak bulunmuştur. Bu verimler hidrolizata adapte edilmiş mikroorganizmanın fermantasyonu ile karşılaştırılmıştır. Yapılan deneyler sonucunda, CaO ile aşırı titrasyon işlemi görmüş hidrolizata adapte edilmiş mikroorganizma fermantasyonunun 0,41 g etanol / g substrat (19,10g/L etanol) ile en iyi sonucu verdiği görülmüştür.

Sharma ve arkadaşları (41) yaptıkları çalışmada, ayçiçeği saplarının etanol üretiminde kullanılabilirliğini araştırmışlardır. Ayçiçeği sapları *Trichoderma reesei* Rut-C 30 selüloz ile hidroliz edilerek 40 g/L konsantrasyonunda indirgen şeker elde edilmiştir. Elde edilen enzim hidrolizatı, çalkalamalı kaplarda, pH=5 ve T=30 °C koşullarında fermente edilerek 0,444 g / g etanol verimi elde edilmiştir. Ayrıca etanol üretimi için 1 ve 15 litre ortam hacminde, T=30°C, pH=5, 150 rpm karıştırma hızı, 1L/dak hava akış hızı ve %30 çözünmüş oksijen koşullarında fermantasyon yapılmış ve sırasıyla 0,439 ve 0,437 g/g etanol verimi elde edilmiştir.

Galbe ve Zacchi 'nin (16) yaptıkları çalışma, bir önceki çalışmaya göre biraz daha spesifik olup kozalaklı (yumuşak) ağaçların hemiselülozik hidrolizatından fermantasyonla etil alkol üretimini inceleyen derleme bir çalışmadır. Bu çalışmada kozalaklı ağaçların asidik ve enzimatik hidroliz prensipleri incelenmiş ve kozalaklı ağaçlardan etil alkol üretimine kadar geçen sürecin akış şeması oluşturularak, karşılaşılabilecek ana problemler tartışılmıştır. Ayrıca kozalaklı ağaçlardan etil alkol üretim prosesinin ekonomik olup olmadığı bu çalışmada incelenen diğer konular arasındadır.

Nigam'ın (24) yaptığı çalışmada, su sümbülü hemiselüloz hidrolizatını *Pichia stipitis* mayası ile fermente ederek etanol üretimi için incelemiştir. Kullanılan su sümbülü hidrolizatına overliming+sodyum sülfitle zehir giderme işlemi uygulanarak işlem görmemiş hidrolizatla fermantasyon performansları karşılaştırılmıştır. Fermantasyon, pH=6, 250rpm karıştırma koşullarında gerçekleştirilmiştir. Yapılan deneylerde, işlem görmemiş hidrolizatla 0,19 g/g (2,52 g/l etanol) etanol verimi elde edilirken, işlem görmüş hidrolizat ile 0,35 g/g (18 g/l etanol) etanol verimi elde edilmiştir. Ayrıca fermantasyon sistemine hava akış hızının etkisi incelenmiş ve 0,02 vvm hava hızının sistem için optimum hız olduğu belirlenmiştir.

3.3 Fermantasyon Kinetiği

Ollson ve Hahn-Hagerdal (42) yaptıkları çalışmada, *Escherichia coli* KO11 'in hem sentetik ortamda (saf olarak elde edilmiş substrat) hem de buhar ön işlemlili söğüt hidrolizatı ortamındaki etanol üretim kinetiğini araştırmışlardır. Etanol'ün fermantasyon kinetiğine substratın etkisini incelemek maksadıyla ksiloz ve glikoz hem birlikte hem de ayrı ayrı olarak fermente etmişlerdir. Deneylerde kullanılan söğüt, farklı zehir giderici ön işlemlerden geçirilerek zehir giderme yöntemlerinin fermantasyona etkileri incelenmiştir ve yapılan deneyler sonucu en uygun zehir giderme yönteminin CaO ile aşırı işlem + sodyum sülfitle işlem olduğu görülmüştür. Deneyler 1 L hacmindeki cam bir reaktörde 0,6 L çalışma hacminde gerçekleştirilmiş olup, pH 6'da kontrol

edilmiş ve deneyler anaerobik ortamda gerçekleştirilmiştir. Deneysel çalışma sonucu elde edilen veriler kullanılarak bir model geliştirilmiştir. Geliştirilen model substrat ve ürün inhibisyonunu içeren Monod kinetiğini temel almaktadır.

Krzystek ve arkadaşları (43) yaptıkları çalışmada, *Saccharomyces cerevisiae* mayası ile etanol fermantasyonunun kinetiği deneysel ve teorik olarak araştırılmıştır. Kesikli sistemde yapılan deneyler anaerobik ortamda, 130-210 g/L aralığındaki sakkaroz konsantrasyonunda ve pH'ın kontrol edildiği ve edilmediği durumlarda gerçekleştirilmiştir. Fermantasyon kinetiğini daha iyi inceleyebilmek için değişik modellerin geliştirildiği bu çalışmada, sabit pH'da deneysel çalışmalarla en iyi uyum gösteren modelin Herbert'in hücre içi solunumu metabolizmasını ifade eden terimi ve etanol inhibisyonunun büyüme hızına olan etkilerini gösteren eksponansiyel terimi içeren model olduğu görülmüştür. pH kontrolü yapılmadığı durumlarda pH'ın biyokütle büyüme hızı üzerine etkisini belirleyebilmek amacı ile modele bir düzeltme faktörü eklenmiştir ki buna göre hidrojen iyonunun harcanma hızı ile büyüme hızı arasında lineer bir bağıntı olduğu varsayılmıştır.

Silva ve arkadaşları (44) yaptıkları çalışmada, ksilozun doğal bir tatlandırıcı olan ksilitole *Candida guilliermondii* FTI 20037 ile dönüşümüne karıştırma hızının etkisini incelemişlerdir. Fermantasyonlar 1 litrelik karıştırmalı tank reaktörde gerçekleştirilmiş olup fermentör sisteminde pH, sıcaklık ve hava akış hızı deney süresince kontrol edilmiştir. Hava akış hızı 0,46 vvm(hava hacmi/(ortam hacmi)(fermantasyon süresi)) iken karıştırma hızı 200, 300, 400 rpm (devir/dakika) olarak değiştirilmiş ve bu değişimin büyüme hızı ve K_La üzerindeki etkisi incelenmiştir. Buna göre maksimum ksilitol üretimi 30 °C'de, karıştırma hızı 300 rpm iken 22,2 g/L olarak elde edilmiştir. Ayrıca yapılan bu çalışmaya göre glikoz ve ksiloz içeren ortamlarda substratın ksilitole dönüşüm yüzdesinin %45 olduğu, ancak substrat olarak sadece ksilozun bulunduğu ortamlarda bu oranın %66'a çıktığı gözlemlenmiştir.

Sanchez ve arkadaşları (45) yaptıkları çalışmada, kesikli reaktörde, *Candida shehatae* ile ksilozdan etanol üretimi üzerine pH ve hava akış hızının etkisini incelemişlerdir. İlk olarak sistemin başlangıç pH'ı sisteme hiç hava akışı olmadığı durumda 2,5 – 3,5 – 4 – 4,5 – 5,5 – 6,5 olarak değiştirilmiş ve pH=4,5 iken fermantasyonun 20. saatinde maksimum spesifik büyüme hızı $\mu_m=0,329 \text{ st}^{-1}$, biyokütle üretim hızı $0,024 \text{ kg/m}^3\text{st}$, biyokütle verimi $Y_{X/S} = 0,036 \text{ kg/kg}$ olarak hesaplanmıştır. Daha sonra pH=4,5 iken sisteme 0,075 ve 0,3 vvm hızında hava verilmiştir. Hava akış hızı 0,075 iken $\mu_m=0,338 \text{ st}^{-1}$, biyokütle üretim hızı $0,037 \text{ kg/m}^3\text{st}$, biyokütle verimi $Y_{X/S} = 0,075 \text{ kg/kg}$ olarak elde edilmiştir.

Monteagudo ve arkadaşları (46) yaptıkları çalışmada, pancar melasının *Lactobacillus delbrueckii* organizması ile laktik asite dönüşümünün fermantasyon kinetiğini araştırmışlardır. Deneyler kesikli sistemde, anaerobik koşullarda, 100 rpm karıştırma hızında, pH ve sıcaklığın (49°C) deney süresince kontrol edildiği koşullarda gerçekleştirilmiştir. pH 4,93 – 5,33 – 5,85 ve 5,90 iken deneyler yapılmış ve en iyi sonuçlar pH=5,9 iken $\mu_m = 0,831 \text{ st}^{-1}$, $Y_{X/S} = 0,27 \text{ g/g}$ ve $Y_{P/S} = 0,91 \text{ g/g}$ olarak bulunmuştur ki bu parametreler pancar melasının fermantasyon kinetiği için kurulan hız eşitliklerinin nonlinear regresyon analizi sonucu elde edilmiştir. Kurulan modelde spesifik büyüme hızı substrat limitasyonu içeren monod tip eşitlikle tanımlanmış olup, oluşan ürünün kinetik ifadesi Luedeking-Piret kinetiği ile ifade edilmiştir.

Sanchez ve arkadaşları (47) yaptıkları çalışmada, lignoselülozik hidrolizatlardaki iki önemli monosakkaritin (glikoz ve ksiloz) *Pachysolen tannophilus* ve *Candida shehatae* mayaları ile etanol fermantasyonunu incelemişlerdir. Yapılan bütün deneyler 2 litre hacmindeki karıştırmalı tank reaktörde 0,5 litre çalışma hacminde gerçekleştirilmiştir. Reaktör çalışma koşulları, karıştırma hızı 500 rpm, sıcaklık 30°C ve pH=4,5 iken, substrat olarak glikoz ve ksilozun farklı oranlarda karıştırıldıkları çözeltiler kullanılarak *Pachysolen tannophilus* ve *Candida shehatae* mayaları ile deneyler

yapılmıştır. Ayrıca *Pachysolen tannophilus* ve *Candida shehatae* mayalarının etanol fermentasyonu için kinetik bir model oluşturulmuştur ve bu model yardımıyla fermentasyon parametreleri hesaplanmıştır. En yüksek spesifik etanol üretim hızı (q_p) ve spesifik substrat harcanma hızı (q_s) *Candida shehatae* mayası ile yapılan deneylerde elde edilmiştir. Benzer şekilde elde edilen en yüksek etanol verimlerinin, her iki mayada da birbirine oldukça yakın olduğu görülmüştür.

Roberto ve arkadaşları (48) yaptıkları çalışmada tüm oksijen transfer katsayısının (k_{La}), pirinç samanı hemiselüloz hidrolizatının *Candida guilliermondii* FTI 20037 ile ksilitole fermentasyonuna etkisini incelemişlerdir. Deneysel çalışmalar, 30°C sıcaklık, 300 rpm karıştırma hızı, pH=5,4 olan koşullar altında 0,55 litre çalışma hacmine sahip karıştırılmalı bir tank reaktörde gerçekleştirilmiştir. Oksijen transfer katsayısının fermentasyona etkisini inceleyebilmek için hava akış hızı 0,5-1,7 vvm arasında değiştirilmiştir. Oksijen transfer katsayısı (k_{La}), indirek metotla belirlenmiştir. En yüksek hacimsel üretim hızı ve ksilitol verimi sırasıyla, 0,52 g/L.st., 0,73g/g olarak oksijen kütle transfer katsayısı 15 st⁻¹ iken (1,3 vvm hava akış hızında) elde edilmiştir.

Roberto ve arkadaşları (49) yaptıkları diğer bir çalışmada, pirinç samanı hemiselülozik hidrolizatının *Candida guilliermondii* FTI 20037 ile ksilitole fermentasyonu kesikli kültür koşullarında araştırılmıştır. Fermentasyon, 0,55 litre hidrolizat içeren 1 litre hacmindeki karıştırılmalı bir tank reaktörde, 1,3 vvm hava akış hızında, 300 rpm karıştırma hızında ve başlangıç pH'ı 5,4 olan koşullarda gerçekleştirilmiştir. Fermentasyon sonucunda spesifik büyüme hızı (μ_x) ile spesifik ksilitol oluşum hızı (q_p) arasında lineer bir bağıntı olduğu ve bu bağıntının $q_p = 6,31 \mu_x$ şeklinde olduğu görülmüştür.

Aranda-Barradas ve arkadaşları (50) yaptıkları çalışmada, ksilozdan *Candida parapsilosis* ATCC 28474 mayası ile ksilitol üretiminin kinetiği ve ksilitol

üretimi üzerine oksijenin etkisi araştırılmıştır. Bu amaçla deneyler 15 litre hacmindeki kesikli reaktörde, çözünmüş oksijen, sıcaklık ve karıştırma hızının kontrol edildiği koşullarda gerçekleştirilmiş olup hava akış hızı 0,1 – 0,15 – 0,2 – 0,3 – 0,5 vvm olarak değiştirilerek deneyler yapılmış ve k_{La} değeri dinamik metotla ölçülmüştür. Reaktöre hava akış hızı arttıkça ksilitol üretiminin düştüğü dolayısıyla 0,1-0,2 vvm akış hızlarında ksilitol üretiminin daha iyi olduğu görülmüştür. Ksilozdan *Candida parapsilosis* mayası ile ksilitol üretiminin kinetik analizi için yapısız bir model oluşturulmuştur. Bu modele göre fermantasyon süresinin üç aşamadan ibaret olduğu, birinci aşamada ortamdaki substrat aşırı olduğundan spesifik büyüme hızının maksimum spesifik büyüme hızına eşit olduğu, ikinci aşamada limitleyici substrat olarak çözünmüş oksijenin daha etkili olduğu ve üçüncü aşamanın reaktördeki oksijen transfer kapasitesine bağımlı olduğu düşünülmüş ve kinetik ifadeler oluşturulurken bu varsayımlar göz önünde bulundurulmuştur. Kinetik parametrelerin hesaplanması için basit bir metot kullanılmıştır.

Sanchez ve arkadaşları (51) yaptıkları çalışmada, değişik oranlardaki D-ksiloz ve D-glikoz karışımının *Pichia stipitis* (ATCC 58376), *Pachysolen tannophilus* (ATCC 32691) ve *Candida shehatae* (ATCC34887) mayaları ile etanol fermantasyonu incelenmiş ve optimum deney koşulları belirlenmiştir. bütün deneyler karıştırmalı bir tank reaktörde gerçekleştirilmiş olup sıcaklık 30 °C ve başlangıç pH'ı 4,5'tir. Yapılan deneyler sonucu en yüksek maksimum spesifik üretim hızı μ_m (0,55 st⁻¹) ortamda sadece D-ksiloz varken ve maya olarak *Pichia stipitis* kullanıldığında elde edilmiştir. Ayrıca her üç mayanın kullanıldığı durumda en iyi toplam spesifik substrat harcanma hızı q_s (5 g/g st) ve spesifik etanol üretim hızı q_E (2 g/g st) *Candida shehatae* mayası kullanıldığı zaman elde edilmiştir.

Boonmee ve arkadaşları (52) yaptıkları çalışmada, *Lactococcus lactis* NZ 133'ün kesikli ve sürekli sistemdeki fermantasyonu için bir model geliştirmişlerdir. Kesikli sistemdeki deneyler 400 mL çalışma hacmindeki 1 litrelik fermentörde, 30 °C sıcaklıkta, 100 rpm karıştırma hızında ve pH=6,5

iken gerçekleştirilmiştir. Sürekli sistemdeki deneyler ise 250 mL çalışma hacmindeki fermentörde, pH=6,5'te, 30 °C sıcaklıkta gerçekleştirilmiştir. Kesikli sistemdeki deneylerde substrat olarak kullanılan laktozun konsantrasyonu 20-100 g/L aralığında değiştirilmiştir. Kesikli sistem deneyleri için geliştirilen modelde, substrat limitasyonu olduğu, aynı zamanda substrat ve ürün inhibisyonu olduğu varsayılarak büyüme ve ürün için Luedeking-Piret eşitliği kullanılmıştır. Model parametreleri Microsoft EXCEL'de hazırlanan bir program yardımıyla deney verileri temel alınarak hesaplanmıştır. Buna göre maksimum spesifik büyüme hızı $\mu_m=1,10 \text{ st}^{-1}$, laktat verimi $Y_{P/S} = 0,93 \text{ g/g}$ olarak hesaplanmıştır.

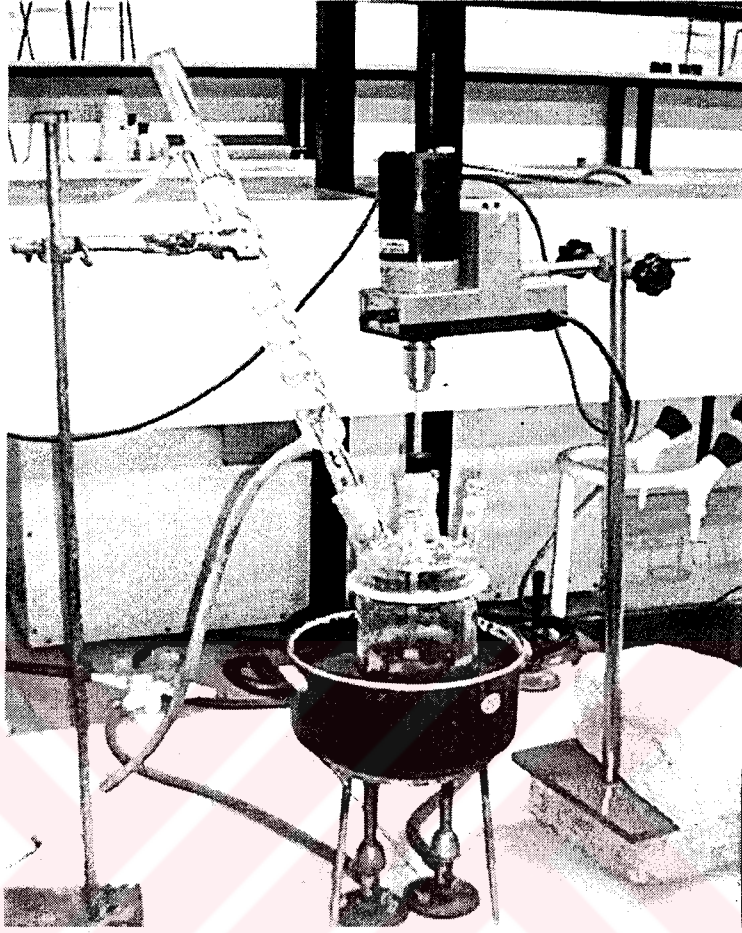
Liu ve arkadaşları (53) yaptıkları çalışmada, glikonik acidin *Aspergillus niger* ' le fermantasyon kinetiğini kesikli sistemde incelemişlerdir. Kesikli sistem deneyleri 4 L hacmindeki karıştırılmalı tank bioreaktörde, pH ve sıcaklığın deney süresince kontrol edildiği koşullarda, 756 rpm karıştırma hızında, 0,9 vvm hava akış hızında, 32 °C sıcaklıkta ve pH=6 iken gerçekleştirilmiştir. Deneylerde kullanılan substratın konsantrasyonu 90,5 g/L'dir. Yapılan çalışma sonunda büyümeyi, glikonik asit üretimi ve glikoz tüketimini ifade eden bir model geliştirilmiştir ve model parametreleri bir bilgisayar programı yardımıyla maksimum spesifik büyüme hızı $\mu_m= 0,22 \text{ st}^{-1}$ ve büyüme verimi $Y_{X/S} = 0,097 \text{ g/g}$ olarak hesaplanmıştır.

4. DENEYSEL ÇALIŞMA

Yaklaşık %21,5 (5) oranında hemiselüloz içeren ayçiçeği kabuklarının lignoselülozik bir hammadde olarak fermantasyon yolu ile etanol elde edilerek değerlendirilmesine yönelik yapılan çalışma üç aşamadan oluşmaktadır. Bu çalışmada, Antakya yöresindeki bir yağ fabrikasının sıkım artığı olan ayçiçeği kabukları kullanılmıştır.

4.1 Ayçiçeği Kabuğu Hemiselüloz Hidrolizatının Hazırlanması

Antakya yöresindeki bir yağ fabrikasının sıkım artığı olan ayçiçeği tohum kabukları çekiçli bir değirmende öğütülüp elek analizine tabi tutularak 0,71-1mm boyut aralığındaki bölümü hidrolizat deneyleri için kullanılmıştır. Hemiselüloz hidrolizatı su banyosunun içine daldırılmış 1 litre hacmindeki cam bir reaktörde 100 rpm karıştırma hızında hazırlanmıştır (Resim 4.1.). Kullanılan cam reaktör, 12 cm çapında ve 20 cm yüksekliğinde olup kapaklıdır ve kapak kısmına bir geri soğutucu takılmıştır. Cam reaktör karıştırıcı bir motor yardımıyla cam bir karıştırıcı pervane tarafından karıştırılmıştır. Hidrolizat hazırlamak için kullanılacak asit derişimi, katı-sıvı oranı ve işlem süresi Jargalsaikhan'ın (5) çalışmasında belirttiği gibidir. 500mL hacminde 0,7 M H₂SO₄ çözeltisi cam reaktöre konmuş ve sıcaklık 90 °C 'ye gelince bu çözeltiye, 1/5 katı-sıvı oranında olacak şekilde 100 g öğütülüp elek analizi yapılmış ayçiçeği tohum kabukları ilave edilmiştir. Yaklaşık 3,5 saatlik hidroliz işlemi sonunda elde edilen hemiselüloz hidrolizatı önce patiska bezden süzülerek posasından ayrılmış daha sonra filtre kağıdından süzölmüştür. Elde edilen ayçiçeği tohum kabuğu hemiselüloz hidrolizatına şeker analizi yapılarak 37 g/L konsantrasyonunda indirgen şekere sahip olduğu görölmüştür. Fermantasyon öncesi sentetik ksiloz ilavesi ile bu değer 48 g/L'ye tamamlanmıştır.



Resim 4.1. Hidrolizat hazırlanan deney düzeneği

4.2 Ayçiçeği Tohum Kabuğu Hemiselüloz Hidrolizatına Uygulanan Ön İşlemler

4.1'deki gibi hazırlanan hemiselüloz hidrolizatına fermantasyon işleminden önce aşağıdaki ön işlemler uygulanmıştır.

Yöntem 1. Hidrolizat 60°C'ye ısıtılarak bu sıcaklıkta 30 dakika bekletilmiştir. CaO kademeli olarak eklenerek pH=10'a çıkarılmış daha sonra H₂SO₄ ile pH=6'ya düşürülmüştür. Hidrolizat önce Amerikan bezinden süzülerek posasından ayrılmış daha sonra santrifüj edilerek bunu takiben birde mavi banttıan süzölmüştür. Bu yöntem CaO ile aşırı muamele olarak bilinmektedir.

Yöntem 2. Yöntem 1'deki gibi işlem görmüş olan hidrolizata 3 g/L konsantrasyonunda Na_2SO_3 ilave edilmiştir. Son olarak hidrolizata santrifüj ve süzme işlemi uygulanmıştır.

Yöntem 3. Yöntem 1'deki gibi işlem görmüş hidrolizata 1g aktif karbon / 205 g hidrolizat olacak şekilde aktif karbon eklenerek 24 saat süreyle 30°C 'de karışması sağlanmıştır. Aktif karbon eklenmeden önce bir saat kaynayan su banyosunda muamele edilerek aktif hale getirilmiştir. Son olarak hidrolizata santrifüj ve süzme işlemi uygulanmıştır.

Yöntem 4. Hidrolizat 60°C 'ye ısıtılarak bu sıcaklıkta 30 dakika bekletilmiştir. CaO kademeli olarak eklenerek pH=6'a çıkarılmıştır. Hidrolizat önce Amerikan bezinden süzülerek posasından ayrılmış daha sonra santrifüj edilerek bunu takiben birde mavi banttı süzümüştür. Bu yöntem nötralizasyon olarak bilinmektedir.

4.3 D-Ksilozdan *Pichia stipitis* Mayası Kullanılarak Fermantasyonla Etil Alkol Eldesi

Bu bölümde D-ksilozun *Pichia stipitis* mayası kullanılarak fermantasyonla etil alkol üretimi araştırılmıştır. Bu deneyler, ayçiçeği tohum kabuğu hemiselüloz hidrolizatından *Pichia stipitis* mayası kullanılarak fermantasyonla etil alkol üretimine yönelik yapılan deneyleri kontrol etme amacıyla yapılmıştır.

4.3.1 Mikroorganizma ve kültür şartları

Deneylerde kullanılan *Pichia stipitis* (NRRL-Y-7124)(CBS-5773) mayası liyofiliz halinde United States Department of Agriculture'dan temin edilmiştir. İlk olarak liyofiliz halindeki mayanın transfer edileceği sıvı ortam hazırlanmıştır. Bu sıvı ortam; 0,3 g yeast ekstrakt, 0,3 g malt ekstrakt, 0,5 g pepton ve 1 g glikozun 100 mL destile suda çözünmesiyle hazırlanmıştır.

Hazırlanan bu çözeltiden 0,5-0,7 mL tüplere konularak 121⁰C'de 20 dakika otoklavda sterilizasyon yapılmıştır. Mayanın içinde bulunduğu cam kapsülün ağzı alkol ile silinip kesilerek, içindeki maya daha önce hazırlanmış sıvı ortama atılarak çözünmesi beklenmiştir. Daha sonra mayaların transfer edileceği eğik agar ortamı hazırlanmıştır. Eğik agar ortamı; 0,3 g yeast ekstrakt, 0,3 g malt ekstrakt, 0,5 g pepton, 1 g ksiloz ve 2 g agarın 100 mL destile suda çözünmesi ile hazırlanmıştır. Hazırlanan bu çözelti tüplere konularak 121⁰C'de 20 dakika otoklavda steril edilmiştir. *Pichia stipitis* mayası ilk hazırlanan sıvıdan bir öze yardımıyla eğik agar ortamına steril şartlarda ekilmiştir. Bu ortamlar 30 ⁰C'de 2-4 gün süre ile inkübatörde mikroorganizmaların gelişmesi için bekletilmiştir.

4.3.2 Büyüme ortamı

Mikroorganizmaların büyümesi için gerekli büyüme ortamı aşağıda belirtilen üç farklı çözeltinin birleştirilmesi ile hazırlanmıştır (54).

A çözeltisi litresinde ; 1,1 g CaO, 0,4 g ZnO, 5,4 g FeCl₃.6H₂O, 0,36 g MgO, 0,25 g CuSO₄.5H₂O, 0,24 g CoCl₂6H₂O, 0,06 g H₃BO₃ ve 13mL derişik HCl,

B çözeltisi litresinde ; 10,1 g MgO ve 45 mL HCl,

C çözeltisi litresinde ; 64 g üre, 12 g KH₂PO₄ ve 1.18 g Na₂HPO₄ bulunduran çözeltilerdir.

10 mL A çözeltisi , 10mL B çözeltisi , 100 mL C çözeltisi ve 10 g yeast ekstrakt karıştırılıp 1 N HCl ve 1 N NaOH ilavesi ile pH=4,5' ayarlanmıştır. Ksilozun diğer maddeler ile reaksiyonunu engellemek için A, B, C çözeltileri ve yeast ekstrakt ile hazırlanan çözelti ile 50 g/L ksiloz çözeltisinin sterilizasyonu ayrı ayrı yapılmıştır. Sterilizasyon 121⁰C'de 20 dakika süre ile otoklavda yapılmıştır. Steril edilen çözeltilerin birleştirilmesi ile büyüme ortamı hazırlanmıştır. Hazırlanan 100 mL büyüme ortamı 250 mL'lik erlende ağzı

pamukla kapatılarak 30°C'de 450 rpm'de manyetik karıştırıcı üzerine konmuştur. Büyüme ortamından belirli zaman aralıklarında alınan örneklerin UV spektrometrede 600 nm dalga boyunda absorbanları ölçülerek mikroorganizmanın büyümesi takip edilmiştir. Ayrıca kuru ağırlık tayini yapılarak kuru ağırlık ile absorban arasındaki ilişkiyi veren bir bağıntı elde edilmiştir (Ek 1).

Pichia stipitis mayasına ait büyüme eğrisine (Ek 2) bakılarak eksponansiyel faza denk gelen 27. saatte büyüme ortamından fermantasyon hacminin %10 oranında fermantasyon ortamına aşılmasına karar verilmiştir.

4.3.3 Fermantasyon ortamı

Fermantasyon ortamı ile büyüme ortamı hemen hemen aynı bileşime sahiptir. Yapılan deneylerde ortam koşulları, Jargalsaikhan'ın (5) yaptığı çalışma esas alınarak seçilmiştir. Deneyler, 250 mL'lik erlenlerde 135 mL fermantasyon hacminde, 30°C sıcaklıkta, 70 rpm çalkalama hızında ve pH=6 iken gerçekleştirilmiştir. Deneylerde kullanılan ksiloz konsantrasyonları 30 ve 48 g/L 'dir. D-Ksiloz ile yapılan bu deneyler ayçiçeği tohum kabuğu hemiselüloz hidrolizatı ile yapılan deneyleri kontrol amacına yönelik olarak yapılmıştır.

Fermantasyon süresince belirli aralıklarla alınan numunelerin biyokütle büyümesi, UV spektrofotometrede 600 nm dalga boyunda absorbanları okunarak kontrol edilmiştir. Ayrıca bu numunelere indirgen şeker analizi ve etil alkol analizi yapılmıştır (Ek 3, Ek 4).

4.4 Ayçiçeği Tohum Kabuğu Hemiselüloz Hidrolizatının *Pichia stipitis* Mayası Kullanılarak Fermantasyonla Etil Alkol Üretimi

Bu bölümde ayçiçeği tohum kabuğu hemiselüloz hidrolizatından *Pichia stipitis* mayası kullanılarak fermantasyonla etil alkol üretimi çalkalamalı kaplarda yapılan deneylerle araştırılmıştır.

Bölüm 4.2'deki ön işlemlere göre hazırlanan ayçiçeği tohum kabuğu hemiselüloz hidrolizati fermantasyon deneylerinde kullanılmıştır. Büyüme ortamı aynı bölüm 4.3.2'de anlatıldığı gibi hazırlanmıştır. Büyüme ortamı hazırlanırken A,B,C çözeltileri ve yeast ekstrakttan oluşan çözelti ile ksiloz çözeltisi ayrı ayrı 121⁰C 'de 20 dakika süre ile steril edilmişlerdir. Daha sonra çözeltiler steril şartlarda birleştirilerek yine steril şartlarda mikroorganizma aşılması yapılmıştır. Fermantasyon ortamının bileşimi büyüme ortamına benzemekle birlikte fermantasyon ortamında ksiloz yerine hidrolizat kullanılmıştır. A,B,C çözeltileri ve yeast ekstrakttan oluşan çözelti ile ön işlem görmüş hidrolizat ayrı ayrı 121⁰C 'de 20 dakika süre ile steril edildikten sonra çözeltiler birleştirilmiştir. Fermantasyon ortamından toplam hacmin %20'si kadar çekilip uzaklaştırılarak, yine toplam hacmin %20'si kadar büyüme ortamından fermantasyon ortamına aşılama yapılmıştır. Aşılama büyüme ortamı kültürünün 27. saatinde gerçekleştirilmiştir. Deneyler, 70 rpm karıştırma hızında, pH=6'da, 30⁰C sıcaklıkta, 135 mL ortam hacmine sahip ağzı pamuk tıkaçla kapalı 250 mL'lik erlenlerde çalkalamalı su banyosunda yapılmıştır. Ön işlemin hidrolizata etkisini incelemeye yönelik olarak yapılan deneylerde iki farklı başlangıç ksiloz konsantrasyonu kullanılmıştır. İlk olarak 48 g/L indirgen şekere sahip ortamlarda deneyler yapılmış ve gerektiği miktarda ksiloz, çözeltiler birleştirilmeden önce eklenmiştir. İkinci olarak ise hidrolizatların indirgen şeker konsantrasyonları 24-30 g/L arasında olacak şekilde seyreltilerek deneyler yapılmıştır.

Çalkalamalı kaplarla yapılan deneylerin ikinci kısmında pH ve karıştırma hızının hidrolizat deneylerine etkisi araştırılmıştır. Hidrolizat, indirgen şeker

konsantrasyonu 48 g/L iken 135 mL ortam hacminde ve 30 °C sıcaklıkta ve ikinci yönteme göre  n işlem görmüş hidrolizat kullanılarak fermente edilmiştir. Ortamın pH'ı 6 iken karıştırma hızı 70, 100, 130 rpm olarak üç farklı karıştırma hızında değiştirilerek ve 100 rpm karıştırma hızında pH 5,5-7,0 aralığında değiştirilerek deneyler yapılmıştır. Deneyler süresince belli aralıklarla alınan numunelerin 600 nm'de absorbansları okunarak biyokütle büyümesi takip edilmiştir. Ayrıca alınan bu numunelere indirgen  eker ve etil alkol analizleri yapılmıştır.

Farklı zehir giderme işlemlerinin hidrolizattaki toplam furanlar üzerindeki etkisini inceleyebilmek için Martinez ve arkadaşlarının (29) yaptığı çalışmada olduğu gibi dört farklı  n işlem görmüş hidrolizat ile hiç işlem görmemiş hidrolizatın 284 ve 320 nm'deki absorbansları okunmuş ve hidrolizatlardaki toplam furan miktarı hesaplanmıştır ( izelge 6.1).

4.5 *Pichia stipitis*'in Hidrolizata Adapte Edilmesi ve Fermantasyon

Mikroorganizmanın hidrolizat ortamındaki zehirlere karşı daha dirençli davranıp daha etkin bir fermantasyon gerçekleştirmek için mikroorganizmaların hidrolizat ortamına adapte edilmesi bir alternatiftir. Mikroorganizma hidrolizata ilk önce eğik agar ortamında adapte edilmiş sonrada büyüme ortamında adapte edilmiştir.

4.5.1 Adaptasyon

Mikroorganizmaların hidrolizata eğik agar ortamına adapte edilmesi kademeli olarak yapılmıştır. Eğik agar ortamı 0,3 g yeast ekstrakt, 0,3 g malt ekstrakt, 0,5 g pepton, 1 g ksiloz ve 2 g agarın 100 mL destile suda çözülmesiyle hazırlanmıştır. Ancak 100 mL agarsız olarak hazırlanmış çözeltinin %5'i (5 mL) atılarak % 5 hidrolizat çözeltiye eklenmiş ve agar ilavesiyle birlikte eğik agar ortamı hazırlanarak 121 °C'de 20 dakika süre ile steril edildikten sonra 24 saat agarın donması beklenmiştir. Daha sonra mikroorganizmalar D-ksiloz

içeren eğik agar ortamından %5 hidrolizat içeren eğik agar ortamına steril koşullarda bir öze yardımıyla ekilerek 30°C'de 2-4 gün süreyle inkübatörde bekletilmiştir. Daha sonra aynı şekilde sırasıyla %10, %20, %30, %40, %50 oranında hidrolizat içeren eğik agar ortamı hazırlanarak %5'den %10'a ve %10'dan %20'ye şeklinde sırayla mikroorganizma ekimi gerçekleştirilmiştir. Mikroorganizma son olarak %50'lik eğik agar ortamına adapte edilmiştir. Eğik agar ortamına adapte edilen mikroorganizmalar bir sonraki aşama olarak büyüme ortamına adapte edilmişlerdir. %20 hidrolizat içeren büyüme ortamı hidrolizat içeren eğik agar ortamına benzer şekilde hazırlanmıştır. A,B,C çözeltileri ve yeast ekstrakt içeren çözelti ile ksiloz çözeltisi ayrı ayrı 121°C'de 20 dakika steril edildikten sonra yine steril koşullarda birleştirilmişlerdir. Hazırlanan 100 mL büyüme ortamına %50'lik eğik agar ortamından mikroorganizma aşılanarak 250 mL'lik erlende ağzı pamuk tıkaçla kapatılmış ve 30°C'de 450 rpm'de manyetik karıştırıcı üzerine konmuştur. Büyüme ortamından belirli zaman aralıklarında alınan örneklerin UV spektrometrede 600 nm dalga boyunda absorbansları ölçülerek mikroorganizmanın büyümesi takip edilmiştir (Ek 5). %20'lik büyüme ortamından 48. saatte aşılama yapılmasına karar verilmiştir. Aynı şekilde %40'lık büyüme ortamı aynı %20'lik büyüme ortamının hazırlandığı gibi hazırlanmıştır. Büyüme ortamından belirli aralıklarla alınan numunelerin UV spektrometrede 600 nm dalga boyunda absorbansları ölçülerek mikroorganizmanın büyümesi takip edilmiştir (Ek 5). %20'lik ortamdan %40'lik ortama %20'lik büyüme kültürünün 48.saatinde aşılama yapılmıştır. %40'lik ortamdan fermentasyon ortamına %40'lik büyüme kültürünün 55. saatinde aşılama yapılmıştır.

4.5.2 Fermantasyon

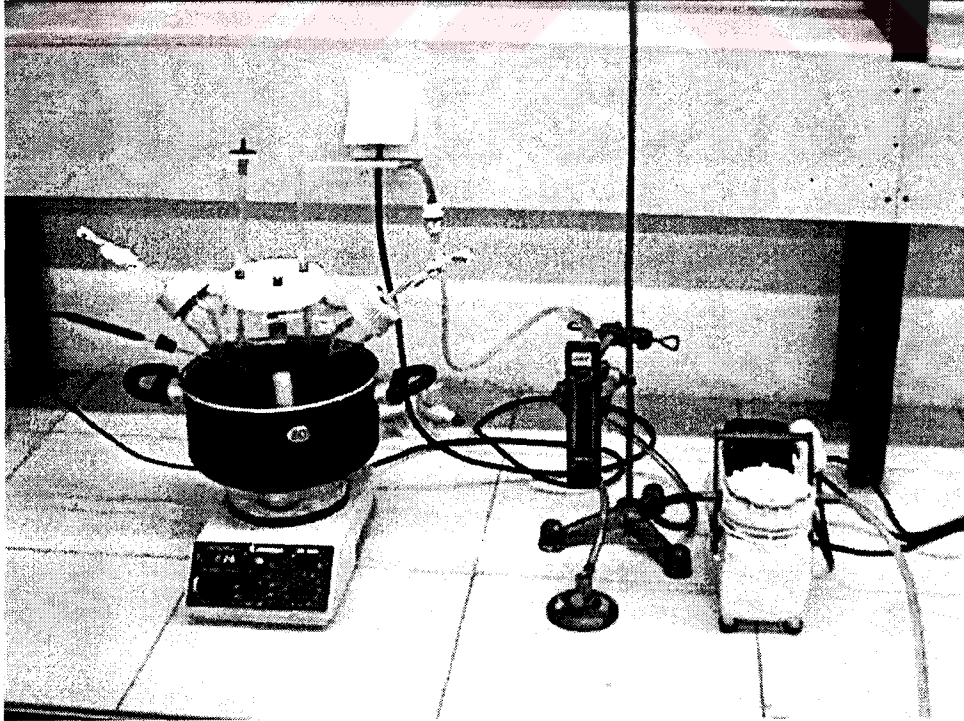
Fermantasyon ortamı için kullanılacak hidrolizat bölüm 4.1'de anlatıldığı gibi hazırlanmıştır ve yöntem 1, yöntem 2 ve yöntem 4'e göre ön işlem görmüştür. Fermantasyon ortamından toplam hacmin %20'i kadar çözelti alınıp yine toplam hacmin %20'i kadar, *Pichia stipitis*'in adapte edildiği %40

oranında hidrolizat içeren büyüme ortamından aşılama yapılmıştır. Fermantasyon ortamı 250 mL'lik çalkalamalı kaplarda 135 mL hacminde ve pH=6 iken gerçekleştirilmiştir. Ortamın indirgen şeker konsantrasyonu 48 g/L ve karıştırma hızı 70 rpm dir. Deneyler süresince alınan numunelerin 600 nm'de absorbansları okunarak biyokütle büyümesi kontrol edilmiştir. Ayrıca alınan numunelere indirgen şeker ve etil alkol analizleri yapılmıştır.

4.6 Ayçiçeği Hidrolizatının Fermentör Sistemindeki Deneyleri

4.6.1 Deney Düzeneği

Ayçiçeği hemiselülozik hidrolizatının fermantasyon kinetiğini incelemek üzere küçük ölçekli bir fermentör sistemi kurulmuştur. Bu sistemde kullanılan fermentör 170x110 mm ebatlarında, üst kapağı silikon lastikten olup, yan kapakları teflondan yapılmıştır. Üst kapakta CO₂ çıkışı, hava girişi ve numune alma bölümleri bulunmaktadır (Resim 4.2.).



Resim 4.2. Fermentör düzeneği

Hava L biçimi bir boru yardımıyla çözeltinin altından verilmektedir. Gaz giriş ve çıkış borularına sterilizasyonu sağlamak amacıyla filtreler takılmıştır. Kapağa monte edilmiş dört kanatlı bir teflon karıştırıcı bulunmaktadır. Fermentör, su banyosunun içinde, bir manyetik karıştırıcı-ısıtıcı üzerine yerleştirilmiştir. Karıştırıcı, fermentörün üstüne yerleştirildiği manyetik karıştırıcı yardımıyla döndürülmektedir. Sıcaklık su banyosuna daldırılmış manyetik karıştırıcı-ısıtıcının sıcaklık probu ile kontrol edilmiştir.

4.6.2 Deneyin Yapılışı

Fermentör sisteminde substrat olarak ayçiçeği tohum kabuğu hemiselüloz hidrolizati kullanılmıştır. Kullanılan hidrolizat yöntem 2'ye (CaO ile aşırı titrasyon + Na₂SO₃) göre ön işlemden geçirilmiştir. Hidrolizat fermantasyonunun kültür şartları ve ortamın hazırlanışı çalkalamalı kaplarda yapılan deneylerle tamamen aynıdır. Deneylerde ortam hacmi 600 mL olup sıcaklık 30 °C'de korunmuştur. Karıştırma hızı 100 rpm olup bütün deneylerde bu hızla çalışılmıştır. Sistem pH kontrollü olmayıp bütün deneylerin başlangıcında pH=6 olarak ayarlanmış ve deney süresince pH değişimi sürekli olarak kontrol edilmiştir. Başlangıçta 35 g/L indirgen şeker içeren ayçiçeği kabuğu hemiselüloz hidrolizati ile anaerobik olarak deneyler yapılmıştır. İkinci aşamada mevcut ortam koşulları sabit tutulup hava akış hızı 2.88, 5.76, 7.99 vvm olmak üzere üç farklı değerde iken deneyler yapılmıştır. Son aşamada ise hava akış hızı 2.88 vvm'de iken ksiloz konsantrasyonu 25, 35, 45, 55 olarak değiştirilerek deneyler yapılmıştır. Fermentör ortamına büyüme ortamından yapılan aşılama aynı çalkalamalı kaplarda olduğu gibi fermantasyon ortamının %20'ı şeklindedir.

Fermentör deneyleri süresince belli aralıklarda alınan numunelerde biyokütle büyümesi kontrol edilmiş aynı zamanda indirgen şeker ve etil alkol analizleri yapılmıştır.

5. AYÇİÇEĞİ KABUĞU HEMİSELÜLOZ HİDROLİZATININ *PICHIA STIPITIS* NRRL-Y-124 MAYASI İLE FERMANTASYON KİNETİĞİ

Bu çalışma *Pichia stipitis* NRRL-Y-124 mayası ile ayçiçeği kabuğu hemiselülozik hidrolizatından fermantasyonla etil alkol üretimine yönelik olup, bu arada fermantasyona ait kinetik modellerin geliştirilmesi de amaçlanmıştır. Fermantasyon kinetiği deneylerinin tümünde ayçiçeği hemiselüloz substratı kullanılmış olup, başlangıç substrat konsantrasyonunun, D-ksiloz ilavesiyle 25-55 g/L arasında olması sağlanmıştır. Deneyler pH kontrolü olmayan kesikli bir reaktörde, anaerobik ve aerobik şartlar altında gerçekleştirilmiştir. Reaksiyon kinetiğini tanımlamak amacıyla, biyokütle büyüme hızı r_x , substrat harcanma hızı r_s ve ürün oluşum hızı r_p 'yi ifade eden eşitlikler türetilmiştir.

Bu çalışmada kullanılan hücresel metabolizmaya ait kinetik modeller, fermantasyon sistemlerinin kinetiğinin tanımlanmasında faydalanılan yapısız modeller grubuna girmektedir (55). Bu yaklaşıma göre mikroorganizma sabit kimyasal bileşime sahip reaksiyon veren bir madde olarak kabul edilmektedir. Hücre yapısının bileşimindeki belli bölümlerindeki veya fonksiyonlarındaki değişimler ayrı ayrı göz önüne alınmamaktadır. Bu tür çalışmaların bir çoğunda olduğu gibi (43), (42) spesifik hücre büyümesinin substrat konsantrasyonu tarafından sınırlandırıldığı varsayımına dayanan Monod eşitliğinin iki farklı modifikasyonu kullanılmıştır.

Model 1

Bu modele göre hücre kuru ağırlığında gözlenen toplam değişiklik sadece büyüme prosesinden kaynaklanmaktadır. Hücresel aktivitenin sürdürülmesi için gereken endojenik respirasyon ve hücre ölümü ihmal edilmiştir. Substrat harcanma hızı ve etanol oluşumu, büyüme prosesi ile direk orantılıdır. Hücre büyüme prosesi, Monod eşitliği ile ifade edilmiştir. Substrat limitasyonu göz önüne alınırken, substrat inhibisyonu ihmal edilmiştir. Buna ilaveten etanol

inhibisyonu olmadığı varsayılarak biyokütle büyüme hızı r_x , substrat harcanma hızı r_s ve etanol oluşum hızı r_p 'yi ifade eden eşitlikler şu şekildedir.

$$r_x = (r_x)_{büyüme} \quad [5.1]$$

$$r_x = \frac{\mu_m C_s}{K_s + C_s} C_x \quad [5.2]$$

$$r_s = \frac{1}{Y_{x/s}} r_x \quad [5.3]$$

$$r_p = Y_{p/x} r_x \quad [5.4]$$

Burada C_x ve C_s sırasıyla mikroorganizma ve substrat konsantrasyonunu ifade etmektedir. μ , spesifik büyüme hızı (saat⁻¹), μ_m ve K_s ise Monod eşitliği sabitleri olan sırasıyla maksimum spesifik büyüme hızı ve doyumluk sabitleridir. Bu bağıntılardaki $Y_{x/s}$ substratın biyokütle verimini ve $Y_{p/s}$ ise substratın ürün verimini ifade etmektedir.

Bu eşitliklerin deneysel verilerin analizinde kullanılabilmesi için, substrat konsantrasyonu ile biyokütle kuru ağırlığı arasında

$$C_s = c_1 - \frac{C_x}{Y_{x/s}} \quad [5.5]$$

şeklinde lineer bir bağıntı elde edilmiştir. Bu eşitlikteki c_1 sabittir.

Model 2

Bu model için yapılan varsayımlar model 1 ile aynı olmakla birlikte, model 1'den farkı, Monod eşitliğine substrat inhibisyonu teriminin ihmal edilmeyip

eklenmesidir. Bu durumda substrat inhibisyon terimini içeren spesifik büyüme hızı μ , şu şekilde yazılabilir.

$$\mu = \frac{\mu_m C_S}{K_S + C_S + \frac{C_S^2}{K_I}} \quad [5.6]$$

$$r_X = \frac{\mu_m C_S C_X}{K_S + C_S + \frac{C_S^2}{K_I}} \quad [5.7]$$

$$r_s = \frac{1}{Y_{x/s}} r_x \quad [5.8]$$

$$r_p = Y_{p/x} r_x \quad [5.9]$$

Monod eşitliğindeki K_I terimi substrat inhibisyon sabitini ifade etmektedir.

Bu modelde de substrat konsantrasyonu ile biyokütle kuru ağırlığı arasında Model 1'deki gibi Eşitlik 5.5'te tanımlanan bağıntı kullanılmıştır.

6. DENEYSEL SONUÇLAR

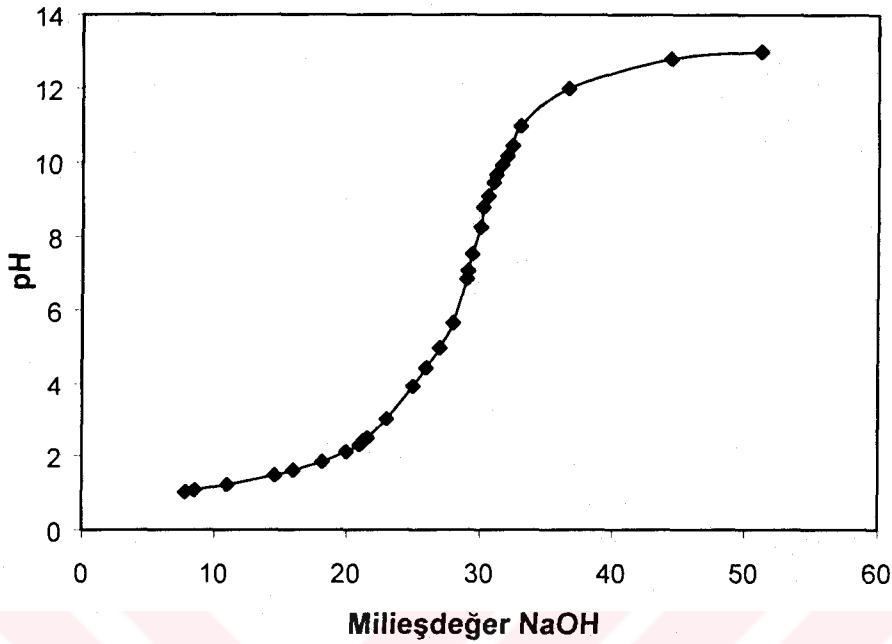
6.1 Ayçiçeği Kabuğu Hidrolizatından *Pichia stipitis* NRRL Y-124 Mayası Kullanılarak Fermantasyonla Çalkalamalı Kaplarda Etil Alkol Üretimi

Çalkalamalı kaplarda yapılan deneylerde öncelikle farklı zehir giderme işlemlerinin fermantasyona etkileri araştırılmıştır. Daha sonra *Pichia stipitis* NRRL Y-124 mayası hidrolizata adapte edilmiş ve son olarak başlangıç pH ve çalkalama hızı gibi parametrelerin etil alkol fermantasyonuna olan etkileri araştırılmıştır.

6.1.1 Ayçiçeği kabuğu hidrolizatına uygulanan ön işlemler ve mikroorganizma adaptasyonu

Ayçiçeği tohum kabuğu hemiselüloz hidrolizatına uygulanacak ön işlemlerde (CaO ile pH=10 ve pH=6'a aşırı titrasyon) kullanılacak CaO'in optimum miktarının titrasyon eğrisinden hesaplanabileceği literatürde öne sürülmüştü (35).

Bu amaçla hiç işlem görmemiş hidrolizat 2 N NaOH ile titre edilmiştir. Başlangıç pH değeri 0,643 olan asit hidrolizatının 2 N NaOH ile pH=2,5'e kadar titre edilerek yapısındaki toplam inorganik asit (esas olarak H₂SO₄) miktarı saptanmıştır. pH değerinin 2,5'dan 7 olana kadar artışı için eklenen NaOH miktarından da toplam organik asitler (esas olarak asetik asit) tespit edilmiştir. Buna göre ön işlemden geçmemiş hidrolizat 0,53 M H₂SO₄ ve 0,37 M asetik asit içermektedir. Bu titrasyona ait grafik Şekil 6.1'de gösterilmektedir. Ancak bu titrasyon grafiğinden hesaplanan CaO miktarının hidrolizatın pH'ını 10'a arttırmak için yeterli olmadığı, pH değerini 10'a ve 6'ya yükseltmek için daha fazla CaO gerektiği görülmüştür. Gerekli CaO miktarları deneme-yanılma ile saptanmıştır. CaO ilavesi 60°C sıcaklıkta gerçekleştirilmiştir.



Şekil 6.1 Ön işlem görmemiş ayçiçeği kabuğu hidrolizatının 2 N NaOH ile titrasyon eğrisi

Daha sonra hidrolizat örneklerine farklı ön işlemler (Bölüm 4.2.2) uygulanmıştır. Hiç işlem görmemiş ve farklı ön işlem görmüş ayçiçeği kabuğu hemiselüloz hidrolizatı numuneleri içindeki toplam furan (furfural ve hidroksimetil furfural) miktarları Martinez'in (33) çalışmasında geliştirdiği yöntem ile UV spektrofotometredeki ölçümlerden saptanmıştır (Çizelge 6.1).

Çizelge 6.1 Farklı zehir giderici ön işlemlerin toplam furanlara etkisi

Uygulanan ön işlem	A ₂₈₄	A ₃₂₀	Toplam furanlar (mg/L)
İşlem görmemiş hidrolizat	221,663	122,700	778,795
CaO ile aşırı titrasyon	146,104	87,600	460,220
CaO ile aşırı titrasyon+Aktif C	79,930	48,150	249,800
CaO ile aşırı titrasyon+Na ₂ SO ₃	110,75	58,743	409,063
Nötrleştirme	136,425	79,287	449,465

Fermantasyon öncesi farklı zehir giderici ön işlemlerin fermantasyon performansına etkisini belirlemek amacıyla deneyler çalkalamalı kaplarda yürütülmüştür ve bu deneylerde zamana karşı biyokütle, alkol ve indirgen şeker konsantrasyonları belirlenmiştir. Deneylerde hem seyreltik ayçiçeği kabuğu hidrolizatı hem de konsantre ayçiçeği kabuğu hidrolizatı kullanılmıştır (Ek-6,8). Ayrıca deneysel sonuçları kontrol edebilmek maksadıyla hidrolizat içindeki indirgen şekere yaklaşık eşit miktarda ksiloz konsantrasyonuna sahip sentetik D-ksiloz içeren ortamlarda da fermantasyon deneyleri yapılmıştır. Seyreltik ayçiçeği kabuğu hidrolizatı ve konsantre ayçiçeği kabuğu hidrolizatı ile yapılan deneylere ait konsantrasyon-zaman grafikleri sırasıyla Ek-7-9'da verilmektedir. Sonuçlar Çizelge 6.2'de verilmektedir. Deney 1-10 bu bölüme ait fermantasyon sonuçlarıdır.

Çalışmanın diğer bir bölümünde ise *Pichia stipitis* NRRL Y-124 mayası, daha etkin bir fermantasyon gerçekleştirebilmek amacıyla bölüm 4.3'te anlatıldığı gibi CaO ile aşırı titrasyon ön işlemi görmüş hidrolizata, önce eğik agar ortamında daha sonra ise büyüme ortamında kademeli olarak adapte edilmiştir. Adapte edilmiş mikroorganizma ile farklı ön işlemlerin fermantasyon performansına etkisi yine çalkalamalı kaplarda yapılan deneylerle incelenmiş ve zamana karşı biyokütle, alkol ve indirgen şeker konsantrasyonları belirlenmiştir (Ek 10-11). Deney 11, 12, 13 mikroorganizma adaptasyonu ile elde edilen sonuçlardır. Bu çizelgedeki E_{MAKS} fermantasyonlar sırasında ulaşılan maksimum etanol konsantrasyonunu, $Y_{P/S}$ ürün verimi (maksimum etanol / toplam harcanmış substrat) (g etanol / g substrat) ve Q_P (g/Lsaat) üretim hızını (maksimum etanol / zaman) ifade etmektedir.

Seyreltik ayçiçeği kabuğu hidrolizatına uygulanan ön işlemlerinin *Pichia stipitis* mayası ile fermantasyonuna etkisinin incelendiği bu bölümde ulaşılan maksimum alkol konsantrasyonu 5,70 g/L, en iyi verim $Y_{P/S}$ (0,30 gg⁻¹)dir.

Çizelge 6.2. Ayçiçeği kabuğu hemiselüloz hidrolizatına uygulanan ön işlemlerin ve mikroorganizma adaptasyonunun fermentasyon sonuçları

Deney No	Ön İşlem	Başlangıç D-Ksiloz veya indirgen şeker (g/L)	E _{MAKS} (g/L)	Y _{P/S} (g/g)	Q _p (g/Lsaat)
1	Kontrol	47,50	16,33	0,35	0,120
2	CaO ile aşırı titrasyon	42,32	7,59	0,38	0,054
3	CaO ile aşırı titrasyon + Na ₂ SO ₃	47,27	8,51	0,28	0,060
4	CaO ile aşırı titrasyon + Aktif C	43,47	7,70	0,26	0,046
5	Nötrleştirme	43,87	7,93	0,23	0,042
6	Kontrol	30,00	11,03	0,37	0,115
7	CaO ile aşırı titrasyon	29,00	5,47	0,26	0,045
8	CaO ile aşırı titrasyon + Na ₂ SO ₃	26,00	5,70	0,30	0,040
9	CaO ile aşırı titrasyon + Aktif C	24,00	5,06	0,23	0,023
10	Nötrleştirme	24,60	4,79	0,26	0,050
11	CaO ile aşırı titrasyon	44,30	9,51	0,32	0,057
12	CaO ile aşırı titrasyon + Na ₂ SO ₃	45,00	9,51	0,30	0,050
13	Nötrleştirme	45,70	6,70	0,26	0,035

Bu değerler CaO ile aşırı titrasyon + Na₂SO₃ ile işlem görmüş hidrolizat fermantasyonu ile elde edilirken, en iyi üretim hızı Q_P (0,045 g/Lsaat) CaO ile aşırı titrasyon işlemi görmüş hidrolizat fermantasyonu ile elde edilmiştir. Ayrıca CaO ile aşırı titrasyon işlemi görmüş hidrolizat fermantasyonu ile 5,47 g/L konsantrasyonunda alkol elde edilmiştir. Seyreltik ayçiçeği kabuğu hidrolizatı ile elde edilen maksimum alkol konsantrasyonu, kontrol deneyinin yaklaşık % 52'i kadardır.

Aynı şekilde daha konsantre indirgen şeker içeren hidrolizat fermantasyonu ile ulaşılan maksimum alkol konsantrasyonu 8,51 g/L, en iyi üretim hızı Q_P (0,060 g/Lsaat) CaO ile aşırı titrasyon + Na₂SO₃ ön işlemi görmüş hidrolizat ile elde edilmiştir. Bu şekilde elde edilen en yüksek alkol konsantrasyonu kontrol deneyinin yaklaşık %52'si kadardır. Mikroorganizma adaptasyonu ile elde edilen maksimum alkol konsantrasyonu 9,51 g/L, en iyi verim Y_{P/S} (0,32 gg⁻¹) ve üretim hızı Q_P (0,057 g/Lsaat) CaO ile aşırı titrasyon ön işlemi görmüş hidrolizatın fermantasyonu ile elde edilmiştir. Mikroorganizma adaptasyonu ile kontrol deneyinin %58'i kadar alkol elde edilmiştir. CaO ile aşırı titrasyon +. Na₂SO₃ ön işlemi görmüş hidrolizatın fermantasyonu ile de aynı alkol konsantrasyonuna ulaşılmıştır.

6.1.2 Ayçiçeği kabuğu hemiselüloz hidrolizatının *Pichia stipitis* ile fermantasyonuna pH ve çalkalama hızının etkisi

Ayçiçeği kabuğu hidrolizatına uygulanan ön işlemlerden en yüksek fermantasyon performansı CaO ile aşırı titrasyon+Na₂SO₃ ön işlemi görmüş hidrolizatın fermantasyonu ile elde edilmiştir. Bu bölümde hemiselüloz hidrolizatı bu ön işlemle muamele edildikten sonra başlangıç pH değeri 5,5-7 arasında ve çalkalama hızı 70-130 rpm aralığında değiştirilerek ayçiçeği kabuğunun *Pichia stipitis* ile fermantasyonu incelenmiştir. Deneyler süresince alınan numunelerde zamana karşı biyokütle, alkol ve indirgen şeker konsantrasyonları belirlenmiştir (Ek 12-13). Deneylere ait, maksimum etanol

konsantrasyonu, etanol üretim hızı ve etanol verimi değerleri her bir fermantasyon ortam koşulu için Çizelge 6.3'te gösterildiği gibidir.

Çizelge 6.3. Ayçiçeği kabuğu hemiselüloz hidrolizatının fermantasyonuna pH ve çalkalama hızının etkisi

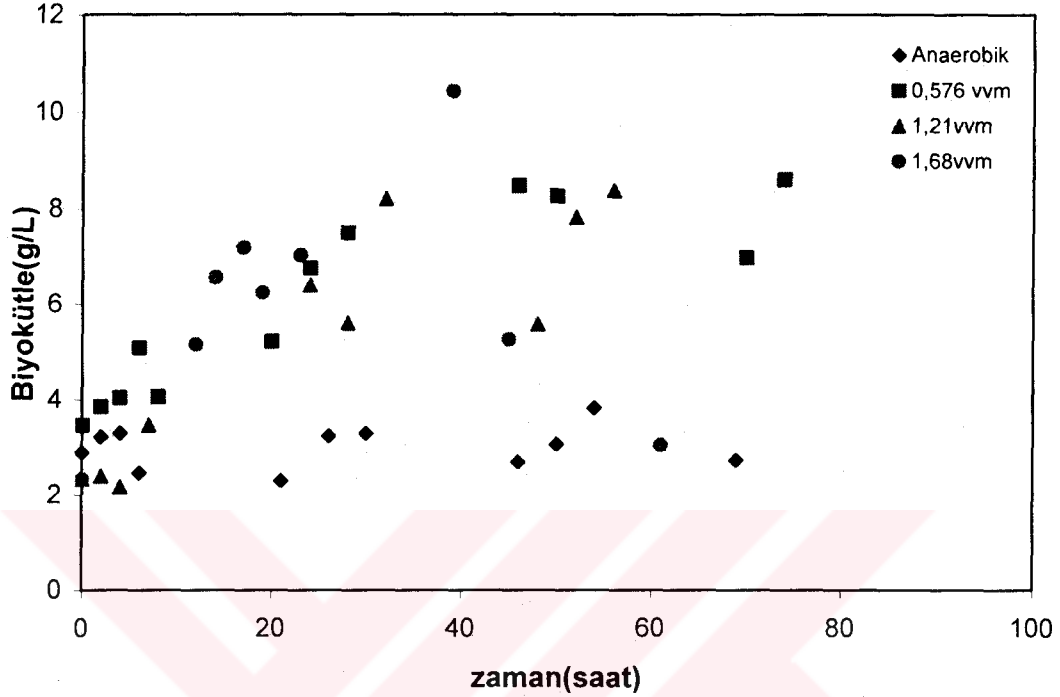
Başlangıç indirgen şeker(g/L)	Başlangıç pH	Çalkalama Hızı (rpm)	E _{MAKS} (g/L)	Y _{P/S} (g/g)	Q _p (g/Lsaat)
48	5,5	100	9,66	0,238	0,0671
48	6,0	100	11,04	0,320	0,0650
48	6,5	100	9,43	0,232	0,0484
48	7,0	100	10,81	0,330	0,0750
47,27	6,0	70	8,51	0,280	0,0600
48	6,0	130	8,97	0,255	0,0747

6.2 Ayçiçeği Kabuğu Hidrolizatından *Pichia stipitis* NRRL Y-124 Mayası Kullanılarak Fermentör Sisteminde Etil Alkol Üretimi

Ayçiçeği kabuğu hemiselüloz hidrolizatının *Pichia stipitis* mayası ile fermantasyon kinetiğini araştırmaya yönelik olarak yapılan fermantasyon çalışmaları, pH kontrolü olmayan kesikli bir bioreaktörde gerçekleştirilmiştir. Fermentör deneylerinde CaO ile pH=10'a aşırı titrasyon + Na₂SO₃ ile işlem görmüş hemiselüloz hidrolizatı kullanılmıştır. Öncelikle substrat konsantrasyonunun 35 g/L olduğu durumda anaerobik ortamda ve farklı hava akış hızlarında çalışmalar yürütülerek biyokütle büyümesi takip edilmiştir (Şekil 6.2).

Şekil 6.2'de görüldüğü gibi farklı hava akış hızlarında büyüme hızının pek fazla değişmediği yani büyüme hızının oksijen limitasyonundan uzak olduğu, ancak ayçiçeği kabuğu hidrolizatının *Pichia stipitis* mayası ile fermantasyonu için çok az da olsa oksijene ihtiyaç duyulduğu, anaerobik ortamda

mikroorganizmanın büyümediği sonucuna varılmıştır. Daha sonraki çalışmalarda sisteme 0,576 vvm oksijen akış hızında hava gönderilmiştir.

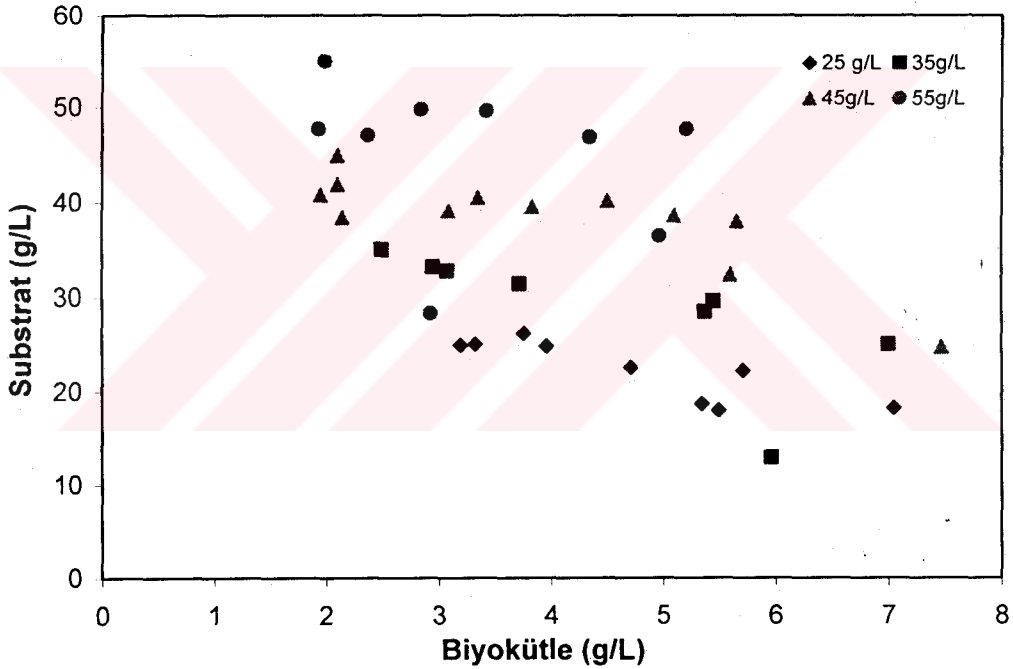


Şekil 6.2 Farklı hava akış hızlarındaki büyüme eğrileri

Fermantasyon kinetiğini incelemeye yönelik olarak yapılan fermentör çalışmalarında substrat konsantrasyonu 25-55 g/L aralığında değiştirilmiş olup bu konsantrasyonları sağlayabilmek amacı ile hemiselüloz hidrolizatına gerekli miktarda sentetik D-ksiloz ilavesi yapılmıştır. Her bir substrat konsantrasyonu için yapılan deneylerde belirli zamanlarda alınan numunelerin zamana karşı biyokütle, alkol ve indirgen şeker konsantrasyonları belirlenmiştir (Ek-14,15).

Fermantasyon kinetiğini incelemek için 2 farklı model geliştirilmiştir (bölüm 5). Bu modellere ait diferansiyel denklemler analitik olarak çözülmüş ve lineer ve lineer olmayan regresyon analizleri SPSS 10.0 istatistiksel paket programında yapılmış ve model parametreleri hesaplanmıştır. Kinetik model için öncelikle substrat konsantrasyonu ile biyokütle konsantrasyonu arasında lineer bir ifade elde edilmeye çalışılmıştır, biyokütlenin zamanla değişimi

grafiğinde lag fazı gözlenmemiştir, ancak Şekil 6.3'te görüldüğü gibi 25-55g/L aralığındaki konsantrasyonlara sahip substrat ile biyokütle arasında tek bir lineer eşitlik elde etmek mümkün değildir. Bu nedenle lineer bağıntılar her bir substrat konsantrasyonu için ayrı ayrı bulunmuştur. Bu eşitlikler tanımlanan modellerin çözümlenmesinde kullanılmıştır. Farklı substrat konsantrasyonları için elde edilen lineer bağıntıların model çözümlerinde kullanılması ile elde edilecek model sabitlerinin birbirine yakın olması beklenmektedir. Ayrıca her substrat konsantrasyonunda, durağan faza ait lineerlikten sapan noktalar eşitlik türetilmesinde göz önüne alınmamıştır. Lineer regresyon istatistikleri Ek 16'te verilmiştir.



Şekil 6.3 Biyokütle ve substrat konsantrasyonu arasındaki ilişki

Buna göre substrat ile biyokütle arasında

$$r_s = \frac{1}{Y_{X/S}} r_x$$

[6.1]

$$-\frac{dC_S}{dt} = \frac{1}{Y_{X/S}} \frac{dC_X}{dt} \quad [6.2]$$

$$dC_S = -\frac{1}{Y_{X/S}} dC_X \quad [6.3]$$

$$C_S = c_1 - \frac{C_X}{Y_{X/S}} \quad [6.4]$$

şeklinde lineer bir eşitlik elde edilmiştir. Bu ifadedeki c_1 sabittir. Her bir substrat için elde edilen lineer eşitlik ifadeleri ve eşitlik sabitleri olan c_1 ve $Y_{X/S}$ 'de Çizelge 6.4'te gösterilmektedir.

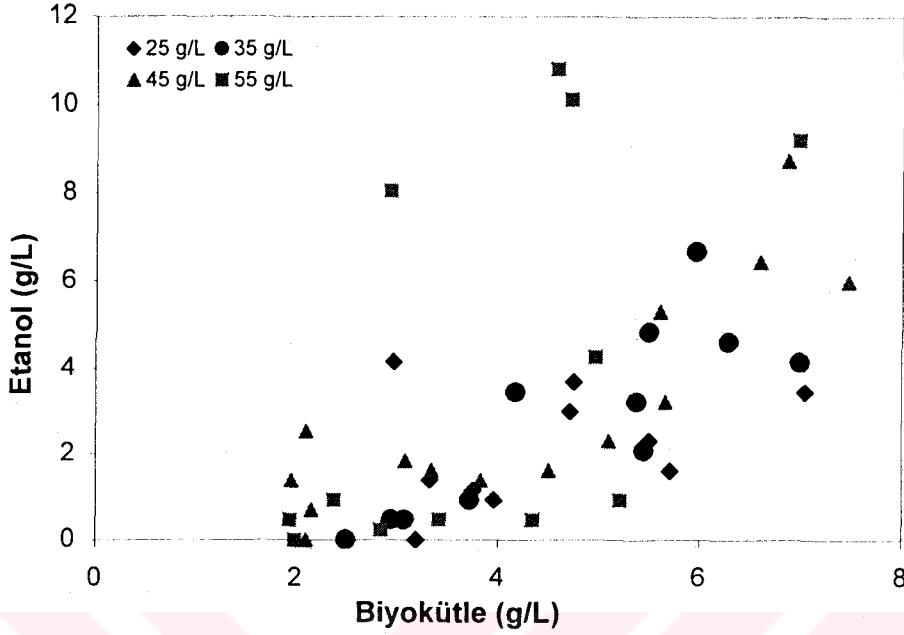
Çizelge 6.4 Substrat ile biyokütle konsantrasyonları arasındaki lineer bağıntılar

İndirgen şeker kons (g/L)	Lineer Regrasyon	c_1	$Y_{X/S}$ (g/g)	R^2
25	$C_S = 31,542 - 1,832 C_X$; $C_X \geq 3,20$	31,542	0,546	0,883
35	$C_S = 39,57 - 2,041 C_X$; $C_X \geq 3,47$	39,570	0,49	0,940
45	$C_S = 51,52 - 3,55 C_X$; $C_X \geq 2,10$	51,520	0,28	0,963
55	$C_S = 69,26 - 6,5 C_X$; $C_X \geq 2,00$	69,260	0,15	0,880

Aynı şekilde etanol konsantrasyonu ile biyokütle konsantrasyonu arasında lineer bir bağıntı elde edilmiştir (Şekil 6.4).

$$r_p = \frac{Y_{P/S}}{Y_{X/S}} r_X \quad [6.5]$$

$$\frac{dC_P}{dt} = \frac{Y_{P/S}}{Y_{X/S}} \frac{dC_X}{dt} \quad [6.6]$$



Şekil 6.4 Biyokütle ve etanol konsantrasyonları arasındaki ilişki

$$dC_p = \frac{Y_{p/s}}{Y_{x/s}} dC_x \quad [6.7]$$

$$C_p = \frac{Y_{p/s}}{Y_{x/s}} C_x - c_2 \quad [6.8]$$

Eşitlik 6.8'deki c_2 sabittir. Bu bağıntılar ve eşitlik sabitleri olan c_2 ve $Y_{p/s}$ Çizelge 6.5'te gösterilmektedir. Lineer regresyon istatistik sonuçları Ek 17'te verilmiştir. Çizelge 6.4 ve 6.5'te lineer regresyon eşitliklerindeki başlangıç biyokütle konsantrasyonları her bir substrat konsantrasyonu için farklı olup 2,0-3,47 g/L arasındadır.

Çizelge 6.5 Etanol ile biyokütle konsantrasyonları arasındaki lineer bağıntılar

İndirgen şeker kons (g/L)	Lineer Regresyon	c_2	$Y_{p/s}$ (g/g)	R^2
25	$C_p = 0,834 C_x - 2,582$; $C_x \geq 3,20$	2,582	0,470	0,930
35	$C_p = 1,044 C_x - 2,630$; $C_x \geq 3,47$	2,630	0,512	0,815
45	$C_p = 1,170 C_x - 2,570$; $C_x \geq 2,10$	2,570	0,330	0,843
55	$C_p = 1,752 C_x - 3,916$; $C_x \geq 2,00$	3,916	0,270	0,913

6.2.1 Model 1 için model sabitlerinin hesaplanması

Hücre büyümesinin substrat limitasyonlu (Bölüm 5) olduğu göz önüne alınarak hücre büyüme hızı, Monod eşitliğine bağlı olarak yazılabilmektedir.

$$\frac{dC_X}{dt} = \mu C_X \quad [6.9]$$

$$\frac{dC_X}{dt} = \frac{\mu_m C_S}{K_S + C_S} C_X \quad [6.10]$$

Eşitlik 6.10 'da C_S terimi yerine C_X cinsinden ifadesi (Eşitlik 6.4) konarak ifadenin integrali alınır ve elde edilen ifade düzenlenirse:

$$\frac{K_S}{c_1 \mu_m} \ln \left(\frac{C_X}{c_1 - \frac{C_X}{Y_{X/S}}} \right) + \frac{1}{\mu_m} \ln C_X = t \quad [6.11]$$

ifadesi elde edilir.

Eşitlik 6.11'deki $K_S / c_1 \mu_m$ ve $1/\mu_m$ için başlangıç değerleri sıfır kabul edilerek lineer olmayan regresyon yapılmış ve her bir farklı substrat konsantrasyonu için bu sabitler hesaplanmıştır (Çizelge 6.6). Model1'e ait lineer olmayan regresyon istatistik sonuçları Ek 18'da verilmiştir.

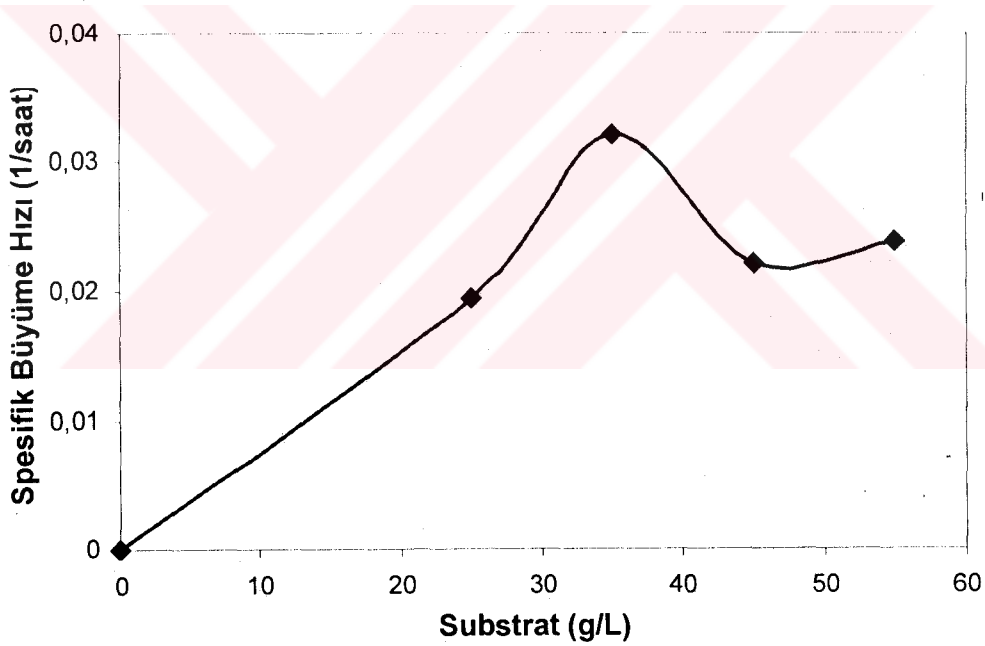
Çizelge 6.6 Eşitlik 6.11 (Model 1) için lineer olmayan regresyon sonuçları

İndirgen şeker kons(g/L)	$K_S / c_1 \mu_m$	$1/\mu_m$	R^2
25	17,66	33,030	0,880
35	8,07	20,753	0,94
45	11,86	47,763	0,96
55	14,36	55,56	0,88

Model için kullanılacak substrat ve etanol konsantrasyon verileri eşitlik 6.4 ve 6.8 'den hesaplanmıştır. Bu modele ait konsantrasyon-zaman grafikleri Şekil 7.1-7.8'de verilmiştir.

6.2.2 Model 2 için model sabitlerinin hesaplanması

Farklı substrat konsantrasyonları için eksponensiyel fazdan hesaplanan spesifik büyüme hızı, μ değerlerinin grafiğe geçirilmesiyle Şekil 6.5 elde edilmiştir. Bu şekile göre hücre büyümesi substrat inhibisyonlu olup, hücre büyüme hızı, Monod eşitliğine bağlı olarak yazılabilmektedir.



Şekil 6.5 Spesifik büyüme hızı ile substrat konsantrasyonu arasındaki ilişki

$$\frac{dC_X}{dt} = \mu C_X \quad [6.12]$$

$$\frac{dC_X}{dt} = \frac{\mu_m C_S}{K_S + C_S + \frac{C_S^2}{K_I}} C_X \quad [6.13]$$

Eşitlik 6.13 'de C_S terimi yerine C_X cinsinden ifadesi (Eşitlik 6.4) konarak ifadenin integrali alınır ve elde edilen ifade düzenlenirse

$$\frac{K_S}{c_1 \mu_m} \ln \left(\frac{C_X}{c_1 - \frac{C_X}{Y_{X/S}}} \right) + \left[\frac{1}{\mu_m} + \frac{c_1}{\mu_m K_I} \right] \ln C_X - \frac{1}{\mu_m K_I Y_{X/S}} C_X = t \quad [6.14]$$

Eşitlik 6.14'teki $K_S/c_1 \mu_m$, $1/\mu_m(1+c_1/K_I)$ ve $1/\mu_m K_I Y_{X/S}$ lineer olmayan regresyon sonucu her bir farklı substrat konsantrasyonu için hesaplanan değerleri Çizelge 6.7'dedir. Model 2'e ait lineer olmayan regresyon istatistik sonuçları Ek 19'da verilmiştir.

Çizelge 6.7 Eşitlik 6.14 (Model 2) için lineer olmayan regresyon sonuçları

İndirgen şeker kons(g/L)	$K_S/c_1 \mu_m$	$1/\mu_m(1+c_1/K_I)$	$1/\mu_m K_I Y_{X/S}$	R^2
25	15,720	22,14	2,82	0,884
35	5,772	1,67	5,11	0,945
45	10,335	29,75	4,92	0,966
55	8,730	-127,50	58,6	0,999

Model için kullanılacak substrat ve etanol konsantrasyon verileri eşitlik 6.4 ve 6.8 'dan hesaplanmıştır. Bu modele ait konsantrasyon-zaman grafikleri Şekil 7.1-7.8'de verilmiştir.

Ayrıca her iki kinetik model için deneysel verilerin %'de bağıl hataları Ek-20'de verilmiştir. Model sonuçları, biyokütle ve substrat için uyumlu kabul edilirken, alkol konsantrasyonları için bağıl hata yüzdeleri artmıştır. Bu durumun ortaya çıkmasında deneysel hataların etkili olduğu düşünülmektedir.

7. DENEY SONUÇLARININ TARTIŞILMASI

7.1 Ayçiçeği Kabuğu Hemiselüloz Hidrolizatının *Pichia stipitis* Mayası İle Fermantasyonuna Ön İşlemlerin Etkisi

Ayçiçeği kabuğu hemiselüloz hidrolizatına ön işlemlerin etkisini belirlemeye yönelik olarak yapılan bu çalışmada, öncelikle ön işlem görmemiş ve ön işlem görmüş hidrolizat numuneleri 284 ve 320 nm dalga boyunda absorbansları ölçülmüş ve hidrolizat içeriğindeki toplam furan miktarı hesaplanmıştır. Buna göre CaO ile aşırı titrasyon+Aktif karbon ön işlemi ile, hiç ön işlem görmemiş hidrolizat içeriğindeki toplam furanların %68'nin giderildiği görülmüştür. Diğer üç yöntem için bu değer %41 ile %47 arasındadır. Diğer taraftan farklı ön işlem görmüş ayçiçeği kabuğu hidrolizatının *Pichia stipitis* NRRL Y-124 mayası ile fermantasyonunda maksimum alkol (8,51 g/L) üretimi CaO ile aşırı titrasyon+Na₂SO₃ ile işlem görmüş hidrolizat ile elde edilmiştir. Bu durum hidrolizat içinde furfural dışında da etkin inhibitörlerin bulunduğunu gösterir. Literatürde ön işlem etkisini araştıran çalışmaların sonuçları, en etkili yöntem açısından farklılık göstermektedir. Bazı çalışmalarda (32, 33, 35) Ca(OH)₂ ile aşırı titrasyonun en etkili yöntemlerden biri olduğu belirtilirken, bazı araştırmacılar (1, 19, 24, 42), Ca(OH)₂ ile aşırı titrasyon+ Na₂SO₃ ön işleminin zehirleri daha iyi giderdiğini saptamışlardır. Bu durum farklı kaynaktan gelen hidrolizatlar içindeki zehirlerin farklı olabileceği ve farklı ön işlem yöntemlerinin zehir giderici etkilerinin değişik olmasıyla açıklanabilir. Örneğin CaO ile aşırı titrasyonun asetik asit, tannik asit gibi asetik komponentleri kısmen uzaklaştırdığı, ağır metallerin çökmesini sağladığı ve furfuralın furfuril aside dönüşümünü gerçekleştirdiği öne sürülmüştür. Diğer yandan sülfitlemenin, hidrolizatın redoks potansiyeline uyumu kolaylaştırdığı öne sürülmüştür. Aktif karbon ile adsorpsiyon ise asetik asit ve fenol bileşiklerinin uzaklaştırılmasına yönelik sonuçlar doğurduğu önerilmiştir (57). Bu çalışmada da en yüksek alkol üretimi Ca(OH)₂ ile aşırı titrasyon+ Na₂SO₃ ön işlem uygulanmış hidrolizat ile 8,51 g/L olarak elde edilmiştir. Bu hidrolizat ile elde edilen alkol

üretim hızı Q_p 0,06 g/Lsaat olarak bulunmuştur, ayrıca verim $Y_{P/S}$ 0,28 g/g olarak elde edilmiştir. Bu şekilde ön işlem görmüş hidrolizat fermantasyonunun sonuçlarının, kontrol deneyinin %52'sine eşit olduğu görülmektedir. Bunun nedeni, ön işlem görmüş olmasına rağmen hidrolizat içinde kalabilecek zehirlerin mikroorganizma metabolizmasını etkilemesinden ve fermantasyon hızını yavaşlatmasından kaynaklanabilir. Ayrıca her bir farklı ön işlem görmüş hidrolizat ile elde edilen etanol verimi ($Y_{P/S}$) değerleri birbirinden farklı çıkmakla birlikte en yüksek etanol verimi $Ca(OH)_2$ ile aşırı titrasyon ön işlemi görmüş hidrolizat ile (0,38 g/g) elde edilmiştir. Ancak bu yüksek verime rağmen bu yöntemle elde edilen etil alkol konsantrasyonu (7,59 g/L) kontrol deneyiyle elde edilenin sadece % 50'si kadardır. Ayrıca kontrol amaçlı yapılan sentetik ksiloz fermantasyonu deneylerinde substratın hemen hemen tamamı harcanırken hidrolizat fermantasyonu deneylerinde substrat olarak ksilozun bir kısmı tüketilemeden kalmıştır. Seyreltik ayçiçeği kabuğu hidrolizatı ile yapılan deneylerde de yine CaO ile aşırı işlem + sodyum sülfitle işlem görmüş hidrolizat ile fermantasyon performansı en iyi çıkmıştır. Ancak diğer yöntemlerin sonuçları da çok farklı değildir.

7.2 Mikroorganizma Adaptasyonu İle Ayçiçeği Kabuğu Hemiselüloz Hidrolizatının Fermantasyonu

Mikroorganizma hidrolizata bölüm 4'de anlatıldığı gibi kademeli olarak önce eğik agar ortamında sonrada büyüme ortamında adapte edilmiştir. Mikroorganizma CaO ile aşırı işlem görmüş hidrolizata adapte edilerek fermantasyonu CaO ile aşırı titrasyon, CaO ile aşırı titrasyon + Na_2SO_3 ve CaO ile pH=6'a titrasyon işlemi görmüş hidrolizat ile yapılmıştır. Literatürdeki bazı çalışmalarda mikroorganizmanın hidrolizata adapte edilerek fermantasyonunun, hem etanol konsantrasyonunu arttırdığı hem de etanol üretim hızını arttırdığı belirtilmiştir (31,34,36,40). Bu çalışmada CaO ile aşırı titrasyon işlemi ve CaO ile aşırı titrasyon + Na_2SO_3 işlemi görmüş hidrolizatların adaptasyon yapılmış mikroorganizma ile fermantasyonunda, adaptasyon yapılmamış mikroorganizmaya göre alkol miktarlarında küçük bir

artışın olduğu görülmüştür. Örneğin CaO ile aşırı titrasyon işlemi görmüş hidrolizat için adaptasyon yapılmamış mikroorganizma ile fermentasyon için erişilen alkol konsantrasyonu 7,59 g/L iken mikroorganizma adaptasyonu ile bu konsantrasyon 9,51 g/L'e çıkmıştır. Bu fermentasyonda elde edilen etanol üretim hızı Q_p 0,057 g/L.saat olarak elde edilmiş olup etanol verimi $Y_{P/S}$ 0,32 olarak elde edilmiştir.

Sonuç olarak mikroorganizma adaptasyonu yapılan fermentasyonlarda beklenen verim ve üretim hızı artışına ulaşamamıştır. Bu nedenle çalışmanın bir sonraki bölümünde pH ve karıştırma hızının fermentasyon üzerindeki etkileri incelenmiştir.

7.3 Ayçiçeği Kabuğu Hemiselüloz Hidrolizatının *Pichia stipitis* İle Fermentasyonuna pH ve Çalkalama Hızının Etkisi

Ayçiçeği kabuğu hidrolizatının *Pichia stipitis* mayası ile fermentasyonuna başlangıç pH'ı ve çalkalama hızının etkileri, CaO ile aşırı titrasyon+ sodyum sülfid ön işlemi görmüş hidrolizat kullanılarak araştırılmıştır. Hidrolizat içinde hemiselülozdan gelen asetik asit, terpenen, tanin gibi bileşikler bulunur. Asetik asitin inhibitör etkisi pH'a bağlıdır. Asetik asitin iyonlaşmamış formu hücre zarından geçerek hücre içinde ayrışır ve pH'ı düşürür. Literatürde pH'ı en az 5,5-6'ya arttırarak lignoselülozik hidrolizatın fermentasyonunun gerçekleştirilebileceği belirtilmiştir (1). Bu çalışmada pH 5,5-7 aralığında değiştirilerek, ayçiçeği tohum kabuğu hidrolizatının fermentasyonuna etkisi incelenmiştir. pH=6 iken alkol konsantrasyonu 11,04 g/L ve etanol verimi 0,32 g/g olarak elde edilirken, başlangıç pH'ı 5,5 olan fermentasyonda alkol konsantrasyonunun 9,66 g/L'ye ve alkol veriminin 0,238 g/g değerine düştüğü görülmektedir. Ayrıca pH=6,5'a arttırıldığında alkol konsantrasyonu 9,43 g/L ve etanol verimi 0,232 g/g'a düşerken, pH=7'e arttırıldığında ise 10,81 g/L konsantrasyonunda alkol ve 0,33 g/g etanol verimine ulaşılmıştır. Sonuç olarak bu sonuçlara göre pH etkisi açısından belirli bir eğilim saptamak güçtür.

Çalkalama hızı fermantasyon için ortamdaki çözünmüş oksijen nedeniyle önemlidir. D-ksilozu fermente eden mikroorganizmalar küçük miktarlarda da olsa çözünmüş oksijene gereksinim gösterirler (1). Deney sonuçlarından görüleceği gibi başlangıç pH değerinden daha çok çalkalama hızı sonuçları etkilemektedir. Bu çalışmada fermantasyon için optimum seviyede bir çalkalama hızı belirlemek amacıyla 70-130 rpm hız aralığında deneyler yapılmıştır. 100 rpm çalkalama hızında en yüksek alkol konsantrasyonu olarak 11,04 g/L'ye ve 0,32 g/g etanol verimine ulaşılmıştır. Ayrıca, literatürde (58, 59, 60, 61) oksijen miktarının özellikle hidrolizat kaynaklı inhibitörlerin bulunduğu ortamda mayaların ksiloz metabolizmasını büyük oranda etkilediği belirtilmiştir. Bazı araştırmacılar (57), havalandırma seviyesindeki artışın, inhibitör etkisini hafiflettiğini söylemişlerdir.

Ayçiçeği kabukları substrat kaynağı olarak alkol üretiminde kullanımı oldukça yeni olan bir hammaddedir, bu nedenle literatürle birebir bir karşılaştırma yapmak oldukça zordur. Bu çalışmanın farklı safhalarında elde edilen maksimum alkol konsantrasyonu, en iyi verim ve alkol üretim hızı gibi fermantasyon parametreleri Çizelge 7.1'de literatürle karşılaştırılmıştır. Bu çalışmanın sonuçları alkol konsantrasyonu ve verim değerleri açısından daha önce yapılan benzer çalışmalarda elde edilen değerlerin aralığında kalmaktadır. Diğer yandan bu çalışmadaki üretim hızı değerlerinin, önceki çalışmaların gerisinde kaldığı görülmektedir. Bu durum ayçiçeği kabuğu yapısından gelebilecek ve CaO ile aşırı titrasyon yönteminin uzaklaştırmada yetersiz kaldığı zehirlerden kaynaklanabilir.

Çizelge 7.1 Ayçiçeği kabuğu hidrolizatının *Pichia stipitis* mayası ile fermantasyonunun literatürle karşılaştırılması

Ref.	Lignoselülozik Hidrolizat	Kullanılan maya	Ön işlem	Substrat kons(g/L)	Fermantasyon ortam koşulları	Maksimum Etanol (g/L)	Q _P (g/Lsaat)	Y _{P/S} (g/g)
31	Mısır koçanı hidrolizatı	<i>Pichia stipitis</i> CBS 6054 (adaptasyon yapılmış)	Ca(OH) ₂ ile aşırı titrasyon	43,5	pH=5, 30 °C	13,3	0,32	0,31
32	Mısır koçanı hidrolizatı	<i>Pichia stipitis</i> NRRL Y-7124	Ca(OH) ₂ ile aşırı titrasyon	35,9	150mL, pH=6, 30°C, 80rpm (çalkalamalı kap)	10,4	0,11	0,34
34	Sert ağaç hidrolizatı	<i>Pichia stipitis</i> NRRL Y-7124	CaO ile pH=5'e nötralizasyon	39,4	30°C, 50mL, 150rpm, pH=6	9,8	0,1	0,25
34	Sert ağaç hidrolizatı	<i>Pichia stipitis</i> NRRL Y-7124 (adaptasyon yapılmış)	CaO ile pH=5'e nötralizasyon	39,4	30°C, 150rpm, pH=6	14,5	0,21	0,4
38	Şeker kamışı hidrolizatı	<i>Pichia stipitis</i> CBS 7126	Ca(OH) ₂ ile aşırı titrasyon	49,7	150 mL, pH=6,5, 30°C, 300 rpm (çalkalamalı kap)	12,2	0,2	0,25
39	Odun hidrolizatı	<i>Pichia stipitis</i> FPL-Y606	Elektrodializ	43	pH=7,3 27°C	15,7	0,26	0,37
40	Buğday sapı hidrolizatı	<i>Pichia stipitis</i> NRRL Y-7124	Ca(OH) ₂ ile aşırı titrasyon	60	pH=6,5 28°C	12,9	0,3	0,36

Çizelge 7.1'in devamı

Ref.	Lignoselülozik Hidrolizat	Kullanılan maya	Ön işlem	Substrat kons(g/L)	Fermantasyon ortam koşulları	Maksimum Etanol (g/L)	Q _P (g/Lsaat)	Y _{P/S} (g/g)
40	Buğday sapı hidrolizati	<i>Pichia stipitis</i> NRRL Y-7124 (adaptasyon yapılmış)	Ca(OH) ₂ ile aşırı titrasyon	60	pH=6,5 28°C	19,10	0,54	0,41
Bu çalışmada	Ayçiçeği kabuğu hidrolizati	<i>Pichia stipitis</i> NRRL Y-124	CaO ile aşırı titrasyon+sodyum sülfid	47,27	30°C, 135mL, 70rpm, pH=6	8,51	0,06	0,28
Bu çalışmada	Ayçiçeği kabuğu hidrolizati	<i>Pichia stipitis</i> NRRL Y-124	CaO ile aşırı titrasyon+sodyum sülfid	26	30°C, 135mL, 70rpm, pH=6	5,7	0,040	0,3
Bu çalışmada	Ayçiçeği kabuğu hidrolizati	<i>Pichia stipitis</i> NRRL Y-124 (adaptasyon yapılmış)	CaO ile aşırı titrasyon+sodyum sülfid	45	30°C, 135mL, 70rpm, pH=6	9,51	0,050	0,3
Bu çalışmada	Ayçiçeği kabuğu hidrolizati	<i>Pichia stipitis</i> NRRL Y-124	CaO ile aşırı titrasyon+sodyum sülfid	48	30°C, 135mL, 100rpm, pH=6	11,04	0,065	0,32

7.4 Ayçiçeği Kabuğu Hidrolizatından *Pichia stipitis* NRRL Y-124 Mayası Kullanılarak Fermentör Sisteminde Etil Alkol Eldesi

Ayçiçeği kabuğu hidrolizatının fermentasyon kinetiğini tanımlamak için yapılan çalışmaların ilk kısmında, anaerobik ortamda ve farklı hava akış hızlarında biyokütle büyümeleri takip edilmiştir (Şekil 6.2). Anaerobik ortamda mikroorganizma büyümesi gözlenememiştir. Diğer yandan, farklı hava akış hızlarında biyokütle büyüme eğrilerinin birbirlerine yakın olduğu saptanmıştır. Bu gözlemden çıkarak biyokütle büyüme hızının oksijen limitasyonundan uzak olduğuna karar verilerek, hücre büyümesinin şeker kaynaklı substrat limitasyonlu olduğuna karar verilmiştir. Bütün fermentör deneyleri, 0,5776 vvm hava akış hızında, substrat konsantrasyonu 25-55 g/L aralığında değiştirilerek gerçekleştirilmiştir.

Fermentasyon kinetiğini tanımlamak üzere iki farklı kinetik model geliştirilmiştir (bölüm 5). Her iki modelde de hücre büyüme prosesi Monod eşitliği ile ifade edilerek kinetik model sabitleri bölüm 6.2.1'de anlatıldığı gibi hesaplanmıştır. Çalışılan koşullarda substrat ile biyokütle konsantrasyonu arasında tek bir lineer eşitlik elde edilmediğinden her bir farklı başlangıç substrat değeri için, substrat ve biyokütle konsantrasyonu arasında ayrı bir lineer eşitlik elde edilmiştir. Her bir lineer regresyon için istatistik analizi sonuçları Ek 16' gösterilmiştir. Her bir farklı substrat konsantrasyonu için elde edilen lineer eşitliklere ait R^2 değerlerinin bire oldukça yakın çıktığı görülmüştür. Aynı zamanda model eşitliklerinin ve katsayıların istatistiksel önemini ifade eden ANOVA analizi sonuçlarına göre RSS (artık kareler toplamı) değerlerinin sıfıra yaklaştığı, dolayısıyla regresyon denkleminin hata payının oldukça düşük olduğu görülmüştür. Bunların yanında ANOVA analizi sonuçlarını veren tablodaki F değerlerine de bakarak substrat ve biyokütle konsantrasyonu arasında varsayılan lineer ilişkinin eksponensiyel faz için geçerli ($p < 0,01$) olduğunu söyleyebiliriz.

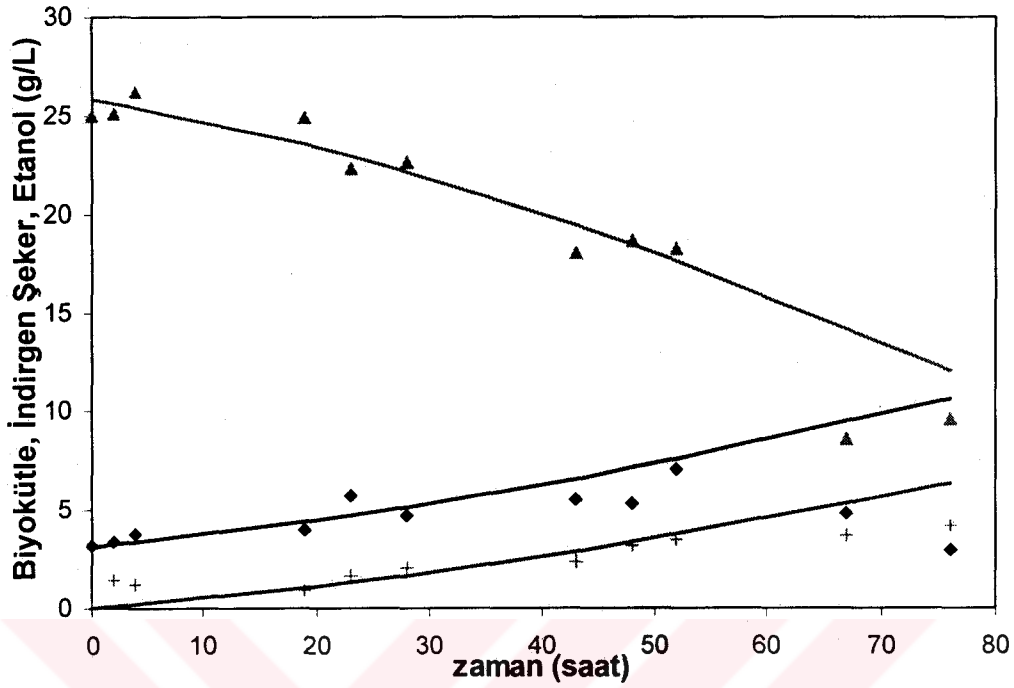
Benzer şekilde alkol ve biyokütle konsantrasyonu arasında elde edilen lineer eşitlikler içinde aynı analizler yapılmıştır.

Ayçiçeği kabuğu hemiselüloz hidrolizatının fermantasyon kinetiğini tanımlamak için yapılan analiz çalışmalarında, kinetik parametreler her bir substrat konsantrasyonu için ayrı ayrı hesaplanmıştır.

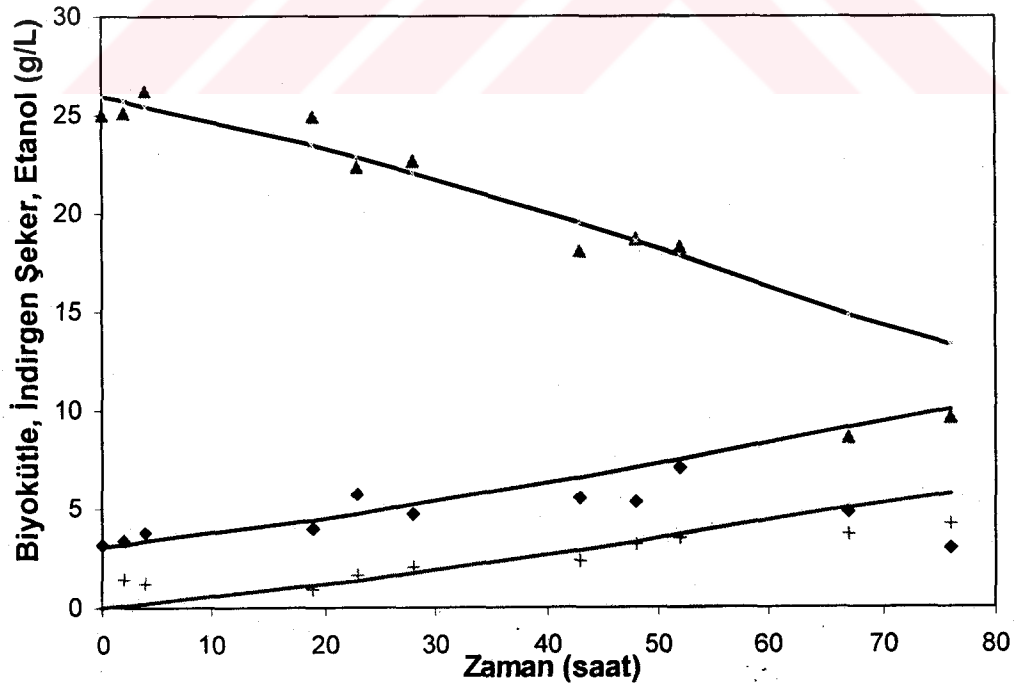
Kinetik parametreleri hesaplamak için yapılan lineer olmayan regresyon sonuçlarına göre her iki kinetik modele ait R^2 değerlerinin bire oldukça yakın olduğu dolayısıyla deneysel veriler ile kinetik modelin uyum içinde olduğu görülmüştür. Model 1 için lineer olmayan regresyon istatistik analiz sonuçlarına göre (Ek-18) RSS (artık kareler toplamı) değerlerinin regresyon kareler toplamına oranla düşük çıktığı dolayısıyla lineer olmayan regresyonun hata payının düşük olduğu düşünülmektedir.

Substrat inhibizasyonunun ihmal edilmediği ikinci modelde ise lineer olmayan regresyon istatistiklerine bakıldığında R^2 değerlerinin bire oldukça yakın olduğu, bunun yanında RSS (artık kareler toplamı) değerlerinin regresyon kareler toplamına oranla düşük çıktığı dolayısıyla lineer olmayan regresyonun hata payının düşük olduğu görülmüştür. Her iki modele ait lineer olmayan regresyon istatistik sonuçlarına göre (regresyon kareler ortalaması / artık(residual) kareler ortalaması) oranına göre lineer olmayan regresyon modelinin geçerli olduğu düşünülmektedir. Dolayısıyla iki model arasında bariz bir fark gözlenmemiştir. Her iki model için deneysel ve model sonuçları Şekil 7.1-7.8'de gösterilmiştir. Kinetik model ile deneysel verilerin uygunluğu çizilen konsantrasyon zaman grafiklerinde görülmektedir. Bu grafiklerden ekspanensiyel faz sonrası durağan faza ait noktalarda gösterilmiştir.

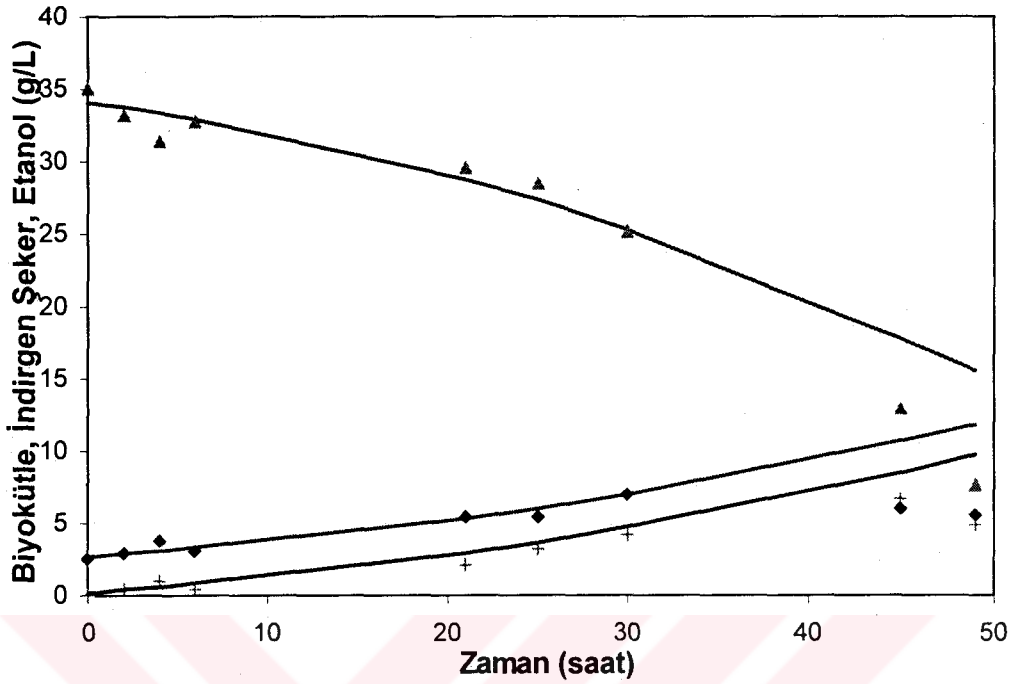
Ayrıca model oluşturmada kullanılan deneysel noktalar ve model sonuçları arasındaki % bağıl hata değerleri Ek 20'de verilmiştir. Her iki model için lineer olmayan regresyon modelinden hesaplanan kinetik model parametreleri Çizelge 7.2'te verilmiştir.



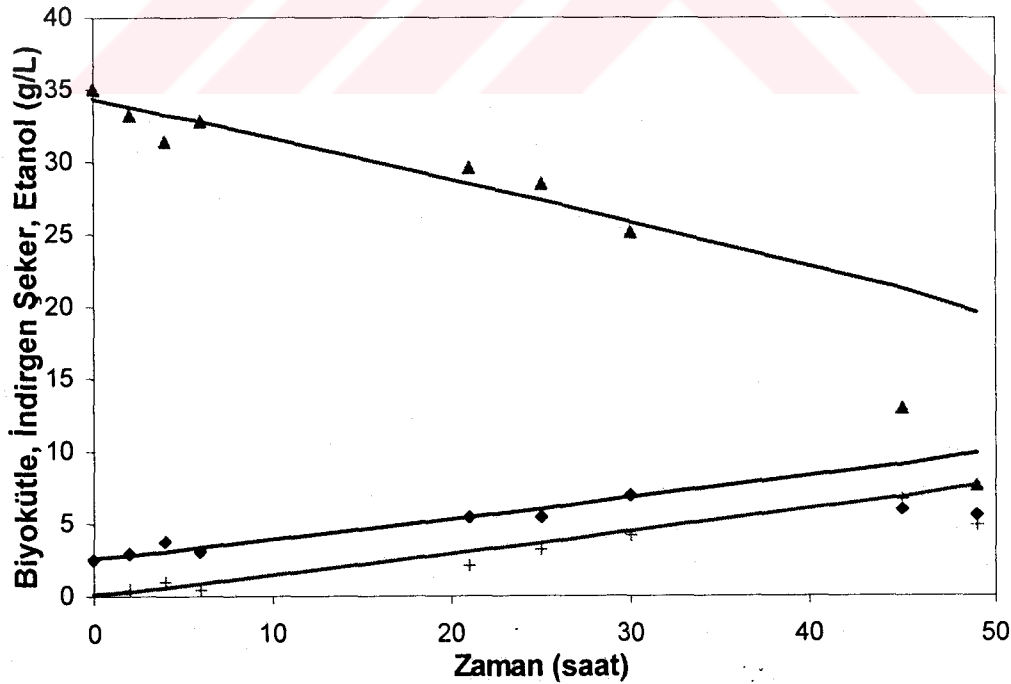
Şekil 7.1 25 g/L indirgen şeker içeren hidrolizatın Eşitlik 6.11'e (Model 1) ait konsantrasyon-zaman grafiği (Deneyisel sonuçlar; ◆biyokütle, ▲substrat, +etanol, Model sonuçları;—)



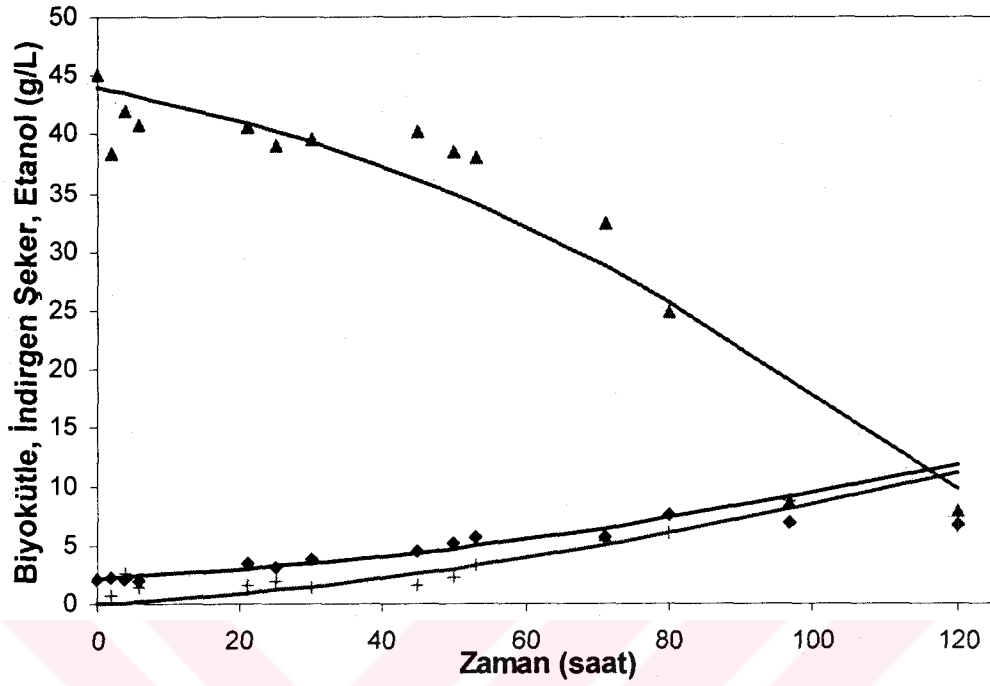
Şekil 7.2 25 g/L indirgen şeker içeren hidrolizatın Eşitlik 6.14'e (model 2) ait konsantrasyon-zaman grafiği (Deneyisel sonuçlar; ◆biyokütle, ▲substrat, +etanol, Model sonuçları;—)



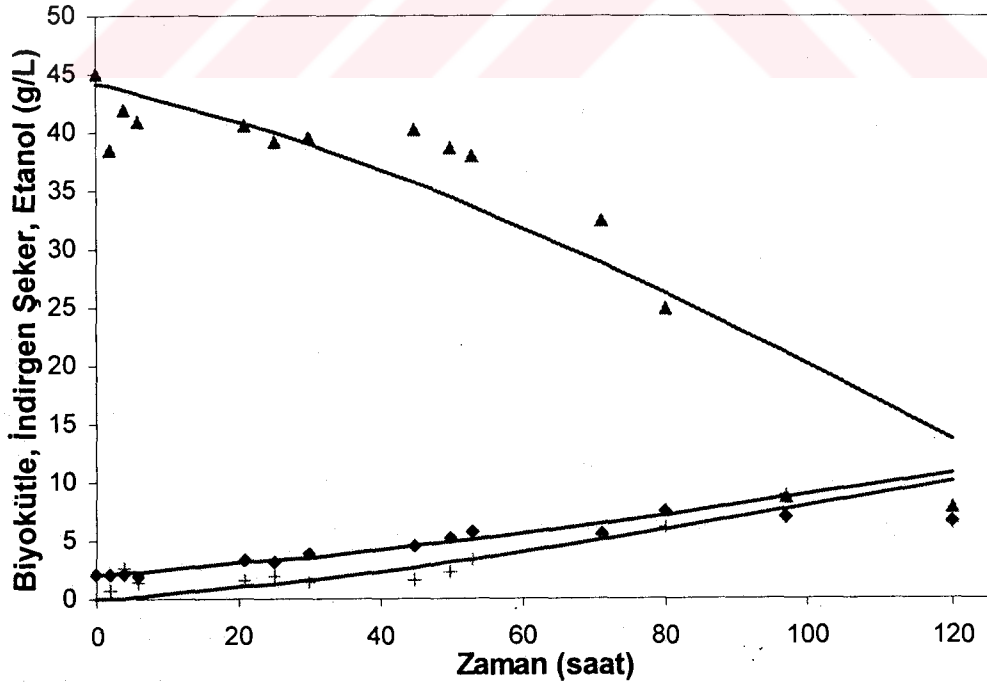
Şekil 7.3 35 g/L indirgen şeker içeren hidrolizatın Eşitlik 6.11'e (model 1) ait konsantrasyon-zaman grafiği (Deneyisel sonuçlar; ◆biyokütle, ▲substrat, +etanol, Model sonuçları;—)



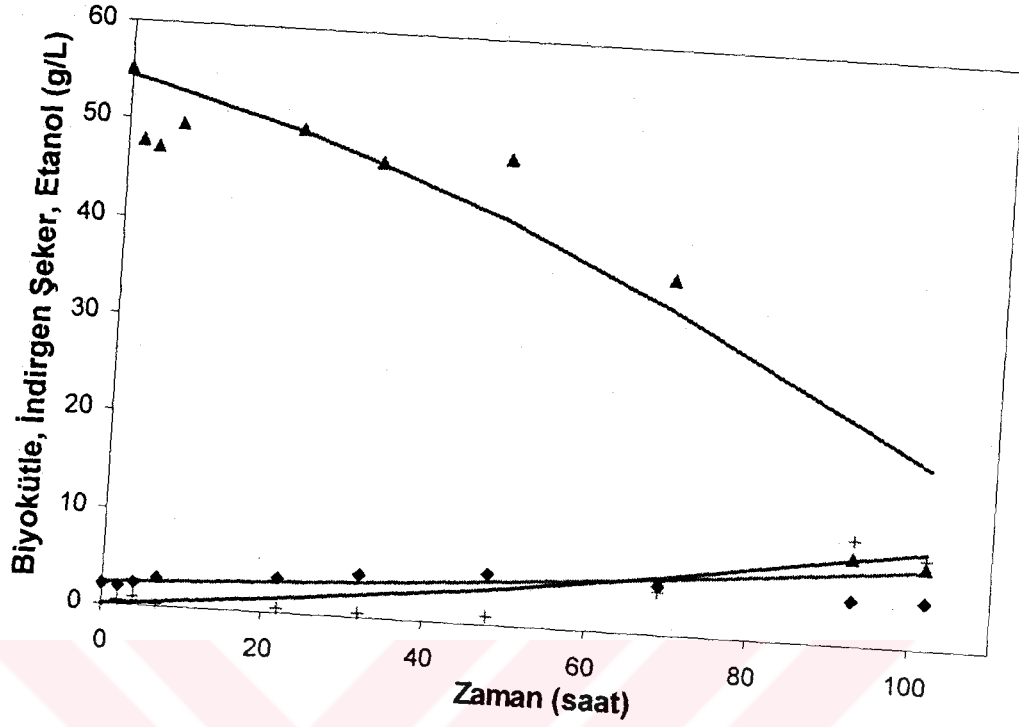
Şekil 7.4 35 g/L indirgen şeker içeren hidrolizatın Eşitlik 6.14'e (model 2) ait konsantrasyon-zaman grafiği (Deneyisel sonuçlar; ◆biyokütle, ▲substrat, +etanol, Model sonuçları;—)



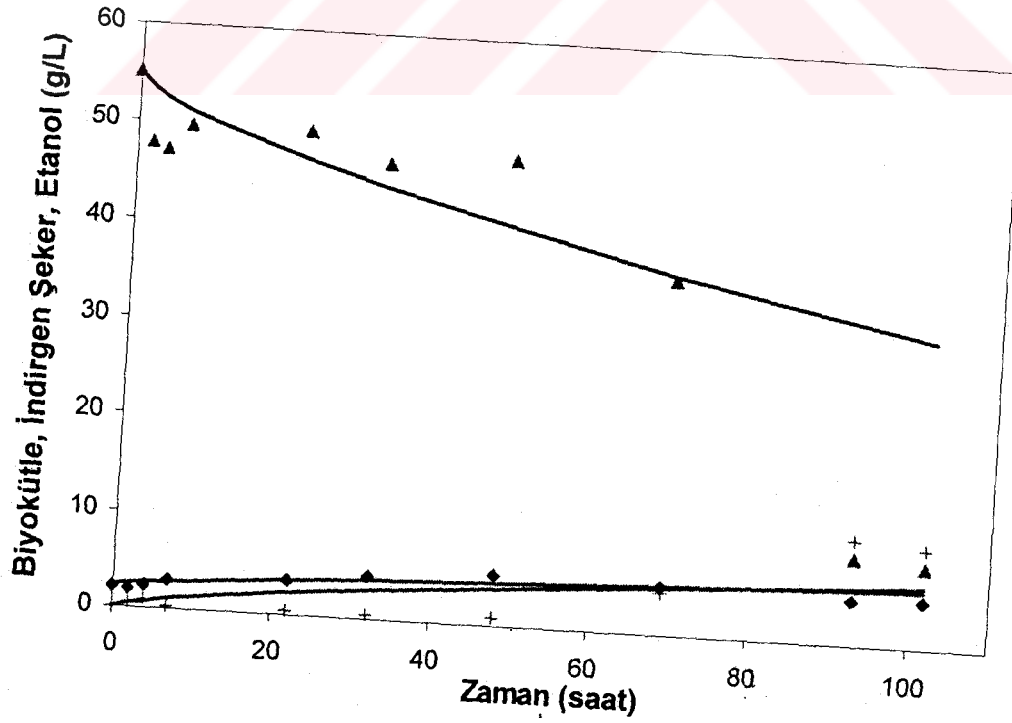
Şekil 7.5. 45 g/L indirgen şeker içeren hidrolizatın Eşitlik 6.11'e (model 1) ait konsantrasyon-zaman grafiği (Deneysel sonuçlar; ◆biyokütle, ▲substrat, +etanol, Model sonuçları;—)



Şekil 7.6. 45 g/L indirgen şeker içeren hidrolizatın Eşitlik 6.14'e (model 2) ait konsantrasyon-zaman grafiği (Deneysel sonuçlar; ◆biyokütle, ▲substrat, +etanol, Model sonuçları;—)



Şekil 7.7. 55 g/L indirgen şeker içeren hidrolizatın Eşitlik 6.11'e (model 1) ait konsantrasyon-zaman grafiği (Deneysel sonuçlar; ◆biyokütle, ▲substrat, +etanol, Model sonuçları;—)



Şekil 7.8. 55 g/L indirgen şeker içeren hidrolizatın Eşitlik 6.14'e (model 2) ait konsantrasyon-zaman grafiği (Deneysel sonuçlar; ◆biyokütle, ▲substrat, +etanol, Model sonuçları;—)

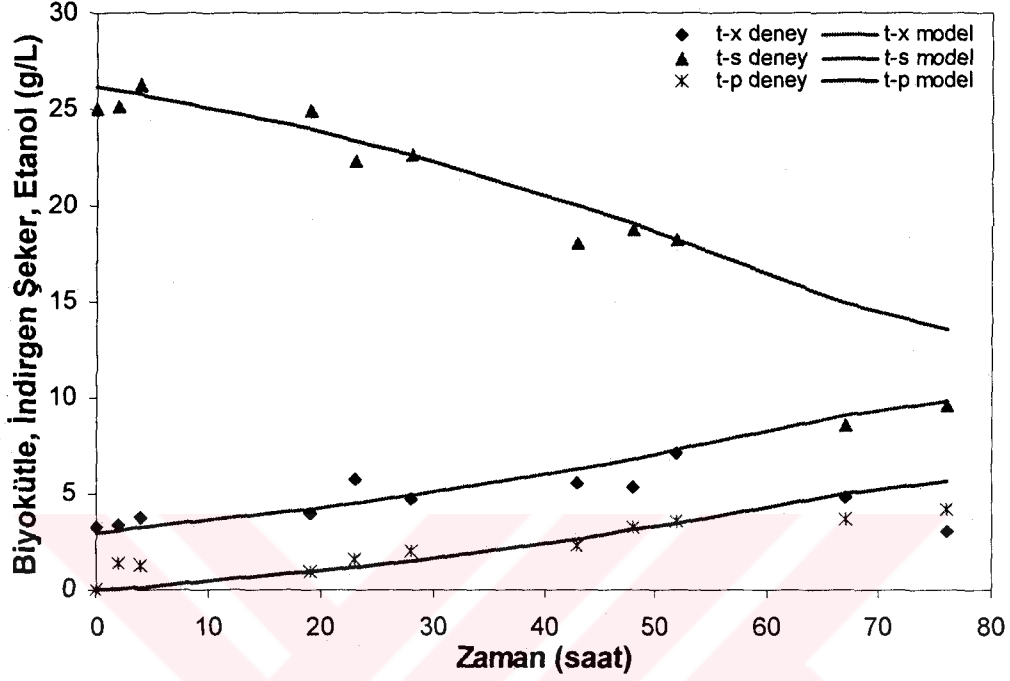
Çizelge 7.2 Model 1 ve 2'den hesaplanan kinetik parametreler

Substrat Konsantrasyonu	MODEL 1			MODEL 2		
	μ_m (saat ⁻¹)	K_s (g/L)	K_i (g/L)	μ_m (saat ⁻¹)	K_s (g/L)	K_i (g/L)
25 g/L	0,030	16,854	-	0,014	7,08	46,32
35 g/L	0,048	15,275	-	0,010	2,27	40,24
45 g/L	0,021	12,793	-	0,010	5,27	73,00
55 g/L	0,018	17,902	-	0,002	1,21	55,50

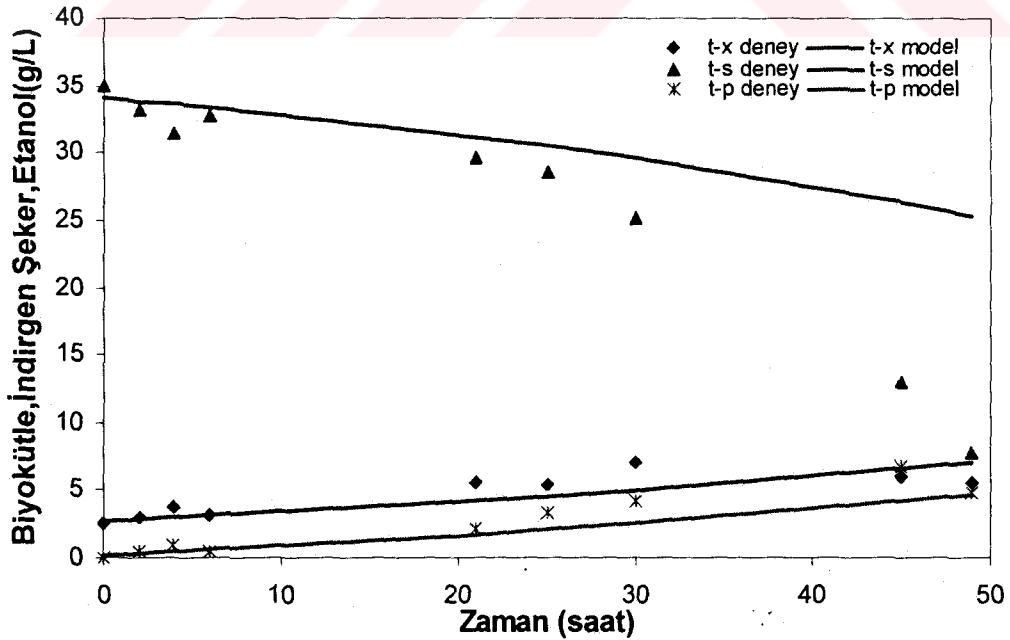
Model 1 için hesaplanan maksimum spesifik büyüme hızı μ_m 0,018-0,048 saat⁻¹ aralığında, K_s monod sabiti ise 12,8-17,9 g/L aralığında değişmektedir. Model 2 için hesaplanan maksimum spesifik büyüme hızı μ_m 0,002-0,014 saat⁻¹ aralığında, K_s monod sabiti ise 1,21-7,08 g/L aralığında değişmektedir. Ayrıca model 2'de substrat inhibizasyonunu ifade eden K_i sabiti ise 40-73 g/L aralığında değişmiştir. Model 1 ile her bir substrat konsantrasyonu için bulunan maksimum spesifik büyüme hızı μ_m değerlerinin birbirine çok yakın olmadığı düşünülerek model 2 tanımlanmıştır, model 2'deki maksimum spesifik büyüme hızı μ_m değerlerinin birbirine yakın olduğu ancak K_s değerlerinin birbirine çok yakın olmadığı görülmüştür. Daha önce belirttiğimiz gibi hidrolizat içerisindeki toplam indirgen şeker miktarı dışarıdan sentetik ksiloz ilavesiyle artırılmıştır. Bu durumda ortamdaki toplam indirgen şeker içerisindeki ksiloz miktarı artmış olmaktadır. Bu durumun, mayanın substrat metabolizmasını etkileyebileceği düşünülmektedir.

Bu çalışmada, bütün substrat konsantrasyonlarını ifade etmeye yönelik tek μ_m ve K_s sabitlerinin bulunulması da araştırılmıştır. Bu amaçla Model 1 için elde edilen μ_m ve K_s değerlerinin ortalaması hesaplanarak, $\mu_m=0,02925$ saat⁻¹ ve $K_s=15,71$ g/L alınıp, Model eşitliklerinden Şekil 7.9-7.12'de verilen grafikler çizilmiştir. Deneysel sonuçlarla yapılan karşılaştırmadan, substrat konsantrasyonunun 25g/L olduğu fermantasyon dışında, diğer deneyler için

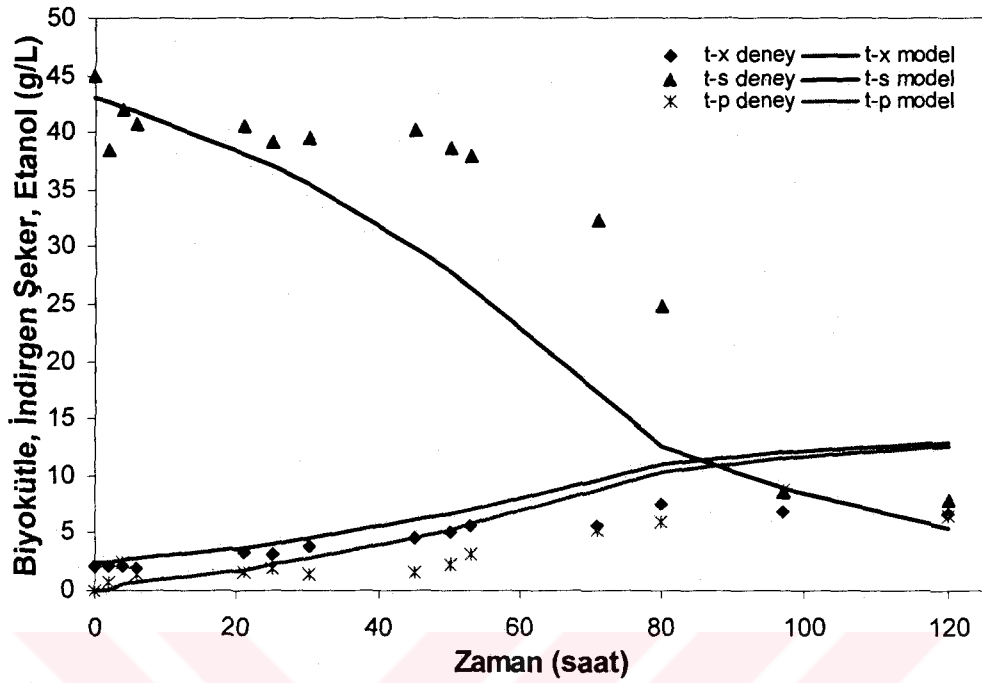
çalışmada elde edilen kinetik parametrelerin literatür çalışmalarıyla karşılaştırılması Çizelge 7.3'te verilmektedir.



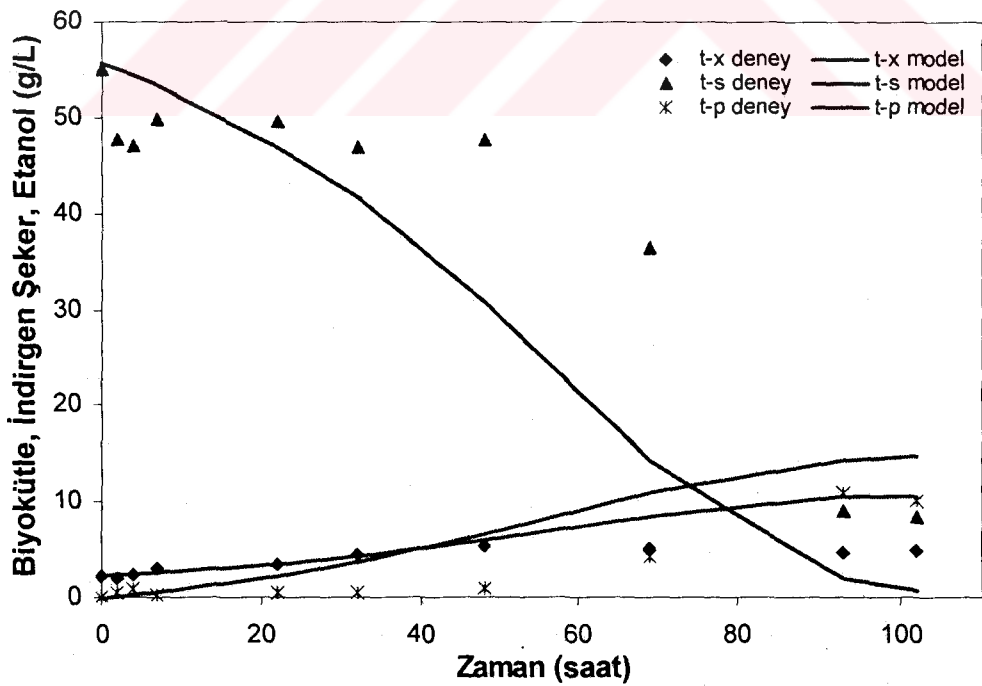
Şekil 7.9. 25 g/L indirgen şeker içeren hidrolizatın Eşitlik 6.11'e (model 1) ait konsantrasyon-zaman grafiği ($\mu_m=0,02925$ saat⁻¹, $K_S=15,71$ g/L)



Şekil 7.10. 35 g/L indirgen şeker içeren hidrolizatın Eşitlik 6.11'e (model 1) ait konsantrasyon-zaman grafiği ($\mu_m=0,02925$ saat⁻¹, $K_S=15,71$ g/L)



Şekil 7.11. 45 g/L indirgen şeker içeren hidrolizatın Eşitlik 6.11'e (model 1) ait konsantrasyon-zaman grafiği ($\mu_m=0,02925 \text{ saat}^{-1}$, $K_S=15,71 \text{ g/L}$)



Şekil 7.12. 55 g/L indirgen şeker içeren hidrolizatın Eşitlik 6.11'e (model 1) ait konsantrasyon-zaman grafiği ($\mu_m=0,02925 \text{ saat}^{-1}$, $K_S=15,71 \text{ g/L}$)

Çizelge 7.3 Ayçiçeği kabuğu hidrolizatının fermantasyon kinetiğinin literatürle karşılaştırılması

Ref.	Hidrolizat türü	Kullanılan maya	Ön işlem	Substrat kons. (g/L)	Fermantasyon koşulları	Maksimum .alkol (g/L)	μ_m (saat ⁻¹)	Q_p (g/Lsaat)	$Y_{P/S}$ (g/g)
24	Su sümbülü hidrolizatı	<i>Pichia stipitis</i> NRRL Y-124	Ca(OH) ₂ ile pH=10'a titrasyon+sülfid	67,5	pH=5, 30°C 250rpm, 2,5L aerobik	18	0,04	0,18	0,35
40	Buğday samanı hidrolizatı	<i>Pichia stipitis</i> NRRL Y-7124	Ca(OH) ₂ ile pH=10'a titrasyon + adaptasyon	60,4	pH=6,5, 28°C, 350rpm, 3L, aerobik	12,9	-	0,30	0,36
41	Enzimatik hidrolize uğratılmış ayçiçeği sapı hidrolizatı	<i>S. cerevisiae</i>	-	40	pH=5, 30°C, 150 rpm, 1L, aerobik	15,12	-	0,84	0,439
51	Sentetik D-ksiloz	<i>Pichia stipitis</i> ATCC 58376	-	25	pH=4,5, 30°C 500 rpm, 0,5L	-	0,55	-	0,37
56	Sentetik D-ksiloz	<i>Pichia stipitis</i>	-	40	-	20	0,3	-	-
Bu çalışma	Ayçiçeği Kabuğu hidrolizatı	<i>Pichia stipitis</i> NRRL Y-124	Ca(OH) ₂ ile pH=10'a titrasyon+sülfid	55	pH=6, 30°C 100rpm, 0,6L aerobik	10,8	0,018	0,12	0,27

8. SONUÇ VE ÖNERİLER

Ayçiçeği tohum kabuğu hemiselüloz hidrolizatından *Pichia stipitis* NRRL Y-124 mayası ile fermantasyonla etil alkol elde edilmesine yönelik olarak yapılan bu çalışmada, öncelikle etil alkol fermantasyonu öncesi hidrolizata farklı zehir giderici ön işlemler uygulanmış ve bu ön işlemlerden CaO ile aşırı titrasyon+sodyum sülfid ilavesini içeren işlemin diğerlerine oranla hidrolizatın fermantasyon performansını daha çok olumlu yönde etkilediği görülmüştür.

İkinci olarak, *Pichia stipitis* mayası, CaO ile pH 10'a kadar aşırı titrasyon işlemi görmüş ayçiçeği kabuğu hidrolizatına kademeli olarak (bölüm 4) adapte edilmiştir. Bu işlemle, mikroorganizma hidrolizat içerisindeki zehirlere karşı daha dirençli hale gelmektedir. Mikroorganizmanın hidrolizata adaptasyonu ile gerçekleştirilen hidrolizat fermantasyonu sonucunda fermantasyon sırasında elde edilen maksimum alkol konsantrasyonunun bir miktar arttığı görülmüş ancak, adapte edilmiş mikroorganizma ile ön işlem görmüş hidrolizatların fermantasyon performansının beklenildiği kadar iyi olmadığı gözlenmiştir.

Ayçiçeği kabuğu hidrolizatının çalkalamalı kaplarda yapılan fermantasyon deneylerine başlangıç pH ve çalkalama hızının etkisinin araştırıldığı bu bölümde, başlangıç pH'ını (5,5-7,0) değiştirmenin hidrolizat fermantasyonuna belirgin bir etkisi saptanamamıştır. Ancak 70-130 rpm arasında denenen çalkalama hızının fermantasyon üzerine olumlu bir etkisi olmuş ve en yüksek alkol konsantrasyonu pH=6 ve çalkalama hızının 100 rpm olduğu fermantasyon koşullarında elde edilmiştir.

En yüksek alkol konsantrasyonu 11 g/L değerinde 48 g/L toplam indirgen şeker içeren bir hidrolizattan başlangıç pH'ı 6 da ve 100 rpm çalkalama hızında elde edilmiştir. Bu değere karşılık gelen alkol verimi 0,32g/g, alkol üretim hızı ise 0,065 g/Lsaat dir. Bu değeri başlangıçtaki katı miktarı

üzerinden verime çevirirsek, seyrelmeleri ve aradaki işlemleri de hesaba katarak 0,04 g alkol/g katı veriminde alkol elde edilmiştir.

Yapılan çalışmanın son bölümünde ise ayçiçeği kabuğu hidrolizatından *Pichia stipitis* mayası ile fermantasyonunu tanımlayan kinetik modellerin geliştirilmesine çalışılmıştır. Fermentör deneylerinde, sisteme bir miktar hava gönderilmekle birlikte biyokütle büyüme hızının oksijen limitasyonundan uzak olduğu sadece substrat limitasyonlu olduğu düşünülmüştür. Ekspansiyon faz boyunca substrat ve biyokütle konsantrasyonu arasında lineer bir ilişkinin olduğu ve aynı lineer ilişkinin ürün ve biyokütle konsantrasyonları arasında olduğu sonucuna varılmıştır. Bu çalışmada kinetik parametreler her bir substrat konsantrasyonu için ayrı ayrı hesaplanmıştır. Kinetik model ile deneysel sonuçların fermantasyon süresince uyum içinde olduğu görülmüştür. Fermentör sisteminde pH kontrolünün yapılmasının bu uyumu daha da arttıracığı düşünülmektedir.

Bu çalışmanın sonucunda daha sonraki çalışmalar için şunlar önerilebilir:

- Substrat olarak değişik lignoselülozik hammaddeler kullanılabilir.
- Daha farklı hidroliz hazırlama yöntemleri ve hazırlanan hidrolizatlara daha etkili ve ekonomik değişik ön işlemler uygulanabilir.
- Mikroorganizma adaptasyonu yöntemi geliştirilebilir.
- İmmobilize hücre kültürleri kullanılabilir.
- Genetik mühendisliği tarafından geliştirilmiş farklı mikroorganizma türleri kullanılabilir.
- Hidrolizat ortamındaki zehirlere karşı daha dayanıklı mikroorganizmalar geliştirilebilir.
- Değişik fermantasyon ortam koşulları (sıcaklık pH, karıştırma hızı) denenebilir.
- Fermentör sistemindeki kontroller atılarak (pH, çözünmüş O₂), fermantasyon kinetiği daha kapsamlı incelenebilir.

- Fermantasyon kinetiğini tanımlayan daha kapsamlı modeller geliştirilebilir. Fermantasyon ortamında bulunan substratların tamamı sadece mikroorganizmaların üremesi ya da ürün oluşumunda kullanılmazlar. Ortamdaki substratın bir kısmı mikroorganizmaların hareketleri ve solunumları gibi yaşam için gerekli olaylarda harcanır. Bunun yanında mikroorganizmalar hücre canlılığını korumak için gerekli enerjinin bir kısmını, bazı hücrelerin bozunması ya da oksidasyonu ile sağlarlar. Bu nedenle bakım terimi ve endojenik respirasyon (hücre içi solunum) terimleri de kinetik ifadelerle eklenmelidir. Bunların yanında fermantasyon süresince pH kontrolünün yapılmadığı fermentör deneylerinde, hidrojen iyon konsantrasyonunun alkol oluşumu üzerinde ve kısmen de biyokütle büyüme hızı üzerinde önemli bir etkiye sahip olduğu bazı literatür çalışmalarında belirtilmiştir (43). Bu nedenle böyle bir fermentör sisteminde pH'ın kontrol edilmesinin önemli olduğu düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

1. Olsson, L., Hahn-Hagerdal, B., "Fermentation of lignocellulosic hydrolysates for ethanol production", **Enzyme and Microbial Technology**, 18:312-331(1996).
2. Arslan, Y., "Mısır koçanıhidrolizatından *Pichia stipitis* ve *Candida shehatae* mayaları ile etil alkol üretimi", Yüksek Lisans Tezi, **Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü**, Ankara, 1(2000).
3. Ranatunga, T.D., Jervis, J., Helm, R.F., McMillan, J.D., Wooley, R.J., "The effect of overliming on the toxicity of dilute acid pretreated lignocellulosics : the role of inorganics, uronic acids and ether-soluble organics", **Enzyme and Microbial Technology**, 27:240-247(2000).
4. Palmqvist, E., Hahn-Hagerdal, B., "Fermentation of lignocellulosic hydrolysates. I: inhibition and detoxification", **Bioresource Technology**, 74:17-24(2000).
5. Jargalsaikhan, O., "Ayçiçeği tohum kabuğu hemiselüloz hidrolizatından mayalar yardımıyla etanol eldesi", Yüksek Lisans Tezi, **Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü**, Ankara, 34(2003).
6. Gerçel, H.F., "Production and characterization of pyrolysis liquids from sunflower-pressed bagasse", **Bioresource Technology**, 85:113-117(2002).
7. Saraçoğlu, N., "Ayçiçeği tohum kabuğu hemiselüloz hidrolizatından mayalar yardımıyla etanol eldesi", **MİSAG-152**, Ankara, 4(2003).
8. Palmqvist, E., Hahn-Hagerdal, B., "Fermentation of lignocellulosic hydrolysates.II : inhibitors and mechanisms of inhibition", **Bioresource Technology**, 74:25-33(2000).
9. Beyatlı, Y., "Biyoteknoloji ve Biyoprotein Üretimi", **Kükem Derneği Bilimsel Yayınları**, Ankara, 54-59(1996).
10. Pekin, B., "Biyokimya Mühendisliği 1.Baskı", cilt 1, **Ege Üniversitesi Matbaası**, İzmir, 47,529,637(1979).
11. Walsh, G., Headon, D., "Protein Biotechnology", **John Wiley&Sons Ltd.**, England, 317-318(1994).
12. Perez, J., Munoz-Dorado, J., de la Rubia, T., Martinez, J., "Biodegradation and biological treatments of cellulose, hemicellulose and lignin:an overview", **International Microbiology**, 5(2):53-63(2002).

13. Ana Britannica, **Genel Kültür Ansiklopedisi**, cilt 3, Hürriyet Ofset, İstanbul, 84(1986).
14. Büyük Larousse, **Sözlük ve Ansiklopedisi**, Cilt 3, Milliyet Gazetecilik A.Ş., İstanbul, 1097(1986).
15. Kaya, Y., "Ayçiçeği kabuğunun değerlendirilmesi ve içeriği. CİNE-TARIM Dergisi", <http://www.cine-tarim.com.tr/dergi/sektorel06.htm>(13.01.2003).
16. Galbe, M., Zacchi, G., "A review of the production of ethanol from softwood", **Applied Microbiology and Biotechnology**, 59:618-628(2002).
17. Kargı, F., "Çevre Mühendisliğinde Biyoprosesler", **Dokuz Eylül Üniv. Müh. Fak. Yayınları**, İzmir, 245-259(1993).
18. Martinez, A., Rodriguez, M.E., York, S.W., Preston, J.F., Ingram, L.O., "Effects of $\text{Ca}(\text{OH})_2$ treatments ("Overliming") on the composition and toxicity of bagasse hemicellulose hydrolysates", **Biotechnology and Bioengineering**, 69:526-536(2000).
19. Larsson, S., Reimann, A., Nilvebrant, N.O., Jönsson, L.J., "Comparison of different methods for the detoxification of lignocellulose hydrolysates of spruce", **Applied Biochemistry and Biotechnology**, 77-79:91-103(1999).
20. İmren, D., Yüce, S., Basan, S., "Kimyasal Teknolojiler ve Analizler", **Cumhuriyet Üniversitesi Yayınları**, Sivas, 281-289(2001).
21. Shreve, R.N., Brink, J.A., "Kimyasal Proses Endüstrileri", 4. baskı, cilt 1, Çataltaş, İ., **Mc Graw-Hill**, New York, 194(1985).
22. Stanbury, P.F., Whitaker, A., Hall, S.J., "Principles of Fermentation Technology", 2nd ed, **Elsevier Science Ltd.**, US, 10- (1995).
23. Saha, B.C., "Hemicellulose bioconversion", **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**, 30(5):279-291(2003).
24. Nigam, J.N., "Bioconversion of water-hyacinth (*Eichhornia crassipes*) hemicellulose acid hydrolysate to motor fuel ethanol by xylose-fermenting yeast", **Journal of Biotechnology**, 97:107-116(2002).
25. Scragg, A.H., "Bioreactors in Biotechnology", **Ellis Harwood Ltd.**, England, 45-52(1991).
26. Kirk-Othmer, "Encyclopedia of Chemical Technology", 2nd ed, **A wiley-Interscience Publication**, Newyork, 9:338-380(1980).

27. Boggan, B., "Ethyl Alcohol: what is it ?", Kennesaw State University ", <http://www.chemcases.com/alcohol/alc-04.htm> (18.11.2003).
28. Cheremisinoff, N.P., Cheremisinoff, P.N., Ellerbusch, F., "Biomass, application, technology and production", **Marcel Dekker**, Newyork and Bazel, 190(1980).
29. Aydoğan, N., "*Pichia stipitis* ve *Candida shehatae* mayaları ile D-Ksilozdan etil alkol eldesi", Bitirme Projesi, **Gazi Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Kimya Mühendisliği Bölümü**, Ankara, 12(2002).
30. Kargı, F., "Nişastalı atıklardan etanol üretimi", **Çevre Bilimleri**, 2:33-38(1995).
31. Hahn-Hagerdal, B., Jeppsson, H., Olsson, L., Mohagheghi, A., "An interlaboratory comparison of the performance of ethanol-producing microorganisms in a xylose-rich acid hydrolysate", **Applied Microbiology and Biotechnology**, 41:62-72(1994).
32. Eken-Saraçoğlu, N., Arslan, Y., "Comparison of different pretreatments in ethanol fermentation using corn cob hemicellulosic hydrolysate with *Pichia stipitis* and *Candida shehatae*", **Biotechnology Letters**, 22:855-858(2000).
33. Martinez, A., Rodriguez, M.E., York, S.W., Preston, J.F., Ingram, L.O., "Use of UV absorbance to monitor furans in dilute acid hydrolysates of biomass", **Biotechnolnology Progress**, 16:637-641(2000).
34. Nigam, J.N., "Development of xylose-fermenting yeast *Pichia stipitis* for ethanol production through adaptation on hardwood hemicellulose acid hydrolysate", **Journal of Applied Microbiology**, 90:208-215(2001).
35. Martinez, A., Rodriguez, M.E., Wells, M.L., York, S.W., Preston, J.F., Ingram, L.O., "Detoxification of dilute acid hydrolysates of lignocellulose with lime", **Biotechnology Progress**, 17:287-293(2001).
36. Sene, L., Converti, A., Zilli, M., Felipe, M.G.A., Silva, S.S., "Metabolic study of the adaptation of the yeast *Candida guilliermondii* to sugarcane bagasse hydrolysate", **Applied Microbiology and Biotechnology**, 57:738-743(2001).
37. Millati, R., Niklasson, C., Taherzadeh, M.J., "Effect of pH, time and temperature of overliming on detoxification of dilute-acid hydrolysates for fermentation by *Saccharomyces cerevisiae*", **Process Biochemistry**, 38:515-522(2002).

38. Van Zyl, C., Prior, B.A., Du Preez, J.C., "Production of ethanol from sugarcane bagasse hemicellulose hydrolysate by *Pichia stipitis*", **Applied Biochemistry and Biotechnology**, 17:357-369(1988).
39. Sreenath, H.C., Jeffries, T.W., "Production of ethanol from wood hydrolysate by yeasts", **Bioresource Technology**, 72:253-260(2000).
40. Nigam, J.N., "Ethanol production from wheat straw hemicellulose hydrolysate by *Pichia stipitis*", **Journal of Biotechnology**, 87:17-27 (2002).
41. Sharma, S.K., Kalra, K.L., Grewal, H.S., "Fermentation of enzymatically saccharified sunflower stalks for ethanol production and its scale up", **Bioresource Technology**, 85: 31-33(2002).
42. Olsson, L., Hahn-Hagerdal, B., "Kinetics of ethanol production, by recombinant *Escherichia coli* KO11" **Biotechnology and Bioengineering**, 45:356-365(1995).
43. Starzak, M., Krzystek, L., Nowicki, L., Micholski, H., "Macroapproach kinetics of ethanol fermentation by *Saccharomyces cerevisiae* : experimental studies and mathematical modelling", **The Chemical Engineering Journal**, 54:221-240(1994).
44. Silva, S.S., Roberto, I.C., Felipe, M.G.A., Mancilha, I.M., "Batch fermentation of xylose for xylitol production in stirred tank bioreactor", **Process Biochemistry**, 31:549-553(1996).
45. Sanchez, S., Bravo, V., Castro, E., Maya, A.J., Camacho, F., "The influence of pH and aeration rate on the fermentation of D-xylose by *Candida shehatae* ", **Enzyme and Microbial Technology**, 21:355-360(1997).
46. Monteagudo, J.M., Rodriguez, L., Rincon, J., Fuertes, J., "Kinetics of lactic acid fermentation by *Lactobacillus delbrueckii* grown on beet molasses", **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**, 68:271-276(1997).
47. Sanchez, S., Bravo, V., Castro, E., Maya, A.J., Camacho, F., "Comparative study of the fermentation of D-glucose/D-xylose mixtures with *Pachysolen tannophilus* and *Candida shehatae*", **Bioprocess Engineering**, 21:525-532(1999).
48. Roberto, I.C., Mancilha, I.M., Sato, S., "Influence of k_{La} on bioconversion of rice straw hemicellulose hydrolysate to xylitol", **Bioprocess Engineering**, 21:505-508(1999).

49. Roberto, I.C., Mancilha, I.M., Sato, S., "Kinetics of xylitol fermentation by *Candida guilliermondii* grown on rice straw hemicellulosic hydrolysate", ***Applied Biochemistry and Biotechnology***, 77-79:205-210(1999).
50. Aranda-Barradas, J.S., Delia, M.L., Riba, J.P., "Kinetic study and modelling of the xylitol production using *Candida parapsilosis* in oxygen-limited culture conditions", ***Bioprocess Engineering***, 22:219-225(2000).
51. Sanchez, S., Bravo, V., Castro, E., Maya, A.J., Camacho, F., "The fermentation of mixtures of D-glucose and D-xylose by *Pichia stipitis*, *Candida shehatae* or *Pachysolen tannophilus* to produce ethanol", ***Journal of Chemical Technology and Biotechnology***, 77:641-648(2002).
52. Boonmee, M., Leksawasdi, N., Bridge, W., Rogers, P.L., "Batch and continuous culture of *Lactococcus lactis* NZ133 : experimental data and model development", ***Biochemical Engineering Journal***, 14:127-135(2003).
53. Liu, J.Z., Weng, L.P., Zhang, Q.L., Xu, H., Ji, L.N., "A mathematical model for gluconic acid fermentation by *Aspergillus niger*", ***Biochemical Engineering***, 14:137-141(2003).
54. Slininger, P.J., Bothast, R.J., Cauwenberge, J.E.V., Kurtzman, C.P., "Conversion of D-xylose to ethanol by yeast *Pachysolen tannophilus*", ***Biotechnology and Bioengineering***, 24:371-384(1982).
55. Sinclair, C.G., Kristiansen, B., "Fermentation kinetics and modelling", ***Open University Press***, New York, 15(1987).
56. Grootjen, D.R.J., van der Lans, R.G.J.M., Luyben, K.Ch.A.M., "Conversion of glucose/xylose mixtures by *Pichia stipitis* under oxygen-limited conditions", ***Enzyme and Microbial Technology***, 13:648-654(1991).
57. Parajo, J.C., Dominguez, H., Dominguez, J.M., "Improved xylitol production with *Debaryomyces hansenii* Y-7426 from raw or detoxified wood hydrolysates", ***Enzyme and Microbial Technology***, 21:18-24(1997).
58. Ferrari, M.D., Neirotti, E., Albornoz, C., Saucedo, E., "Ethanol production from Eucalyptus wood hemicellulose hydrolysate by *Pichia stipitis*", ***Biotechnology and Bioengineering***, 40:753-759(1992).
59. Perego, P., Converti, A., Palazzi, E., Del Borghi, M., Ferraiolo, G., "Fermentation of hardwood hemicellulose hydrolysate by *Pachysolen tannophilus*, *Candida shehatae* and *Pichia stipitis*", ***Journal of Industrial Microbiology***, 6:157-164(1990).

60. Bruinenberg, P. M., van Dijken, J. P., Scheffers, W. A., "A theoretical analysis of NADPH production and consumption in yeasts ", ***Journal of Genetic Microbiology***, 129:953-964(1983).
61. Skoog, K., Hahn-Hagerdal, B., "Xylose fermentation", ***Enzyme Microbial Technology***, 10:66-79(1988).



EKLER



EK-1

Mikroorganizma İçin Ağırlık Tayini

Mikroorganizma İçin Ağırlık Tayini

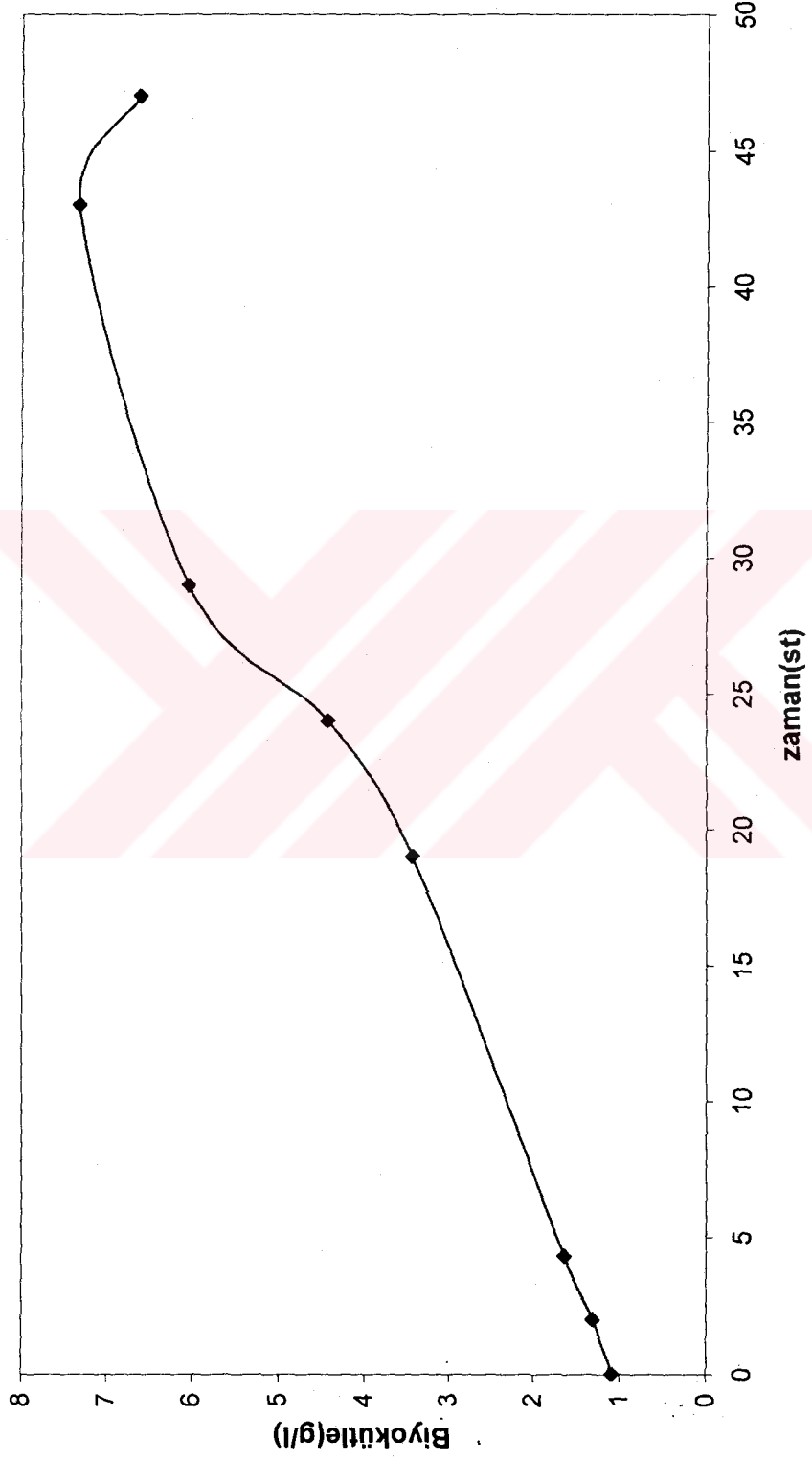
Büyüme ortamından alınan 10 mL'lik iki örneğin 600 nm dalga boyunda UV spektrofotometrede absorbansları ölçülür. İki tane boş santrifüj tüpünün ağırlığı tartılır, daha sonra her ikisine de 10 mL'lik çözelti konur. Tüpler 2000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilerek üstteki sulu kısım atılır ve % 0,9'luk NaCl çözeltisinden 5 mL ilave edilerek tekrar 2000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilir. Üstteki sulu kısım pipetle çekilip alınır. Tüpler 90 °C'de 20 saat süre ile kurutulduktan sonra soğuması için içinde CaCl_2 olan bir desikatöre konur. Daha sonra tüplerin ağırlıkları tartılır ve tüp ağırlıkları arasındaki farktan mikroorganizmanın kuru ağırlığı elde edilir. Absorbans ve kuru ağırlık arasındaki ilişkiyi veren bağıntı,

Absorbans = 1,9 x Kuru Ağırlık (g/L)

şeklinde elde edilir.

EK-2

Pichia stipitis NRRL Y-124 Mayasına Ait Büyüme Eğrisi



Şekil E2.1 *Pichia stipitis* mayasına ait büyüme eğrisi

EK-3**DNS Yöntemiyle İndirgen Şeker Analizi**

DNS Yöntemiyle İndirgen Şeker Analizi

%1 3,5-dinitro salisilik asit, %0,2 fenol, %0,005 sodyum sülfid, %20 Rochelle tuzu içerecek şekilde tartılan bu maddeler %1 NaOH çözeltisinde çözülürler. Bu çözeltiye DNS belirteci denir. DNS belirteci içerdiği sülfidin atmosferik oksijen tarafından oksitlenmesi ile bozunur, dolayısıyla tekrar eklemek gerekir. Bunu önlemek için sülfid DNS belirteci hazırlanırken çözeltiye eklenmez ancak kullanılacağı zaman gereken ölçüde eklenir. İndirgen şeker analizi için 1 mL indirgen şeker içeren numune 20 mL'lik deney tüpüne konarak üzerine 3 mL DNS belirteci eklenir ve tüpün ağzı kapatılarak kaynamakta olan su banyosunda 5 dakika bekletilir. Daha sonra tüpteki çözeltinin üzerine 10 mL saf su eklenerek 550 nm'de UV spektrofotometrede indirgen şeker içermeyen referans çözeltiye karşı absorbansı okunur. Referans çözelti, 1 mL saf su + 3 mL DNS belirtecinin kaynayan su banyosunda 5 dakika tutulup üzerine 10 mL saf su eklenmesi şeklinde hazırlanır.

Absorbanstan konsantrasyon birimine geçebilmek amacıyla konsantrasyonu bilinen ksiloz çözeltileri hazırlanarak yukarıdaki işlemlerden geçirilir ve absorbans okunur. Daha sonra konsantrasyona karşı absorbans grafiği çizilerek konsantrasyon ile absorbans arasında aşağıdaki gibi bir bağıntı elde edilir (5).

$$\text{Abs} = -0,0653034 + 1,1337179 \times \text{Kons(g/L)}$$

EK-4

Etil Alkol Analizi

Etil Alkol Analizi

Belirteç ve Maddeler

1) 0,04 N Potasyum di kromat çözeltisi ($K_2Cr_2O_7$).

1,96 g $K_2Cr_2O_7$ 600 mL saf suda çözüldükten sonra balon jojeye aktarılır. 400 mL derişik H_2SO_4 azar azar eklenerek 1000 mL'ye tamamlanır.

2) KI kristalleri.

3) 0,1 N $Na_2S_2O_3$ çözeltisi.

25 gram $Na_2S_2O_3 \cdot 5H_2O$ ve 0,1 gram Na_2CO_3 maddeleri 1000 mL suda çözümlenerek hazırlanır. Hazırlanan bu çözelti karanlıkta saklanır.

4) % 1 Nişasta çözeltisi.

1 g nişastanın 100 mL saf suda ısıtılarak çözünmesi ile hazırlanır.

Deneyin Yapılışı

1) 0,5 mL analizi yapılacak örnek rodajlı balonun içine konur. Düzenekte soğutucunun altına yerleştirilen erlene 25 mL $K_2Cr_2O_7$ çözeltisi konur. Sisteme buhar gönderilir ve toplam hacim 50 mL oluncaya kadar distilasyona devam edilir.

2) 50 mL olan numune 60 °C'lik su banyosunda 25 dakika bekletilir, erlen soğutulur ve daha sonra içine 0,5-1,0 g KI ilave edilerek karanlık bir ortamda 5 dakika bekletilir.

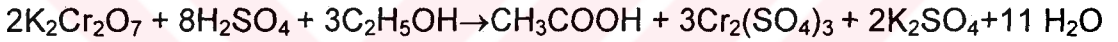
3) Karanlıkta 5 dakika beklemiş olan çözelti 0,1 N'lik $Na_2S_2O_3$ çözeltisi ile açık sarı renk elde edilinceye kadar titre edilir. Bu noktada çözeltiye % 1'lik nişasta çözeltisinden yaklaşık 1 mL ilave edilir. Titrasyona koyu mavi

nişasta - iyot kompleksinin renginin Cr III iyonlarının açık mavi-yeşil rengine dönene kadar devam edilir.

- 4) 25 mL $K_2Cr_2O_7$ çözeltisi ve 25 mL saf su karışımına 0,5 - 1,0 g KI konularak elde edilen blank çözeltisine de aynı işlemler uygulanır.

Hesaplamalar

Blank ve örnek için sarfedilen tiyosülfat miktarları arasındaki fark, örnekteki alkol ile tüketilen dikromatın milieşdeğerliğini verir. Buna göre etil alkol ile potasyum dikromat çözeltisi arasındaki reaksiyon şu şekildedir.



$$(V_{\text{blank}} - V_{\text{örnek}}) \times N_{Na_2S_2O_3} = \text{Milieşdeğer } K_2Cr_2O_7 \text{ (etil alkolle reaksiyona giren)}$$

Yukarıdaki reaksiyon stokiometrisine göre 3 mol C_2H_5OH için 2 mol $K_2Cr_2O_7$ gerekli.

$$1 \text{ mol } K_2Cr_2O_7 = 6 \text{ eşdeğer}$$

$$2 \text{ mol } K_2Cr_2O_7 = 12 \text{ eşdeğer}$$

$$3 \text{ mol } C_2H_5OH = 12 \text{ eşdeğer } K_2Cr_2O_7 \text{ ile reaksiyona girer.}$$

$$1 \text{ mol } C_2H_5OH = 4 \text{ eşdeğer } K_2Cr_2O_7 \text{ ile reaksiyona girer.}$$

Buna göre örnek bir hesaplama aşağıdaki gibidir.

Örnek Hesaplama

0,5 mL numune için yapılan etil alkol analizi için ;

Blank için harcanan tiyosülfat = 11,6 mL.

Örnek için harcanan tiyosülfat = 7,5 mL.

$$(11,6 - 7,5) \times 0,1 = 0,41 \text{ milieşdeğer} = 0,41 \times 10^{-3} \text{ eşdeğer } K_2Cr_2O_7$$

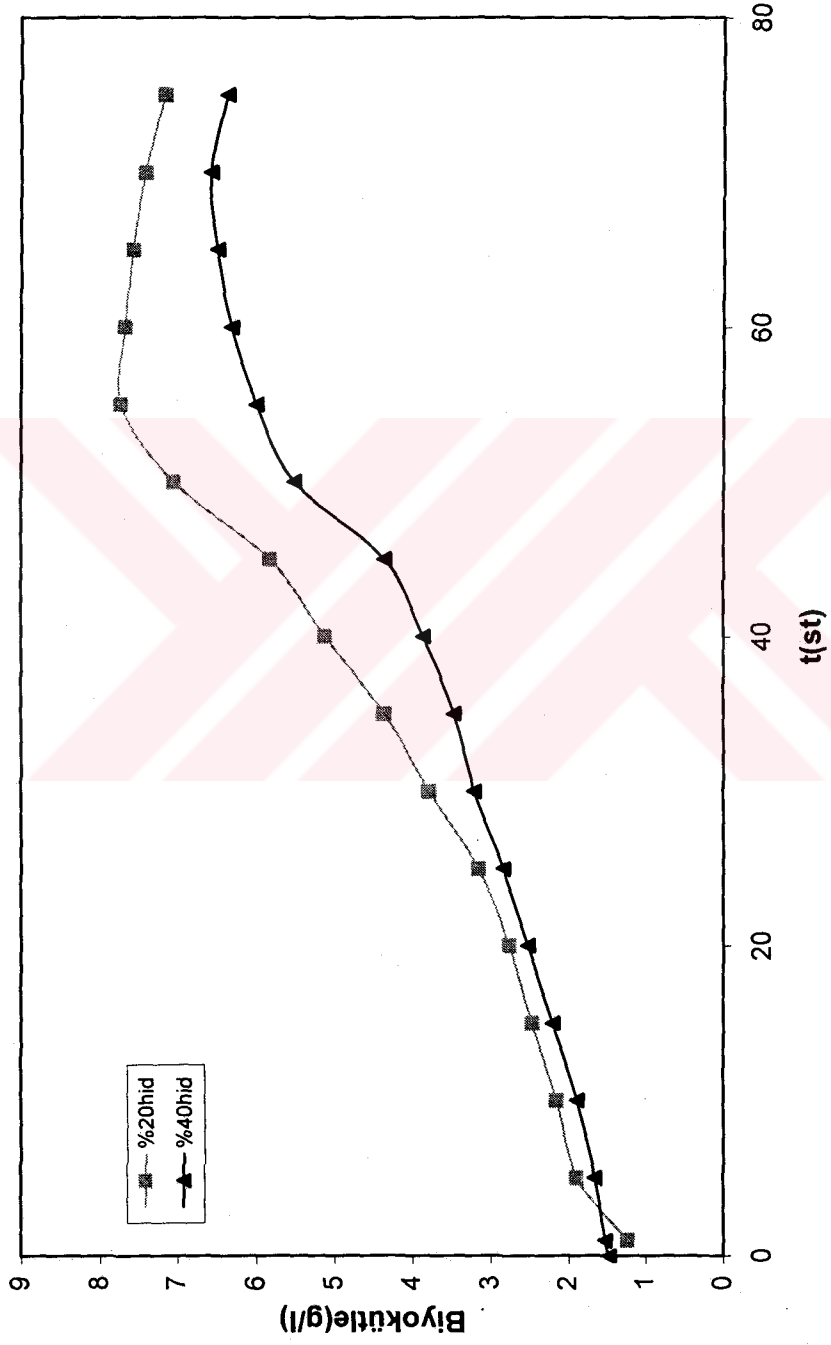
$$(0,41 \times 10^{-3} \text{ eşdeğer } K_2Cr_2O_7) \times (1 \text{ mol } C_2H_5OH / 4 \text{ eşdeğer } K_2Cr_2O_7)$$

$$= 1,025 \times 10^{-4} \text{ mol } C_2H_5OH$$

$$m_{C_2H_5OH} = \{ (1,05 \times 10^{-4} \times 46) / 0,5 \} \times 1000 = 9,66 \text{ g/L } C_2H_5OH$$

EK-5

% 20 ve % 40 Hidrolizat İçeren Büyüme Ortamında *Pichia stipitis* NRRL Y-124 Mayasına Ait Büyüme Eğrisi



Şekil E5.1 %20 ve %40 oranında hidrolizat içeren büyüme ortamlarına ait büyüme eğrileri

EK-6

30 g/L İndirgen Şeker İçeren Ayçiçeği Kabuğu Hidrolizatı
İle Fermantasyon Deney Sonuçları

Çizelge E6.1 Sentetik D-Ksiloz ile fermantasyon deney sonuçları
pH=6, Karıştırma hızı 70 rpm, 30°C

Zaman(st)	Biyokütle(g/l)	Ksiloz(g/l)	Etanol(g/l)
0	1,07	30,000	----
24	1,44	26,440	4,54
46	2,75	15,869	6,918
72	4,07	2,598	10,161
96	3,92	0,587	11,026
120	4,5	0,507	11,026
144	5,84	0,103	10,160

Çizelge E6.2 CaO ile pH=10'a aşırı titrasyon ön işlemi görmüş hidrolizat ile
fermantasyon deney sonuçları
pH=6, Karıştırma hızı 70 rpm, 30°C

Zaman(st)	Biyokütle(g/l)	Ksiloz(g/l)	Etanol(g/l)
0	1,978	29,03	-----
24	2,890	23,82	1,83
48	4,090	21,2	1,37
72	3,798	19,98	5,25
96	4,635	11,52	3,88
120	4,963	8,34	5,47
144	5,850	7,11	4,79
168	8,308	5,77	4,79
192	8,630	6,71	4,14
216	5,287	3,82	2,99
240	4,960		3,91

Çizelge E6.3 CaO ile pH=10'a aşırı titrasyon + Na₂SO₃ ön işlemi görmüş hidrolizat ile fermantasyon deney sonuçları
pH=6, Karıştırma hızı 70 rpm, 30°C

Zaman(st)	Biyokütle(g/l)	Ksiloz(g/l)	Etanol(g/l)
0	1,934	26,02	-----
24	2,708	22,60	2,97
48	2,984	16,61	2,97
72	3,610	15,64	3,88
96	3,788	11,49	6,16
120	5,373	8,45	5,47
144	6,474	7,22	5,70
168	7,466	6,00	5,02
192	10,140	6,00	5,52
216	4,550	4,80	4,60
240	4,300		4,37

Çizelge E6.4 CaO ile pH=10'a aşırı titrasyon + Aktif Karbon ön işlemi görmüş hidrolizat ile fermantasyon deney sonuçları
pH=6, Karıştırma hızı 70 rpm, 30°C

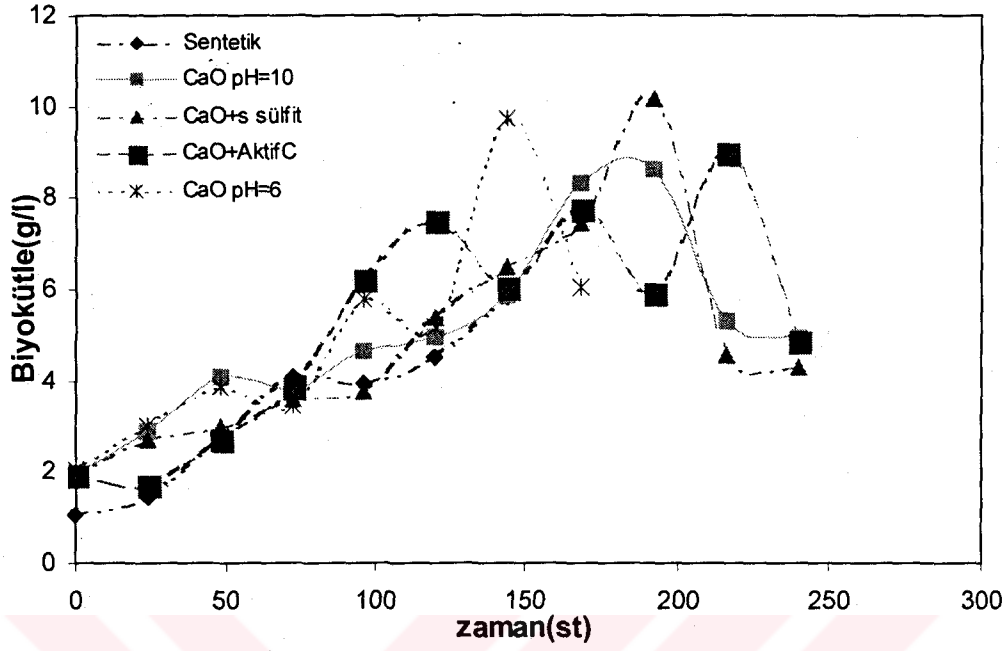
Zaman(st)	Biyokütle(g/l)	Ksiloz(g/l)	Etanol(g/l)
0	1,912	24,324	-----
24	1,713	20,020	3,19
48	2,710	18,971	2,51
72	3,870	14,270	4,79
96	6,230	12,530	4,11
120	7,510	11,600	4,56
144	6,064	10,835	3,42
168	7,768	9,570	3,65
192	5,930	3,460	4,83
216	8,977	1,720	5,06
240	4,880		2,99

Çizelge E6.5 CaO ile pH=6'a nötrale edilmiş hidrolizat ile fermantasyon deney sonuçları
pH=6, Karıştırma hızı 70 rpm, 30°C

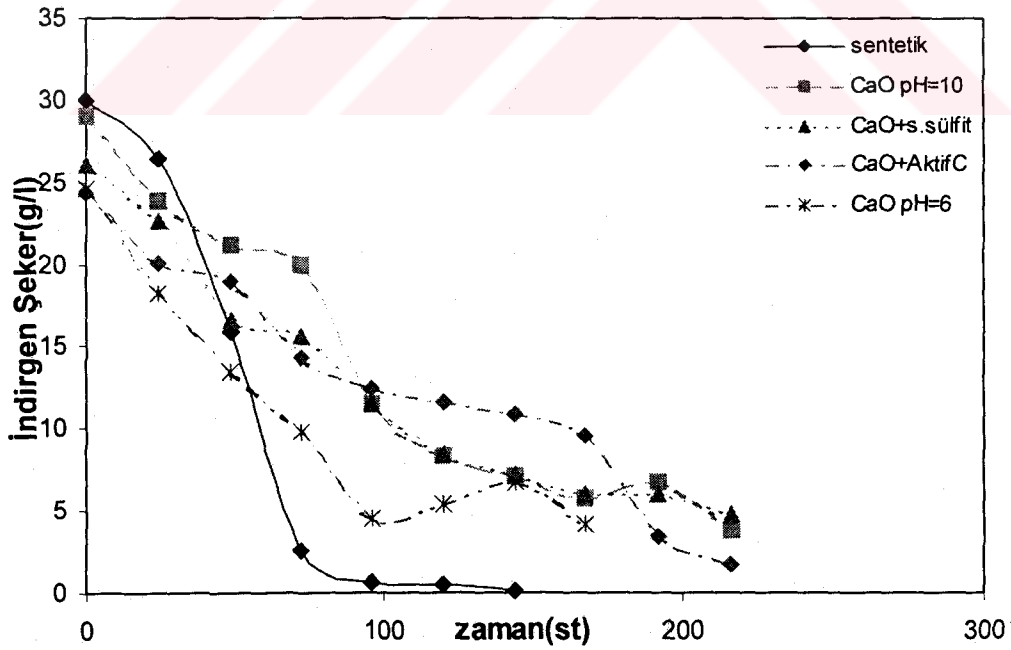
Zaman(st)	Biyokütle(g/l)	Ksiloz(g/l)	Etanol(g/l)
0	2,056	24,613	-----
24	3,030	18,176	3,65
48	3,870	13,440	3,88
72	3,453	9,786	4,34
96	5,760	4,540	4,79
120	5,180	5,410	4,34
144	9,710	6,720	3,88
168	6,042	4,144	3,19

EK-7

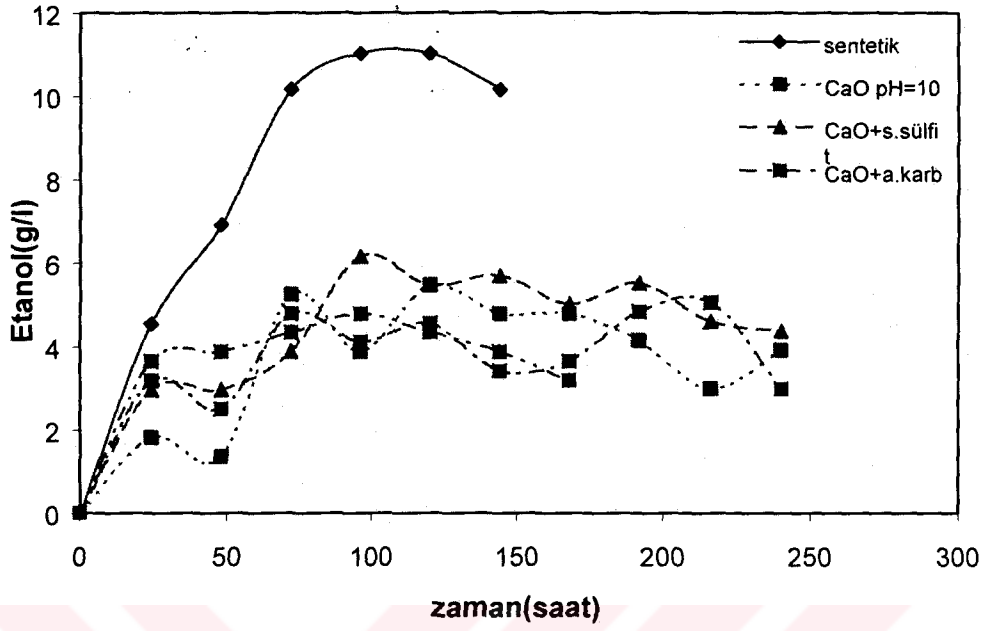
30 g/L İndirgen Şeker İçeren Ayçiçeği Kabuğu Hidrolizatı
İle Fermantasyonuna Ait Konsantrasyon-Zaman Grafikleri



Şekil E7.1 30 g/L indirgen şeker içeren hidrolizatın fermantasyonunda ön işlemlerin biyokütle büyümesine etkisi



Şekil E7.2 30 g/L indirgen şeker içeren hidrolizatın fermantasyonunda indirgen şeker konsantrasyonu



Şekil E7.3 30 g/L indirgen şeker içeren hidrolizatın fermantasyonunda etanol konsantrasyonu

EK-8

48 g/L İndirgen Şeker İçeren Ayçiçeği Kabuğu Hidrolizatı
İle Fermantasyon Deney Sonuçları

Çizelge E8.1 Sentetik D-Ksiloz ile fermantasyon deney sonuçları

pH=6, karıştırma hızı 70 rpm, 30°C

Zaman(st)	Biyokütle(g/l)	Ksiloz(g/l)	Etanol(g/l)
0	1,095	47,516	---
21	1,82	42,34	4,414
41	2,9	40,1	5,06
68	5,784	29,93	9,292
96	8,12	13,42	11,615
118	8,95	0,853	16,33
142	8,87	0,781	16,33
166	9,43	---	16,34
189	8,18	0,35	12,5

Çizelge E8.2 CaO ile pH=10'a aşırı titrasyon ön işlemi görmüş hidrolizat ile fermantasyon deney sonuçları

pH=6, karıştırma hızı 70 rpm, 30°C

Zaman(st)	Biyokütle(g/l)	Ksiloz(g/l)	Etanol(g/l)
0	1,735	42,32	---
24	2,84	40,642	4,4137
49	3,205	37,35	5,29
69	4,123	33,35	5,34
96	6,14	34,92	6,04
118	6,71	19,27	7,59
142	9,93	22,7	7,59
166	11,55	10,051	7,21
189	13,25	7,11	5,5
216	14,76	8,57	2,644

Çizelge E8.3 CaO ile pH=10'a aşırı titrasyon + Na₂SO₃ ön işlemi görmüş
hidrolizat ile fermantasyon deney sonuçları
pH=6, karıştırma hızı 70 rpm, 30°C

Zaman(st)	Biyokütle(g/l)	Ksiloz(g/l)	Etanol(g/l)
0	1,945	47,27	---
24	3,695	37,76	4,1814
49	3,53	31,68	4,6
69	3,78	31,37	5,34
96	5,85	30,24	3,02
118	7,2	23,41	6,44
142	9,797	17,127	8,51
166	9,97	13,3	8,3
189	11,61	9,97	3,36
216	7,55	7,45	4,3263

Çizelge E8.4 CaO ile pH=10'a aşırı titrasyon + Aktif Karbon ön işlemi
görmüş hidrolizat ile fermantasyon deney sonuçları
pH=6, karıştırma hızı 70 rpm, 30°C

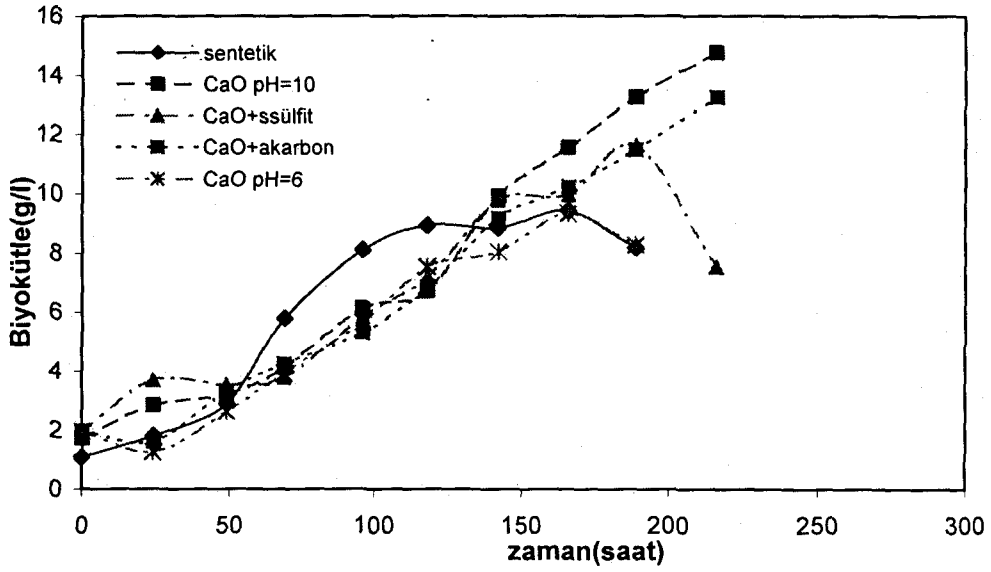
Zaman(st)	Biyokütle(g/l)	Ksiloz(g/l)	Etanol(g/l)
0	1,987	43,47	---
24	1,62	40,23	4,646
49	3,33	36,18	5,06
69	4,233	35,64	5,58
96	5,3	32,36	6,04
118	6,862	24,26	6,67
142	9,193	21,76	7,36
166	10,23	13,96	7,7
189	11,48	9,5	6,25
216	13,25	8,96	3,8456

Çizelge E8.5 CaO ile pH=6'a nötrale edilmiş hidrolizat ile fermantasyon deney sonuçları
pH=6, karıştırma hızı 70 rpm, 30°C

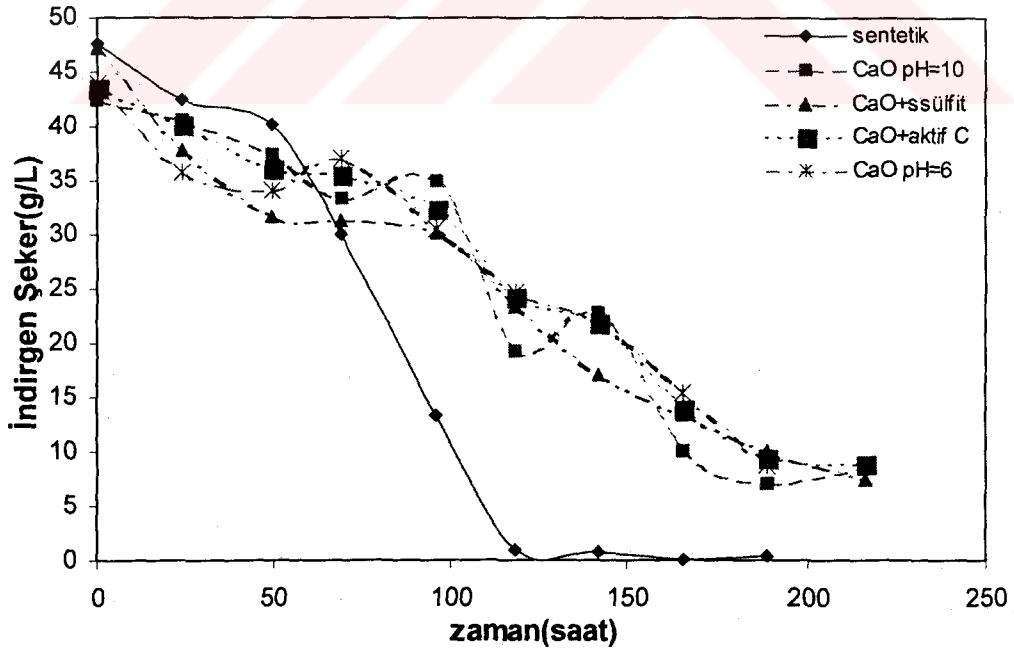
Zaman(st)	Biyokütle(g/l)	Ksiloz(g/l)	Etanol(g/l)
0	1,962	43,87	---
21	1,27	35,78	3,72
41	2,63	34,16	4,6
68	3,92	37,035	5,58
96	5,65	30,602	6,272
118	7,55	24,664	6,44
142	8,07	21,901	7,82
166	9,34	15,32	7,21
192	8,28	8,74	7,93

EK-9

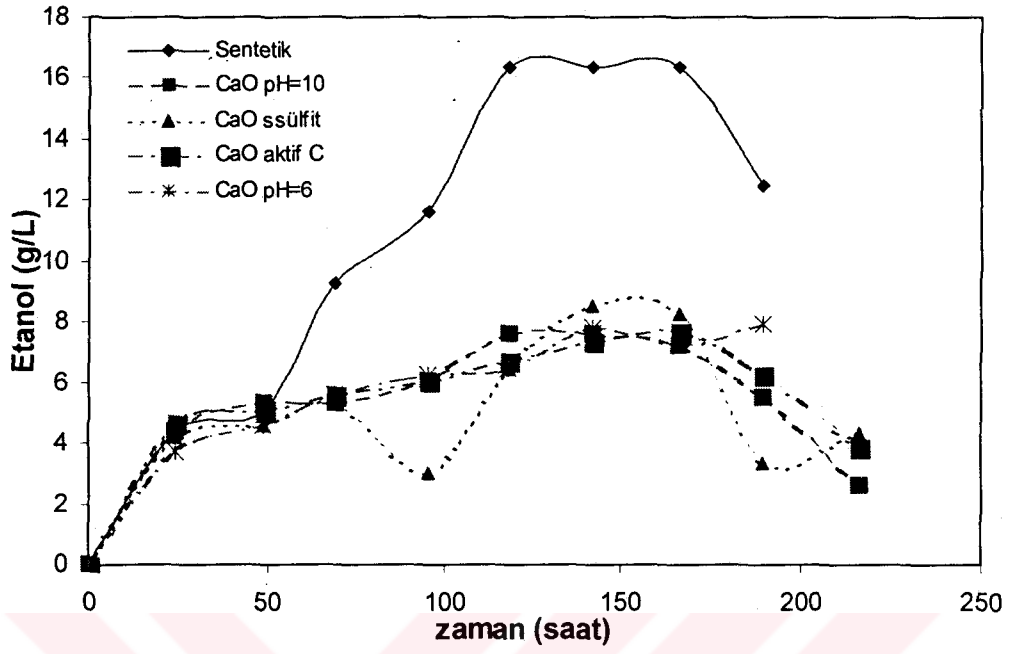
48 g/L İndirgen Şeker İçeren Ayçiçeği Kabuğu Hidrolizatı
İle Fermantasyonuna Ait Konsantrasyon-Zaman Grafikleri



Şekil E9.1 48 g/L İndirgen şeker içeren hidrolizatın fermantasyonunda ön işlemlerin biyokütle büyümesine etkisi



Şekil E9.2 48 g/L İndirgen şeker içeren hidrolizatın fermantasyonunda indirgen şeker konsantrasyonu



Şekil E9.3 48 g/L İndirgen şeker içeren hidrolizatın fermantasyonunda etanol konsantrasyonu

EK-10

**Ayçiçeği Kabuğu Hidrolizatına Mikroorganizma
Adaptasyonu İle Fermantasyon Deney Sonuçları**

Çizelge E10.1 CaO ile pH=10'a aşırı titrasyon ön işlemi görmüş hidrolizatın
adapte mikroorganizma ile fermantasyonu
pH=6, Karıştırma Hızı=70 rpm, 30°C

Zaman(st)	Biyokütle(g/l)	Ksiloz(g/l)	Etanol(g/l)
0	3,578	44,285	---
16	3,440	39,330	2,486
22	4,112	37,125	3,890
46	4,034	32,087	4,540
70	4,596	30,827	5,189
94	5,647	27,183	5,405
116	6,913	26,014	6,486
142	5,865	19,728	7,135
166	7,500	14,678	9,513
190	7,974	11,800	7,567
216	7,830	10,084	5,620

Çizelge E10.2 CaO ile pH=10'a aşırı titrasyon+Na₂SO₃ ön işlemi görmüş
hidrolizatın adapte mikroorganizma ile fermantasyonu
pH=6, Karıştırma Hızı=70 rpm, 30°C

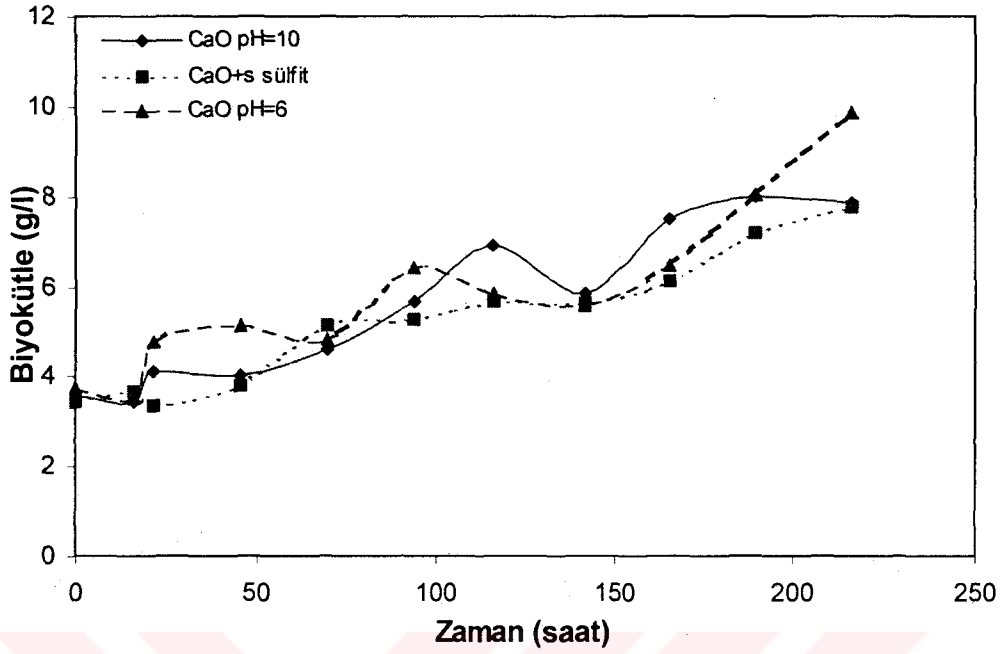
Zaman(st)	Biyokütle(g/l)	Ksiloz(g/l)	Etanol(g/l)
0	3,445	45,000	---
16	3,655	41,062	2,810
22	3,361	41,030	3,460
46	3,813	38,295	3,890
70	5,112	35,326	4,973
94	5,268	30,827	5,837
116	5,650	26,374	6,486
142	5,625	25,384	6,486
166	6,120	18,500	8,216
190	7,184	13,688	9,513
216	7,766	13,000	6,918

Çizelge E10.3 CaO ile pH=6'a titrasyon ön işlemi görmüş hidrolizatın adapte mikroorganizma ile fermantasyonu
pH=6, Karıştırma Hızı=70 rpm, 30°C

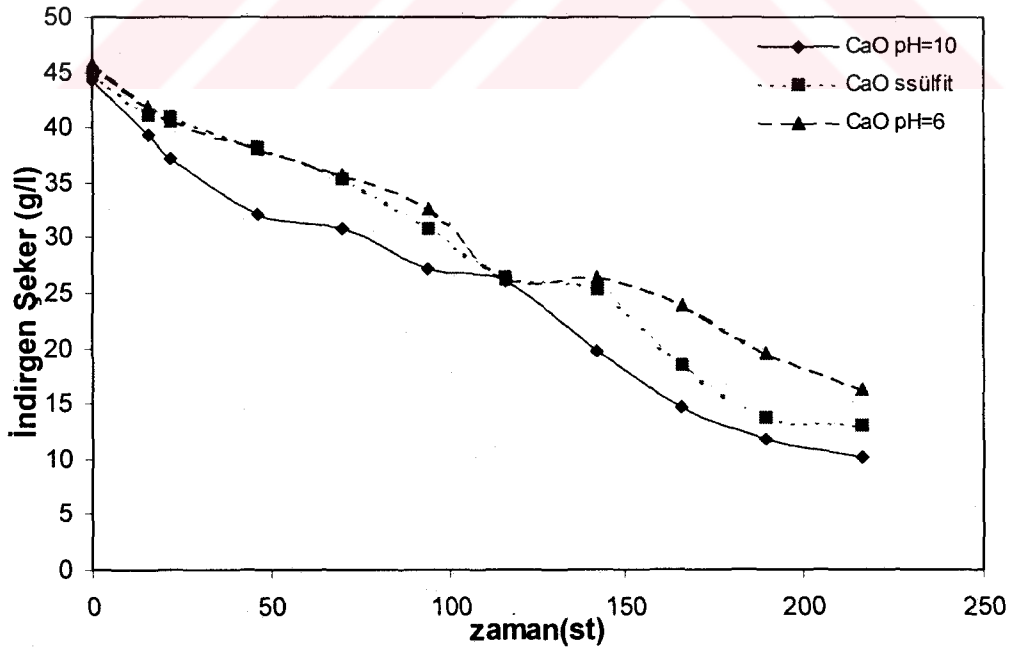
Zaman(st)	Biyokütle(g/l)	Ksiloz(g/l)	Etanol(g/l)
0	3,763	45,705	-----
16	3,508	41,890	2,810
22	4,764	40,600	3,243
46	5,121	37,980	3,243
70	4,810	35,641	4,973
94	6,407	32,627	4,756
116	5,842	26,329	5,189
142	5,580	26,458	5,62
166	6,480	23,945	6,054
190	8,011	19,540	4,702
216	9,855	16,370	4,973

EK-11

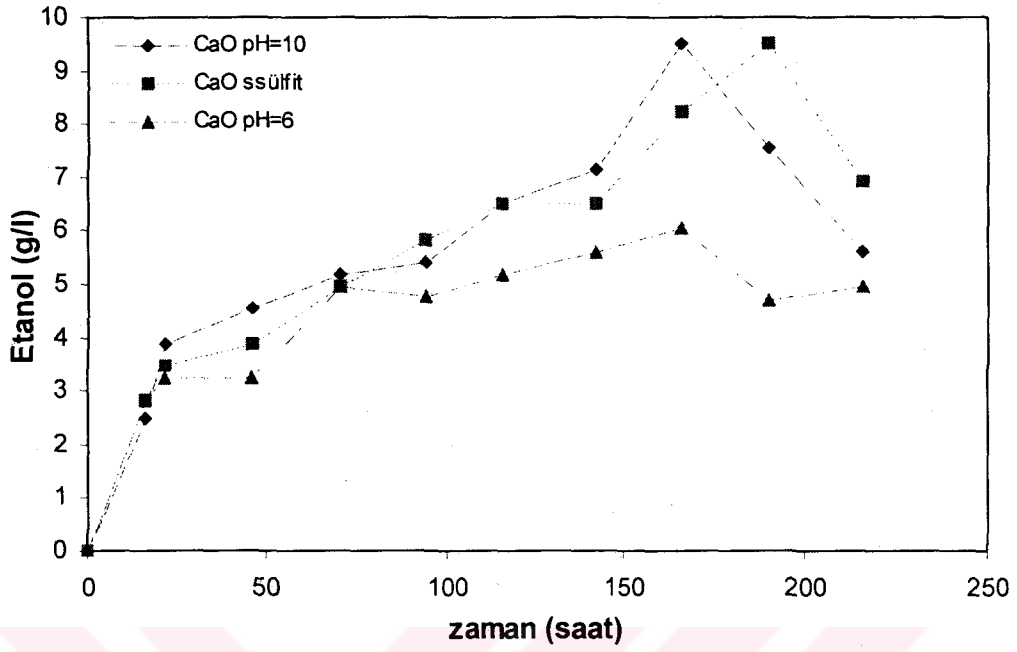
Ayçiçeği Kabuğu Hidrolizatına Mikroorganizma
Adaptasyonu İle Fermantasyonuna Ait Konsantrasyon-
Zaman Grafikleri



Şekil E11.1 Ayçiçeği kabuğu hidrolizatının adapte edilmiş mikroorganizma ile fermantasyonunda farklı ön işlemlerin biyokütle konsantrasyonuna etkisi



Şekil E11.2 Ayçiçeği kabuğu hidrolizatının adapte edilmiş mikroorganizma ile fermantasyonunda farklı ön işlemlerin indirgen şeker konsantrasyonuna etkisi



Şekil E11.3 Ayçiçeği kabuğu hidrolizatının adapte edilmiş mikroorganizma ile fermentasyonunda farklı ön işlemlerin etanol konsantrasyonuna etkisi

EK-12

Ayçiçeği Kabuğu Hidrolizatının Fermantasyonuna
pH ve alkalama Hızının Etkisi

Çizelge E12.1 Ayçiçeği kabuğu hidrolizatının *Pichia stipitis* ile

fermantasyonu

pH=6, Karıştırma Hızı=70 rpm,

Fermantasyan Hacmi 135 mL

Zaman(st)	Biyokütle(g/l)	Ksiloz(g/l)	Etanol(g/l)
0	1,95	47,27	-----
24	3,70	37,76	4,18
49	3,53	31,68	4,60
69	3,78	31,37	5,34
96	5,85	30,24	3,02
118	7,20	23,41	6,44
142	9,80	17,13	8,51
166	9,97	13,30	8,30
189	11,61	9,97	3,36
216	7,55	7,45	4,33

Çizelge E12.2 Ayçiçeği kabuğu hidrolizatının *Pichia stipitis* ile

fermantasyonu

pH=6, Karıştırma Hızı=100 rpm,

Fermantasyan Hacmi 135 mL

Zaman(st)	Biyokütle(g/l)	Ksiloz(g/l)	Etanol(g/l)
0	-	48,00	-----
24	2,28	39,19	3,00
51	2,44	35,75	4,37
72	6,24	34,05	5,75
97	7,59	31,09	7,36
120	9,78	26,64	7,13
144	10,23	20,06	8,51
168	10,55	13,66	11,04
192	10,52	12,46	9,90
216	16,12	11,05	8,37

Çizelge E12.3 Ayçiçeği kabuğu hidrolizatının *Pichia stipitis* ile
fermantasyonu
pH=6, Karıştırma Hızı=130 rpm,
Fermantasyan Hacmi 135 mL

Zaman(st)	Biyokütle(g/l)	Ksiloz(g/l)	Etanol(g/l)
0	2,514	48,00	-----
25	4,26	41,50	3,22
48	5,86	39,91	4,83
72	8,44	34,85	4,83
96	14,53	23,46	7,59
120	14,58	12,75	8,97
144	18,09	9,38	6,90
168	22,84	9,89	6,44

Çizelge E12.4 Ayçiçeği kabuğu hidrolizatının *Pichia stipitis* ile
fermantasyonu
pH=5,5, Karıştırma Hızı=100 rpm,
Fermantasyan Hacmi 135 mL

Zaman(st)	Biyokütle(g/l)	Ksiloz(g/l)	Etanol(g/l)
0	1,73	48,00	-----
24	1,82	36,00	2,76
48	2,61	30,47	4,60
72	2,77	26,78	5,98
97	4,74	19,12	7,13
120	5,03	12,90	8,97
144	6,32	7,40	9,66
168	9,84	4,58	8,74
192	8,62	3,20	8,51

Çizelge E12.5 Ayçiçeği kabuğu hidrolizatının *Pichia stipitis* ile
fermantasyonu
pH=6,5, Karıştırma Hızı=100 rpm,
Fermantasyan Hacmi 135 mL

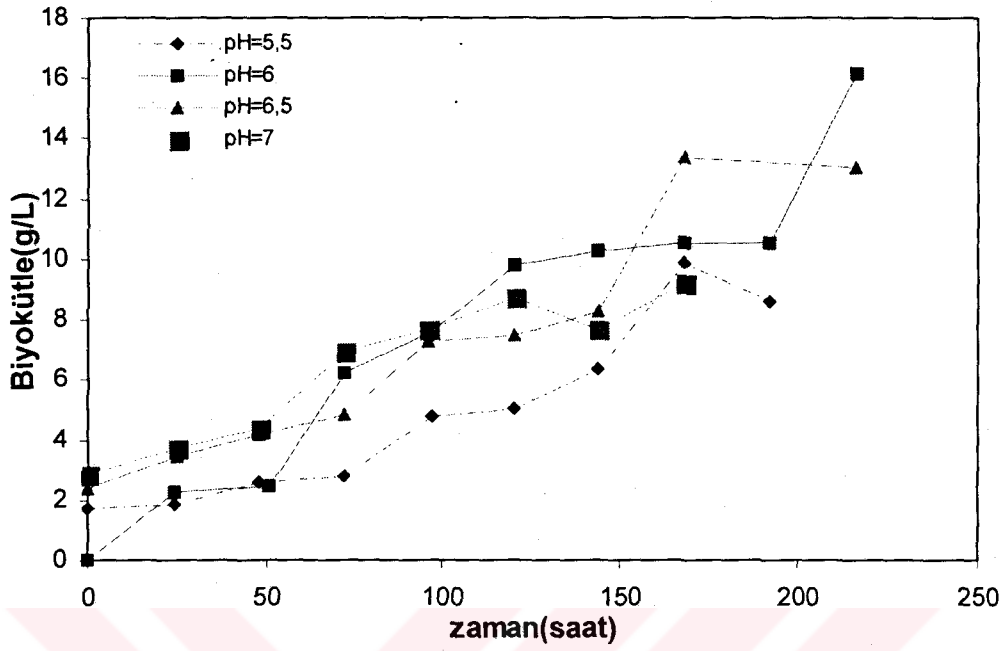
Zaman(st)	Biyokütle(g/l)	Ksiloz(g/l)	Etanol(g/l)
0	2,39	48,00	----
25	3,46	39,59	3,91
48	4,17	39,44	5,98
72	4,83	36,29	4,83
96	7,26	30,80	5,29
120	7,50	24,04	8,28
144	8,26	18,68	8,51
168	13,34	11,56	8,05
195	--	7,36	9,43
216	13,05	5,74	7,82

Çizelge E12.6 Ayçiçeği kabuğu hidrolizatının *Pichia stipitis* ile
fermantasyonu
pH=7, Karıştırma Hızı=100 rpm,
Fermantasyan Hacmi 135 mL

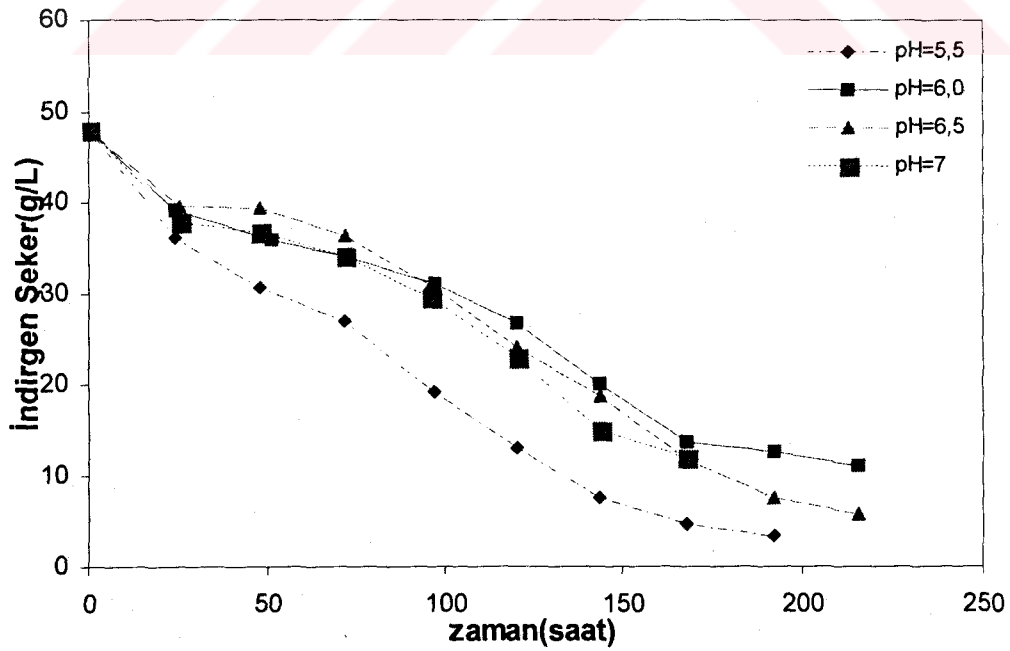
Zaman(st)	Biyokütle(g/l)	Ksiloz(g/l)	Etanol(g/l)
0	2,88	48,00	----
25	3,72	37,89	4,37
48	4,37	36,76	4,37
72	6,94	34,16	6,67
96	7,66	29,42	8,05
120	8,76	22,84	8,28
144	7,64	14,96	10,81
168	9,22	11,92	8,97

EK-13

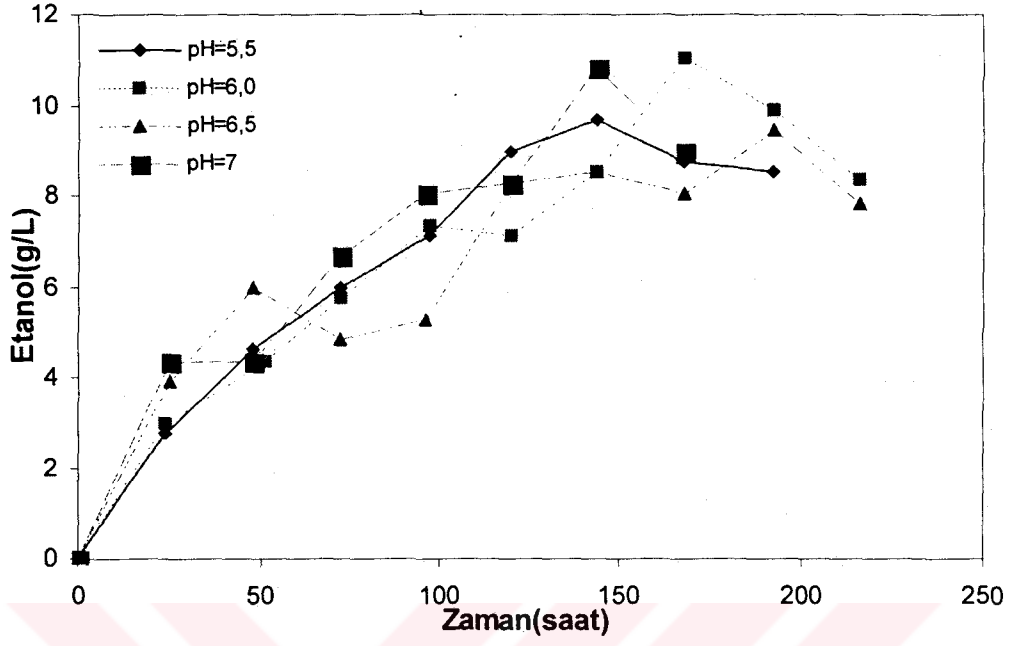
Ayçiçeği Kabuğu Hidrolizatının Farklı pH ve alkalama
Hızlarındaki Fermantasyonuna Ait Konsantrasyon-Zaman
Grafikleri



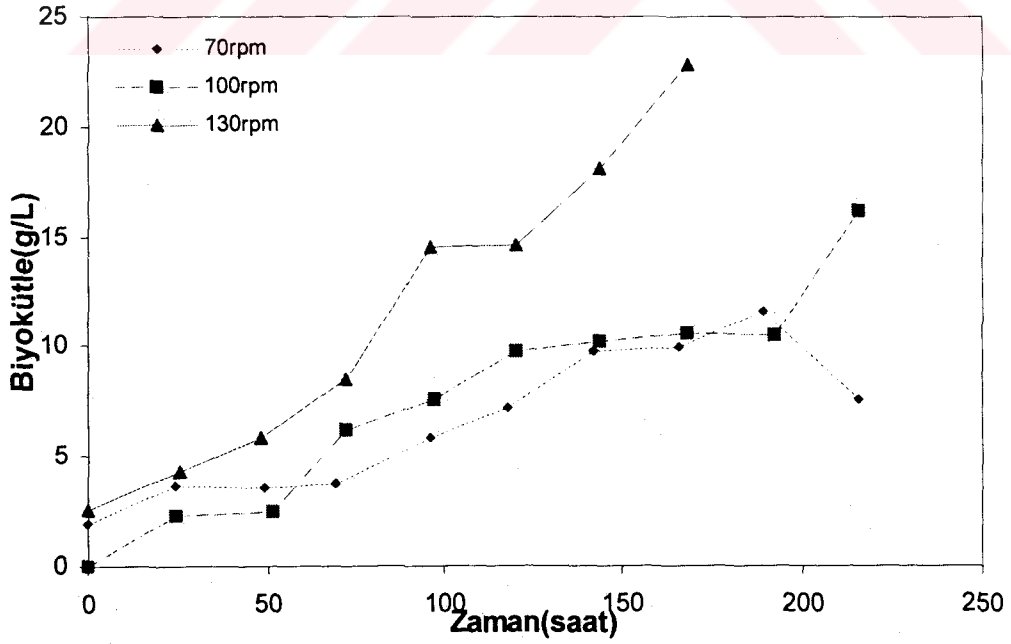
Şekil E13.1 Ayçiçeği kabuğu hidrolizatının fermantasyonunda pH'ın biyokütle konsantrasyonuna etkisi(100rpm)



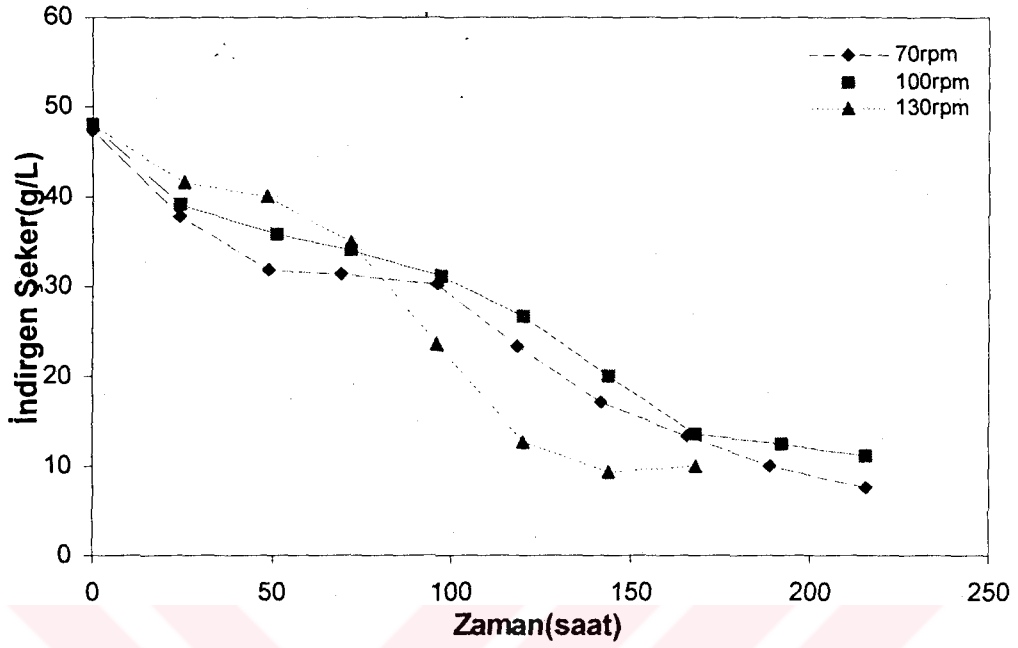
Şekil E13.2 Ayçiçeği kabuğu hidrolizatının fermantasyonunda pH'ın indirgen şeker konsantrasyonuna etkisi(100rpm)



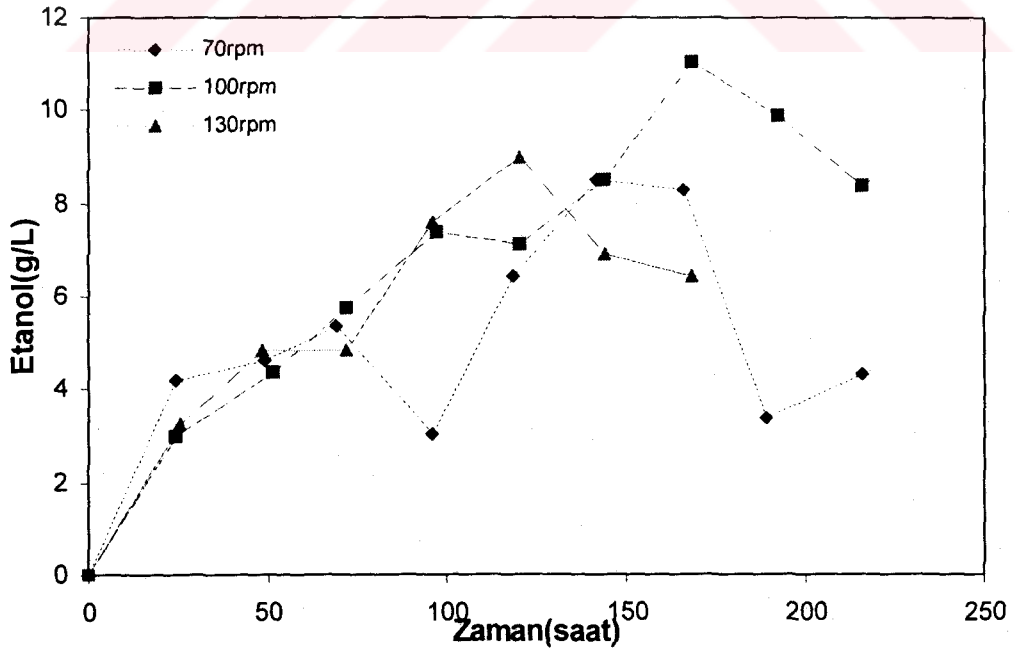
Şekil E13.3 Ayçiçeği kabuğu hidrolizatının fermantasyonunda pH'ın etanol konsantrasyonuna etkisi(100rpm)



Şekil E13.4 Ayçiçeği kabuğu hidrolizatının fermantasyonunda çalkalama hızının biyokütle konsantrasyonuna etkisi (pH=6)



Şekil E13.5 Ayçiçeği kabuğu hidrolizatının fermantasyonunda çalkalama hızının indirgen şeker konsantrasyonuna etkisi (pH=6)



Şekil E13.6 Ayçiçeği kabuğu hidrolizatının fermantasyonunda çalkalama hızının etanol konsantrasyonuna etkisi (pH=6)

EK-14

**Ayçiçeği Kabuğu Hidrolizatının Fermentör
Sistemindeki Deney Sonuçları**

Çizelge E14.1 25 g/L indirgen şeker içeren ayçiçeği kabuğu hidrolizatı ile
fermantasyon deney sonuçları

Karıştırma Hızı=100rpm, pH=6, 30 °C
Oksijen Transfer Hızı = 0,576 vvm

Zaman(st)	Biyokütle(g/l)	Ksiloz(g/l)	Etanol(g/l)
0	3,2	25	--
2	3,33	25,083	1,38
4	3,76	26,240	1,15
19	3,96	24,870	0,92
23	5,71	22,300	1,61
28	4,71	22,624	2,99
43	5,50	18,031	2,30
48	5,35	18,720	3,22
52	7,05	18,250	3,45
67	4,75	8,550	3,68
76	2,97	9,600	4,14

Çizelge E14.2 35 g/L indirgen şeker içeren ayçiçeği kabuğu hidrolizatı ile
fermantasyon deney sonuçları

Karıştırma Hızı=100rpm, pH=6, 30 °C
Oksijen Transfer Hızı = 0,576 vvm

Zaman(st)	Biyokütle(g/l)	Ksiloz(g/l)	Etanol(g/l)
0	2,495	35	-----
2	2,95	33,184	0,46
4	3,72	31,412	0,92
6	3,078	32,75	0,46
21	5,45	29,604	2,07
25	5,374	28,483	3,22
30	7	25,083	4,14
45	5,963	12,932	6,67
49	5,493	7,688	4,83
54	6,288	8,16	4,6

Çizelge E14.3 45 g/L indirgen şeker içeren ayçiçeği kabuğu hidrolizatı ile
fermantasyon deney sonuçları

Karıştırma Hızı=100rpm, pH=6, 30 °C
Oksijen Transfer Hızı = 0,576 vvm

Zaman(st)	Biyokütle(g/l)	Ksiloz(g/l)	Etanol(g/l)
0	2,10	45	-----
2	2,15	38,39	0,69
4	2,10	41,90	2,53
6	1,95	40,78	1,38
21	3,35	40,50	1,61
25	3,09	39,12	1,84
30	3,83	39,51	1,38
45	4,50	40,19	1,61
50	5,10	38,57	2,30
53	5,66	38,00	3,22
71	5,60	32,35	5,29
80	7,47	24,80	5,98
97	6,87	8,56	8,74
120	6,60	7,8	6,44

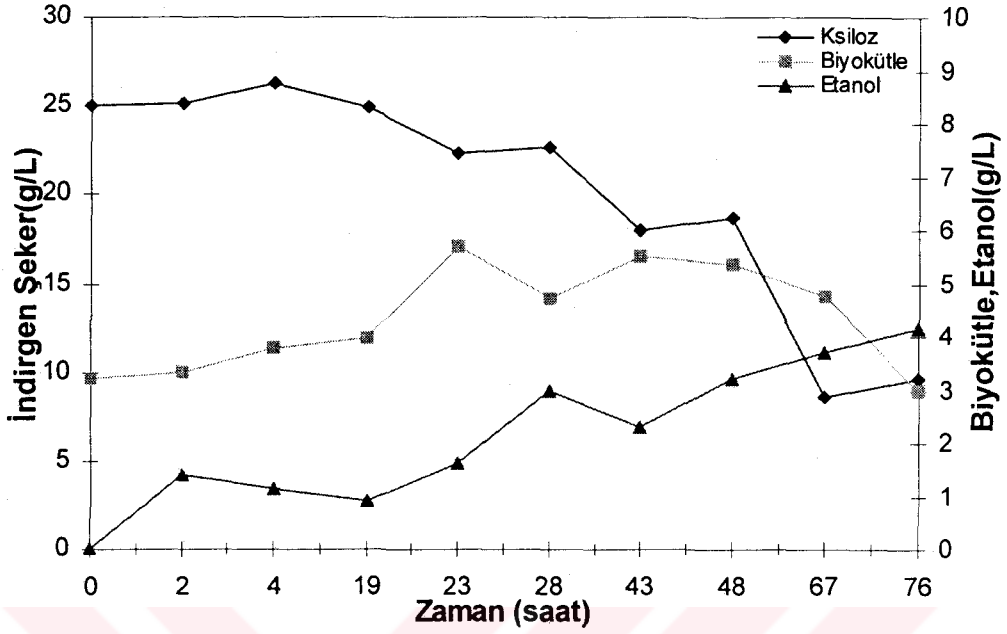
Çizelge E14.4 55 g/L indirgen şeker içeren ayçiçeği kabuğu hidrolizatı ile
fermantasyon deney sonuçları

Karıştırma Hızı=100rpm, pH=6, 30 °C
Oksijen Transfer Hızı = 0,576 vvm

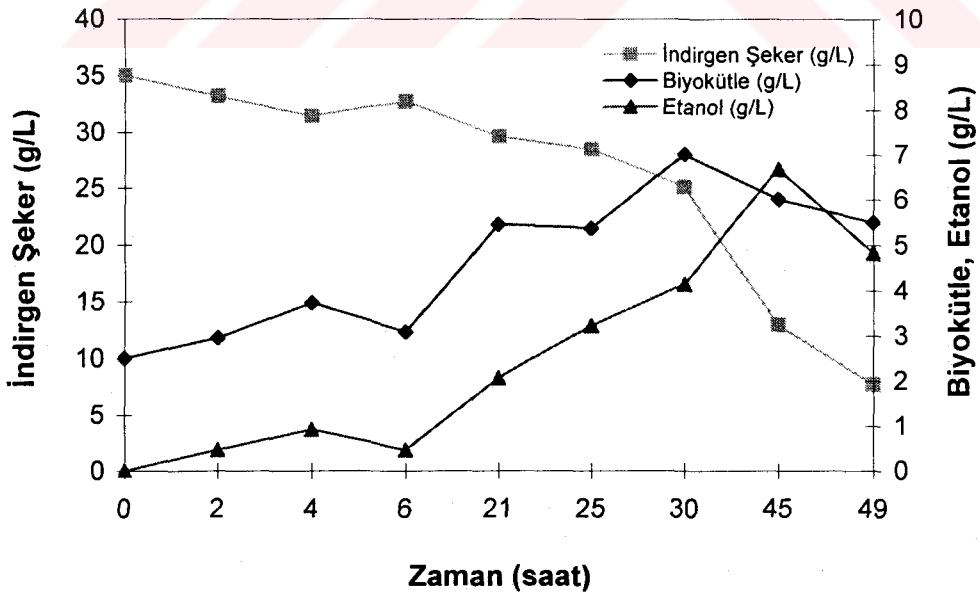
Zaman(st)	Biyokütle(g/l)	Ksiloz(g/l)	Etanol(g/l)
0	1,986	55	-----
2	1,934	47,72	0,46
4	2,371	47,07	0,92
7	2,845	49,75	0,23
22	3,422	49,58	0,46
32	4,342	46,85	0,46
48	5,207	47,72	0,92
69	4,967	36,40	4,26
93	4,570	8,92	10,81
102	4,707	8,30	10,12

EK-15

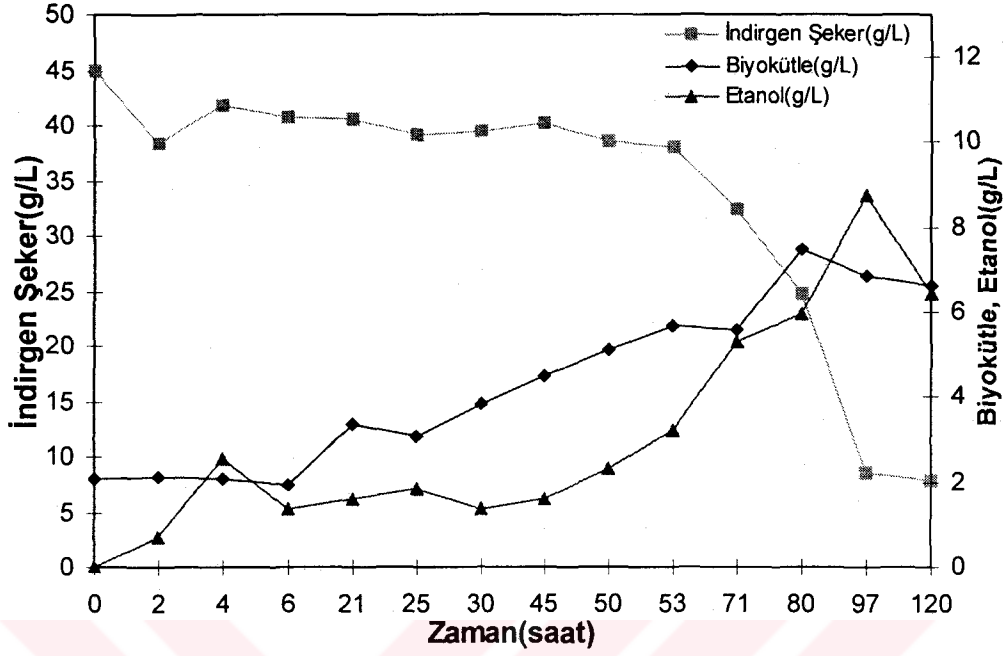
**Ayçiçeği Kabuğu Hidrolizatının Fermentör Sistemindeki
Deneylerine Ait Konsantrasyon-Zaman Grafikleri**



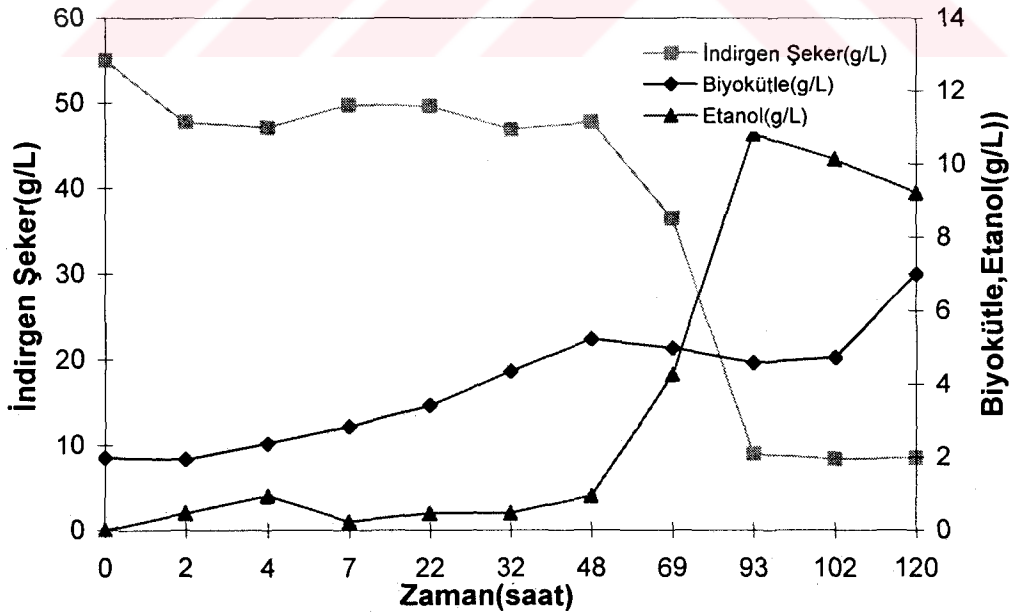
Şekil E15.1 25 g/L indirgen şeker içeren ayçiçeği kabuğu hidrolizatının fermantasyonuna ait konsantrasyon-zaman grafiği



Şekil E15.2 35 g/L indirgen şeker içeren ayçiçeği kabuğu hidrolizatının fermantasyonuna ait konsantrasyon-zaman grafiği



Şekil E15.3 45 g/L indirgen şeker içeren ayçiçeği kabuğu hidrolizatının fermantasyonuna ait konsantrasyon-zaman grafiği



Şekil E15.4 55 g/L indirgen şeker içeren ayçiçeği kabuğu hidrolizatının fermantasyonuna ait konsantrasyon-zaman grafiği

EK-16

Substrat ve Biyokütle Konsantrasyonlarına Ait Lineer
Regresyon İstatistikleri

Regression

25 g/L

Variables Entered/Removed^b

Model	Variables Entered	Variables Removed	Method
1	S ^a		Enter

- a. All requested variables entered.
b. Dependent Variable: X

Model Summary

Model	R	R Square	Adjusted R Square	Std. Error of the Estimate
1	,964 ^a	,930	,912	,4446

- a. Predictors: (Constant), S

ANOVA^b

Model		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
1	Regression	10,430	1	10,430	52,762	,002 ^a
	Residual	,791	4	,198		
	Total	11,221	5			

- a. Predictors: (Constant), S
b. Dependent Variable: X

Coefficients^a

Model		Unstandardized Coefficients		Standardized Coefficients	t	Sig.
		B	Std. Error	Beta		
1	(Constant)	17,222	1,739		9,903	,001
	S	-,546	,075	-,964	-7,264	,002

- a. Dependent Variable: X

Regression

35 g/L

Variables Entered/Removed^a

Model	Variables Entered	Variables Removed	Method
1	S ^a		Enter

- a. All requested variables entered.
b. Dependent Variable: X

Model Summary

Model	R	R Square	Adjusted R Square	Std. Error of the Estimate
1	,982 ^a	,965	,958	,3409

- a. Predictors: (Constant), S

ANOVA^b

Model		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
1	Regression	16,077	1	16,077	138,345	,000 ^a
	Residual	,581	5	,116		
	Total	16,658	6			

- a. Predictors: (Constant), S
b. Dependent Variable: X

Coefficients^a

Model		Unstandardized Coefficients		Standardized Coefficients	t	Sig.
		B	Std. Error	Beta		
1	(Constant)	19,380	1,289		15,036	,000
	S	-,490	,042	-,982	-11,762	,000

- a. Dependent Variable: X

Regression

45 g/L

Variables Entered/Removed^b

Model	Variables Entered	Variables Removed	Method
1	S ^a		Enter

- a. All requested variables entered.
b. Dependent Variable: X

Model Summary

Model	R	R Square	Adjusted R Square	Std. Error of the Estimate
1	,980 ^a	,961	,953	,4261

- a. Predictors: (Constant), S

ANOVA^b

Model		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
1	Regression	22,160	1	22,160	122,025	,000 ^a
	Residual	,908	5	,182		
	Total	23,068	6			

- a. Predictors: (Constant), S
b. Dependent Variable: X

Coefficients^a

Model		Unstandardized Coefficients		Standardized Coefficients	t	Sig.
		B	Std. Error	Beta		
1	(Constant)	14,529	,973		14,939	,000
	S	-,282	,026	-,980	-11,047	,000

- a. Dependent Variable: X

Regression

55 g/L

Variables Entered/Removed^b

Model	Variables Entered	Variables Removed	Method
1	S ^a		Enter

- a. All requested variables entered.
- b. Dependent Variable: X

Model Summary

Model	R	R Square	Adjusted R Square	Std. Error of the Estimate
1	,975 ^a	,951	,927	,3392

- a. Predictors: (Constant), S

ANOVA^b

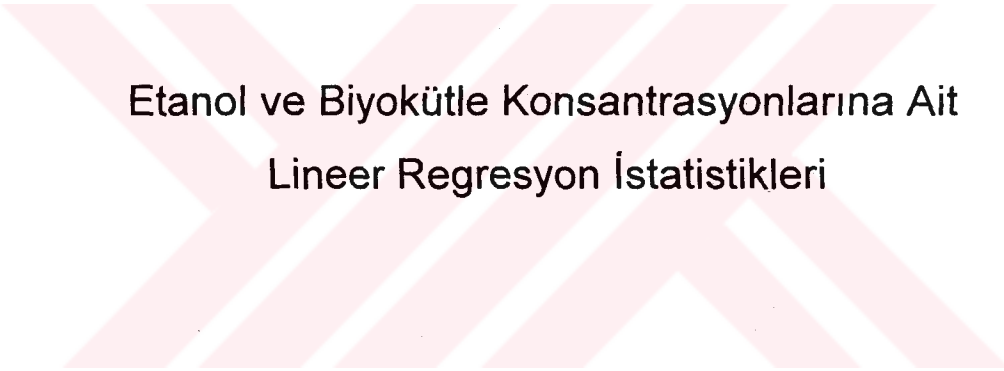
Model		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
1	Regression	4,497	1	4,497	39,091	,025 ^a
	Residual	,230	2	,115		
	Total	4,727	3			

- a. Predictors: (Constant), S
- b. Dependent Variable: X

Coefficients^a

Model		Unstandardized Coefficients		Standardized Coefficients	t	Sig.
		B	Std. Error	Beta		
1	(Constant)	10,666	1,189		8,967	,012
	S	-,154	,025	-,975	-6,252	,025

- a. Dependent Variable: X

EK-17

Etanol ve Biyokütle Konsantrasyonlarına Ait
Lineer Regresyon İstatistikleri

Regression

25 g/L

Variables Entered/Removed^b

Model	Variables Entered	Variables Removed	Method
1	X25 ^a		Enter

- a. All requested variables entered.
- b. Dependent Variable: P25

Model Summary

Model	R	R Square	Adjusted R Square	Std. Error of the Estimate
1	,965 ^a	,930	,907	,4006

- a. Predictors: (Constant), X25

ANOVA^b

Model		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
1	Regression	6,438	1	6,438	40,110	,008 ^a
	Residual	,482	3	,161		
	Total	6,919	4			

- a. Predictors: (Constant), X25
- b. Dependent Variable: P25

Coefficients^a

Model		Unstandardized Coefficients		Standardized Coefficients	t	Sig.
		B	Std. Error	Beta		
1	(Constant)	-2,582	,693		-3,728	,034
	X25	,834	,132	,965	6,333	,008

- a. Dependent Variable: P25

Regression

35 g/L

Variables Entered/Removed^b

Model	Variables Entered	Variables Removed	Method
1	X ^a		Enter

a. All requested variables entered.

b. Dependent Variable: P

Model Summary

Model	R	R Square	Adjusted R Square	Std. Error of the Estimate
1	,903 ^a	,815	,785	,8593

a. Predictors: (Constant), X

ANOVA^b

Model		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
1	Regression	19,560	1	19,560	26,489	,002 ^a
	Residual	4,431	6	,738		
	Total	23,990	7			

a. Predictors: (Constant), X

b. Dependent Variable: P

Coefficients^a

Model		Unstandardized Coefficients		Standardized Coefficients	t	Sig.
		B	Std. Error	Beta		
1	(Constant)	-2,630	,952		-2,763	,033
	X	1,044	,203	,903	5,147	,002

a. Dependent Variable: P

Regression

45 g/L

Variables Entered/Removed^b

Model	Variables Entered	Variables Removed	Method
1	X45 ^a		Enter

a. All requested variables entered.

b. Dependent Variable: P45

Model Summary

Model	R	R Square	Adjusted R Square	Std. Error of the Estimate
1	,918 ^a	,843	,823	,9618

a. Predictors: (Constant), X45

ANOVA^b

Model		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
1	Regression	39,701	1	39,701	42,916	,000 ^a
	Residual	7,401	8	,925		
	Total	47,102	9			

a. Predictors: (Constant), X45

b. Dependent Variable: P45

Coefficients^a

Model		Unstandardized Coefficients		Standardized Coefficients	t	Sig.
		B	Std. Error	Beta		
1	(Constant)	-2,570	,882		-2,914	,019
	X45	1,170	,179	,918	6,551	,000

a. Dependent Variable: P45

Regression

55 g/L

Variables Entered/Removed^b

Model	Variables Entered	Variables Removed	Method
1	X55 ^a		Enter

a. All requested variables entered.

b. Dependent Variable: P55

Model Summary

Model	R	R Square	Adjusted R Square	Std. Error of the Estimate
1	,956 ^a	,913	,896	1,0978

a. Predictors: (Constant), X55

ANOVA^b

Model		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
1	Regression	63,610	1	63,610	52,785	,001 ^a
	Residual	6,025	5	1,205		
	Total	69,635	6			

a. Predictors: (Constant), X55

b. Dependent Variable: P55

Coefficients^a

Model		Unstandardized Coefficients		Standardized Coefficients	t	Sig.
		B	Std. Error	Beta		
1	(Constant)	-3,916	,941		-4,163	,009
	X55	1,752	,241	,956	7,265	,001

a. Dependent Variable: P55

EK-18

Model 1'e Ait Lineer Olmayan Regresyon İstatistikleri

Non-linear Regression

25 g/L model 1

All the derivatives will be calculated numerically.

Iteration	Residual SS	A	B
1	4382,000000	,0000000000	,0000000000
1.1	382,3892474	10,2910480	24,6370047
2	382,3892474	10,2910480	24,6370047
2.1	212,6012517	17,6344763	33,0113112
3	212,6012517	17,6344763	33,0113112

Run stopped after 5 model evaluations and 3 derivative evaluations.
Iterations have been stopped because the magnitude of the largest correlation between the residuals and any derivative column is at most $RCON = 1,000E-08$

Nonlinear Regression Summary Statistics Dependent Variable T

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square
Regression	2	4169,39875	2084,69937
Residual	4	212,60125	53,15031
Uncorrected Total	6	4382,00000	
(Corrected Total)	5	1819,33333	

R squared = $1 - \text{Residual SS} / \text{Corrected SS} = ,88314$

Parameter	Estimate	Asymptotic Std. Error	Asymptotic 95 % Confidence Interval	
			Lower	Upper
A	17,634476313	4,291065604	5,720568221	29,548384404
B	33,011311213	4,727253325	19,886351857	46,136270570

Asymptotic Correlation Matrix of the Parameter Estimates

	A	B
A	1,0000	,9107
B	,9107	1,0000

Non-linear Regression

35g/L model1

All the derivatives will be calculated numerically.

Iteration	Residual SS	A	B	C
1	2022,000000	,000000000	,000000000	,000000000
1.1	57,37870633	8,07004567	20,7528486	,000000000
2	57,37870633	8,07004567	20,7528486	,000000000

Run stopped after 3 model evaluations and 2 derivative evaluations.
Iterations have been stopped because the magnitude of the largest correlation between the residuals and any derivative column is at most RCON = 1,000E-08

Nonlinear Regression Summary Statistics

Dependent Variable T

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square
Regression	3	1964,62129	654,87376
Residual	4	57,37871	14,34468
Uncorrected Total	7	2022,00000	
(Corrected Total)	6	915,71429	
R squared = 1 - Residual SS / Corrected SS = ,93734			

Parameter	Estimate	Asymptotic Std. Error	Asymptotic 95 % Confidence Interval	
			Lower	Upper
A	8,070045674	1,513510746	3,867866172	12,272225177
B	20,752848645	2,187485569	14,679415044	26,826282246
C	,000000000	,000000000	,000000000	,000000000

Asymptotic Correlation Matrix of the Parameter Estimates

	A	B	C
A	1,0000	,8906	,
B	,8906	1,0000	,
C	,	,	1,0000

Non-linear Regression

45 g/L model1

All the derivatives will be calculated numerically.

Iteration	Residual SS	A	B	C
1	13423,00000	,000000000	,000000000	,000000000
1.1	1675,948927	2,52886902	28,5501444	,000000000
2	1675,948927	2,52886902	28,5501444	,000000000
2.1	216,1355131	11,8579525	47,7633787	,000000000
3	216,1355131	11,8579525	47,7633787	,000000000
3.1	216,1355131	11,8579523	47,7633780	,000000000

Run stopped after 6 model evaluations and 3 derivative evaluations.
Iterations have been stopped because the relative reduction between successive residual sums of squares is at most SSSCON = 1,000E-08

Nonlinear Regression Summary Statistics Dependent Variable T

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square
Regression	3	13206,86449	4402,28816
Residual	4	216,13551	54,03388
Uncorrected Total	7	13423,00000	
(Corrected Total)	6	5800,00000	

R squared = 1 - Residual SS / Corrected SS = ,96274

Parameter	Estimate	Asymptotic Std. Error	Asymptotic 95 % Confidence Interval	
			Lower	Upper
A	11,857952277	2,059982163	6,138524883	17,577379671
B	47,763377954	3,707817836	37,468825273	58,057930635
C	,000000000	,000000000	,000000000	,000000000

Asymptotic Correlation Matrix of the Parameter Estimates

	A	B	C
A	1,0000	,8302	,
B	,8302	1,0000	,
C	,	,	1,0000

Non-linear Regression

55g/L model 1

All the derivatives will be calculated numerically.

Iteration	Residual SS	A	B	C
1	5294,000000	,000000000	,000000000	,000000000
1.1	652,3661666	7,53853586	39,0607542	,000000000
2	652,3661666	7,53853586	39,0607542	,000000000
2.1	345,7908161	14,3614029	55,5601123	,000000000
3	345,7908161	14,3614029	55,5601123	,000000000

Run stopped after 5 model evaluations and 3 derivative evaluations.
Iterations have been stopped because the magnitude of the largest correlation between the residuals and any derivative column is at most RCON = 1,000E-08

Nonlinear Regression Summary Statistics Dependent Variable T

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square
Regression	3	4948,20918	1649,40306
Residual	1	345,79082	345,79082
Uncorrected Total	4	5294,00000	
(Corrected Total)	3	2893,00000	

R squared = 1 - Residual SS / Corrected SS = ,88047

Parameter	Estimate	Asymptotic Std. Error	Asymptotic 95 % Confidence Interval	
			Lower	Upper
A	14,361402850	7,627879833	-82,56000001	111,28280571
B	55,560112284	17,696847792	-169,2996589	280,41988351
C	,000000000	,000000000	,000000000	,000000000

Asymptotic Correlation Matrix of the Parameter Estimates

	A	B	C
A	1,0000	,8969	,
B	,8969	1,0000	,
C	,	,	1,0000

EK-19

Model 2'e Ait Lineer Olmayan Regresyon İstatistikleri

Non-linear Regression

25 g/L model 2

All the derivatives will be calculated numerically.

Iteration	Residual SS	A	B	C
1	4382,000000	,0000000000	,0000000000	,0000000000
1.1	211,7457239	15,1087802	18,8039094	3,68252728
2	211,7457239	15,1087802	18,8039094	3,68252728
2.1	211,6558736	15,7192150	22,1418748	2,82342549
3	211,6558736	15,7192150	22,1418748	2,82342549
3.1	211,6558736	15,7192046	22,1418147	2,82344114

Run stopped after 6 model evaluations and 3 derivative evaluations.
Iterations have been stopped because the relative reduction between successive
residual sums of squares is at most SSSCON = 1,000E-08

Nonlinear Regression Summary Statistics Dependent Variable T

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square
Regression	3	4170,34413	1390,11471
Residual	3	211,65587	70,55196
Uncorrected Total	6	4382,00000	
(Corrected Total)	5	1819,33333	

R squared = 1 - Residual SS / Corrected SS = ,88366

Parameter	Estimate	Asymptotic Std. Error	Asymptotic 95 % Confidence Interval	
			Lower	Upper
A	15,719204570	17,268388933	-39,23651599	70,674925128
B	22,141814719	94,056695106	-277,1885671	321,47219655
C	2,823441140	24,391004830	-74,79962207	80,446504345

Asymptotic Correlation Matrix of the Parameter Estimates

	A	B	C
A	1,0000	,9716	-,9581
B	,9716	1,0000	-,9983
C	-,9581	-,9983	1,0000

Non-linear Regression

35g/L model2

All the derivatives will be calculated numerically.

Iteration	Residual SS	A	B	C
1	2022,000000	,0000000000	,0000000000	,0000000000
1.1	50,68620568	5,77199557	1,66991245	5,10919452
2	50,68620568	5,77199557	1,66991245	5,10919452
2.1	50,68620568	5,77199816	1,66993350	5,10918891

Run stopped after 4 model evaluations and 2 derivative evaluations.
Iterations have been stopped because the relative reduction between successive

residual sums of squares is at most SCON = 1,000E-08

Nonlinear Regression Summary Statistics

Dependent Variable T

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square
Regression	3	1971,31379	657,10460
Residual	4	50,68621	12,67155
Uncorrected Total	7	2022,00000	
(Corrected Total)	6	915,71429	
R squared = 1 - Residual SS / Corrected SS = ,94465			

Parameter	Estimate	Asymptotic Std. Error	Asymptotic 95 % Confidence Interval	
			Lower	Upper
A	5,771995567	3,467362170	-3,854945157	15,398936292
B	1,669912452	26,338600680	-71,45776648	74,797591389
C	5,109194515	7,030282763	-14,40999965	24,628388682

Asymptotic Correlation Matrix of the Parameter Estimates

	A	B	C
A	1,0000	,9377	-,9120
B	,9377	1,0000	-,9969
C	-,9120	-,9969	1,0000

Non-linear Regression

45 g/L model 2

All the derivatives will be calculated numerically.

Iteration	Residual SS	A	B	C
1	13423,00000	,0000000000	,0000000000	,0000000000
1.1	347,0115379	6,61120591	17,4784837	6,64771845
2	347,0115379	6,61120591	17,4784837	6,64771845
2.1	197,5046658	10,3354426	29,7474768	4,92106571
3	197,5046658	10,3354426	29,7474768	4,92106571

Run stopped after 5 model evaluations and 3 derivative evaluations. Iterations have been stopped because the magnitude of the largest correlation between the residuals and any derivative column is at most RCON = 1,000E-08

Nonlinear Regression Summary Statistics Dependent Variable T

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square
Regression	3	13225,49533	4408,49844
Residual	4	197,50467	49,37617
Uncorrected Total	7	13423,00000	
(Corrected Total)	6	5800,00000	

R squared = 1 - Residual SS / Corrected SS = ,96595

Parameter	Estimate	Asymptotic Std. Error	Asymptotic 95 % Confidence Interval	
			Lower	Upper
A	10,335442566	3,165608959	1,546303067	19,124582064
B	29,747476774	29,542468024	-52,27556397	111,77051752
C	4,921065706	8,011272722	-17,32179323	27,163924642

Asymptotic Correlation Matrix of the Parameter Estimates

	A	B	C
A	1,0000	,8393	-,7830
B	,8393	1,0000	-,9928
C	-,7830	-,9928	1,0000

Non-linear Regression

55 g/L model 2

All the derivatives will be calculated numerically.

Iteration	Residual SS	A	B	C
1	5294,000000	,000000000	,000000000	,000000000
1.1	252,6935140	11,3021260	16,4046363	11,0913100
2	252,6935140	11,3021260	16,4046363	11,0913100
2.1	69,25366502	11,3463638	-46,793934	32,8885052
3	69,25366502	11,3463638	-46,793934	32,8885052
3.1	3,128997266	8,72662955	-127,48881	58,5990137
4	3,128997266	8,72662955	-127,48881	58,5990137
4.1	3,128997266	8,72662945	-127,48881	58,5990135

Run stopped after 8 model evaluations and 4 derivative evaluations.
Iterations have been stopped because the relative reduction between successive residual sums of squares is at most SCON = 1,00E-08 and the relative difference between successive parameter estimates is at most PCON = 1,000E-08

Nonlinear Regression Summary Statistics Dependent Variable T

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square
Regression	3	5290,87100	1763,62367
Residual	1	3,12900	3,12900
Uncorrected Total	4	5294,00000	
(Corrected Total)	3	2893,00000	

R squared = 1 - Residual SS / Corrected SS = ,99892

Parameter	Estimate	Asymptotic Std. Error	Asymptotic 95 % Confidence Interval	
			Lower	Upper
A	8,726629453	,903565532	-2,754259186	20,207518092
B	-127,4888088	17,572719601	-350,7713818	95,793764238
C	58,599013471	5,599640392	-12,55116380	129,74919074

Asymptotic Correlation Matrix of the Parameter Estimates

	A	B	C
A	1,0000	,6622	-,5959
B	,6622	1,0000	-,9954
C	-,5959	-,9954	1,0000

EK-20

Model ve Deneysel Sonuçlar Arasındaki
% Bağıl Hata Değerleri

Çizelge E20.1 25 g/L indirgen şeker içeren hidrolizat deney sonuçları ile Model 1 arasındaki % bağıl hata değerleri

t	x	xmodel	%x	s	smodel	%s	p	pmodel	%p
0	3,2	3,11	-3	25	25,85	3	0	0,01	0
2	3,33	3,22	-3	25,08	25,64	2	1,4	0,10	-93
4	3,76	3,34	-11	26,24	25,42	-3	1,2	0,20	-83
19	3,96	4,37	10	24,87	23,53	-5	0,9	1,06	18
23	5,71	4,69	-18	22,3	22,95	3	1,6	1,33	-17
28	4,71	5,11	9	22,62	22,17	-2	2	1,68	-16
52	7,05	7,58	8	18,25	17,65	-3	3,5	3,74	7

Çizelge E20.2 25 g/L indirgen şeker içeren hidrolizat deney sonuçları ile Model 2 arasındaki % bağıl hata değerleri

t	x	xmodel	%x	s	smodel	%s	p	pmodel	%p
0	3,20	3,07	-4	25,00	25,91	4	0,0	0,0	0
2	3,33	3,20	-4	25,08	25,68	2	1,4	0,1	-94
4	3,76	3,33	-12	26,24	25,45	-3	1,2	0,2	-84
19	3,96	4,41	11	24,87	23,46	-6	0,9	1,1	22
23	5,71	4,73	-17	22,30	22,88	3	1,6	1,4	-15
28	4,71	5,16	10	22,62	22,09	-2	2,0	1,7	-14
52	7,05	7,48	6	18,25	17,84	-2	3,5	3,7	4

Çizelge E20.3 35 g/L indirgen şeker içeren hidrolizat deney sonuçları ile Model 1 arasındaki % bağıl hata değerleri

t	x	x model	% x	s	s model	%s	p	p model	%p
0	2,50	2,69	7	35,00	34,09	-3	0,00	0,17	0
2	2,95	2,87	-3	33,18	33,71	2	0,46	0,37	-20
4	3,72	3,07	-18	31,41	33,31	6	0,92	0,57	-38
6	3,08	3,27	6	32,75	32,89	0	0,46	0,79	72
21	5,45	5,31	-3	29,60	28,74	-3	2,07	2,91	41
25	5,37	6,01	12	28,48	27,30	-4	3,22	3,64	13
30	7,00	7,00	0	25,08	25,28	1	4,14	4,68	13

Çizelge E20.4 35 g/L indirgen şeker içeren hidrolizat deney sonuçları ile Model 2 arasındaki % bağıl hata değerleri

t	x	xmodel	% x	s	smodel	%s	p	pmodel	%p
0	2,5	2,5	0,0	35	34,5	-1,4	0	0	0,0
2	2,95	2,9	-1,7	33,18	33,8	1,9	0,46	0,4	-13,0
4	3,72	3,05	-18,0	31,41	33,2	5,7	0,92	0,6	-34,8
6	3,08	3,4	10,4	32,75	32,75	0,0	0,46	0,8	73,9
21	5,45	5,45	0,0	29,6	28,4	-4,1	2,07	3	44,9
25	5,37	6	11,7	28,48	27,3	-4,1	3,22	3,7	14,9
30	7	6,7	-4,3	25,08	25,8	2,9	4,14	4,5	8,7

Çizelge E20.5 45 g/L indirgen şeker içeren hidrolizat deney sonuçları ile Model 1 arasındaki % bağıl hata değerleri

t	x	x model	%x	s	s model	%s	p	p model	%p
0	2,10	2,12	1	45,00	43,98	-2	0,00	0,0	0
4	2,10	2,27	8	41,90	43,48	4	2,53	0,08	-97
21	3,35	2,98	-11	40,50	40,96	1	1,61	0,91	-43
25	3,09	3,17	3	39,10	40,27	3	1,84	1,14	-38
30	3,83	3,43	-10	39,50	39,33	0	1,38	1,45	5
53	5,66	4,91	-13	38,00	34,09	-10	3,22	3,17	-1
71	5,60	6,42	15	32,40	28,74	-11	5,29	4,94	-7
80	7,47	7,29	-2	24,80	25,64	3	5,98	5,96	0

Çizelge E20.6 45 g/L indirgen şeker içeren hidrolizat deney sonuçları ile Model 2 arasındaki % bağıl hata değerleri

t	x	xmodel	%x	s	smodel	%s	p	pmodel	%p
0	2,1	2,1	0,0	45	44,4	-1,3	0	0,0	0,0
4	2,1	2,3	9,5	41,9	43,4	3,6	2,53	0,1	-96,0
21	3,35	3,0	-10,4	40,5	40,7	0,5	1,61	1,1	-31,7
25	3,09	3,2	3,6	39,1	40,0	2,3	1,84	1,3	-29,3
30	3,83	3,5	-8,6	39,5	39,0	-1,3	1,38	1,6	15,9
71	5,6	6,4	14,3	32,4	28,6	-11,7	5,29	4,9	-7,4
80	7,47	7,1	-5,0	24,8	26,2	5,6	5,98	5,8	-3,0

Çizelge E20.7 55 g/L indirgen şeker içeren hidrolizat deney sonuçları ile Model 1 arasındaki % bağıl hata değerleri

t	x	x model	%x	s	s model	%s	p	p model	%p
0	1,99	2,27	14	55,00	54,49	-1	0,00	0,07	0
4	2,37	2,40	1	47,07	53,66	14	0,92	0,29	-69
7	2,85	2,50	-12	49,75	53,01	7	0,23	0,46	102
22	3,42	3,05	-11	49,58	49,44	0	0,46	1,43	210
32	4,34	3,48	-20	46,85	46,64	0	0,46	2,18	374
48	5,21	4,27	-18	47,72	41,51	-13	0,92	3,57	288
69	4,97	5,52	11	36,40	33,41	-8	4,26	5,75	35

Çizelge E20.8 55 g/L indirgen şeker içeren hidrolizat deney sonuçları ile Model 2 arasındaki % bağıl hata değerleri

t	x	x model	%x	s	s model	%s	p	p model	%p
0	1,99	2,18	9	55,00	55,11	0	0,00	-0,10	0
4	2,37	2,59	9	47,07	52,43	11	0,92	0,62	-32
7	2,85	2,78	-2	49,75	51,17	3	0,23	0,96	317
22	3,42	3,48	2	49,58	46,67	-6	0,46	2,17	373
32	4,34	3,84	-12	46,85	44,30	-5	0,46	2,81	511
48	5,21	4,36	-16	47,72	40,92	-14	0,92	3,72	305
69	4,97	5,00	1	36,40	36,76	1	4,26	4,84	14

EK 21

İnternet Kaynakları

Cine tarım

dergi

araştırma
titizleştirilen
özümleyen

eski
yollar

abonelik

reklam

bize ulaşın

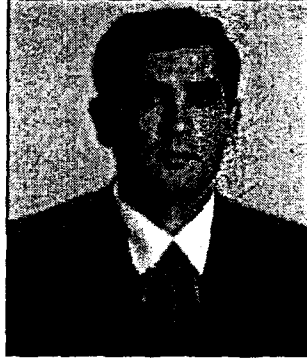
cine tarım

agrotürk

e-posta

künye

SEKTÖREL



Dr. Yalçın Kaya
Trakya Tar. Araş. Enst. -EDİRNE

Ayçiçeği kabuğu her bitkide olduğu gibi, taneyi kaplar ve dış etmenlerden korur. Yağlık ayçiçeği tanesinin toplam ağırlığının yaklaşık % 21-30'u kabuktur. Çerezlik çeşitlerde bu oran % 36-50 arasında değişir. Ancak çerezlik ve yağlık tiplerin kimyasal kompozisyonları arasında, çerezliklerin biraz daha fazla lif içermesi hariç, belirgin bir fark yoktur. Ayçiçeğinde tanedeki kabuk ve yağ oranı arasındaki ters bir korelasyon söz konusudur. Tanedeki yağ oranı arttıkça kabuk oranı düşer. İyi bir yağlık ayçiçeği hibrit çeşidin tanesindeki yağ oranı % 50'nin üzerinde ve kabuk oranı ise, % 20 civarında olmalıdır.



Gerek yağlık, gerekse çerezlik taneler, yüksek oranda lif (ham selüloz) düşük miktarlarda da ham yağ ve kül içerir. Kabuktaki selüloz, lignin, hemi-selüloz (çoğunluğu glucuronoxylan) miktarları % 74-90 olup, arta kalan kısmı da lipit, protein ve mineral maddelerdir (Dorrel ve Vick, 1997). Kabuğun besin maddesi içeriği aşağıdaki tabloda verilmiştir.

Ayçiçeği Kabuğunun Besin Maddesi Kapsamı*

% 85-92 Kuru Madde
% 3.5-9 Ham Protein
% 2-4 Hazmolunabilir Protein
% 35-45 Hazmolunabilir Besin Maddesi
Toplamı
% 40-50 Ham Selüloz
% 13-16 Lignin
% 2-3 Kül
% 0.05-3 Yağ
% 0.37 Ca

SEKTÖREL

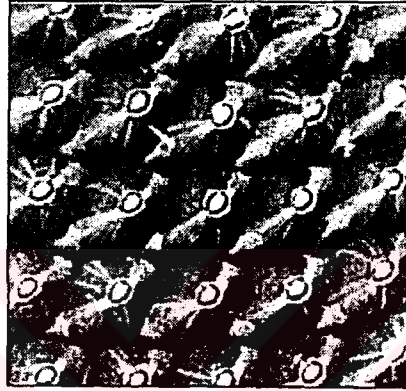
- >> Narenciye Üreticisine prim
- >> Vizyon 2023
- >> Tarımda işler kötü
- >> AB'ye uyumda yem sektörü
- >> Mısır üreticileri dertli
- >> Ayçiçeği kabuğu
- >> Aflotoksinsiz biber
- >> Cargil'den mısır hasadı

ANA SAYFAYA DÖN

% 0.15-0.25 Mg
% 0.12 P

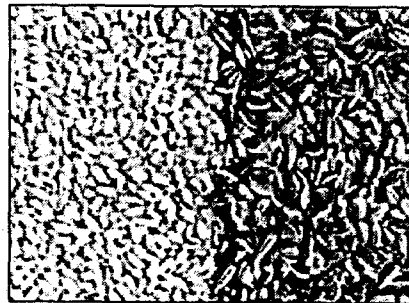
*Park et al., 1997

Yapılan araştırmalarda ülkemizde ayçiçeği işleyen bazı fabrikalarda kabuk tamamen küspe eldesinde kullanılırken, bazı fabrikalarda da özellikle yüksek proteinli küspe elde edilmek istendiğinde, yaklaşık % 7-12 arasında bir ek ürün olarak çıkmakta, bu durumda da ısıtma kazanlarda enerji ihtiyacını karşılamak için kömür ile karıştırılarak yakılmaktadır. Ayçiçeği gerek tanesinin tümü, gerekse sadece kabuğu, herhangi bir kimyasal maddeyle muamele edilmediği müddetçe, zararlı bir madde içermez. Ancak yakılma işlemi sırasında çıkardığı atmosfere karışan karbondioksit ve diğer gazlar, aynen diğer yakacak ürünlerinin kullanılmasında olduğu gibidir. Ancak bu ek ürün olarak ortaya çıkan kabuğun, alternatif kullanım alanları da mevcuttur.



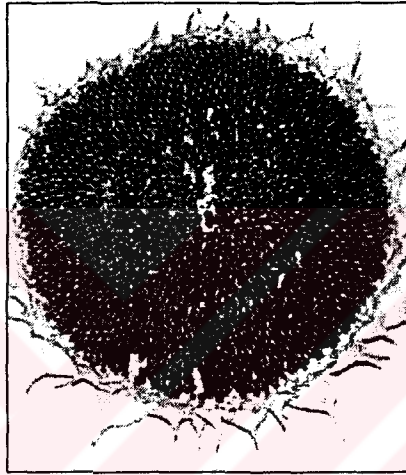
Ayrıca çerezlik ayçiçeğinde kabuksuz tüketimde ek madde olarak ortaya çıkar. Ancak bu tür tüketim ülkemizde çok yaygın değildir. Kabuk oranı çerezlik ayçiçeği çeşitlerinde yağlıklara nazaran daha fazladır. Yağlık ayçiçeği kabukları çerezlik tiplere nazaran daha yüksek oranda protein ve yağ içerdikleri için, hayvanlar için iyi bir yem kaynağıdır. Ayçiçeği kabukları sığır yetiştiriciliğinde saman yerine altlık olarak kullanılabilir. Çünkü saman ile aynı oranda sıvı emme kapasitesine sahiptir. Ayrıca bu kabuklar kereste endüstrisinde dolgu ve yalıtım maddesi, biyolojik yakıt eldesinde ve paketlenme materyali olarak da kullanılır. Ayrıca, Kanada'da silindir şeklinde preslenerek çıra malzemesi ve Rusya'da da etil alkol ve boya malzemesi eldesinde kullanılır (Doty, 1978).

Ayçiçeği kabuğunun bir diğer kullanım alanı da, özellikle de bazı türlerde kabuğunda içerdiği antociyanin olarak bilinen kırmızı boya maddesi nedeniyle gıdalarda doğal katkı boya olarak kullanılmasıdır. Bilindiği üzere gıda sektöründe kullanılan yapay renklendiricilerin yan etkileri üzerine, kırmızı ve pembe renk veren doğal antociyanin kaynakları oldukça önem kazanmıştır.

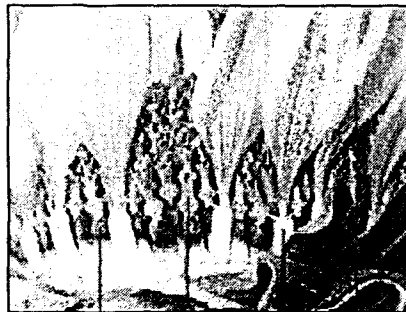


Yine yapılan araştırmalarda, dana ve sığır besiciliğinde % 50 ye kadar ayçiçeği kabuğu içeren, ancak en az %

15 ham protein içeren rasyonlarda herhangi bir beslenme bozukluğu görülmemiştir. Ancak yine % 50 ayçiçeği kabuğu, %50 üre katkılı mısır silajı ve 1.4 kg/baş arpa tanesi içeren rasyonlarda, hazım zorluğu nedeniyle beslenme periyodu boyunca meydana gelen bazı sığır ölümlerine rastlanmıştır (Park et al., 1997). Bu nedenle aynı araştırmacılar, herhangi beslenme veya hazım problemi ile karşılaşılmasını için besicilikte %30, süt besi rasyonlarında ise ayçiçeği kabuğu katkısının % 10'u geçmemesi gerektiğini vurgulamışlardır. Ayçiçeği kabuğu yüksek oranda selüloz içerir, ancak düşük bir besin maddesi kapsamına sahiptir ve hazımı zor ve tadı hoş değildir. Yine pelet haline getirilmiş ayçiçeği kabuğu briket haline getirilmiş saptan daha yüksek ısı içeriğine sahiptir. Ancak bu pelet haline getirilmiş kabuğun yanma sırasındaki aşırı ısınmayı ve fazla dumanı önleyen yeterli hava alım hızı düşüktür. Peletlerin ortalama yanma randımanı %62'dir. Kül oranı ve külün diğer özellikleri odundan farklı değildir. Ancak sap briketinin kül oranı %10.8 iken kabuk peletlerinin ise %3.6'dır (Park et al, 1997).



Yine ayçiçeği kabuğunun yakıt değeri 8300 - 8500 BTU / pound civarında değişmektedir. ABD de ayçiçeği işleme tesisleri, okullar gibi bazı kuruluşlar, elde ettikleri bu kabukları fırınlarda yakacak olarak kullanmaktadır. Yine ayçiçeği kabuğundan yapılan briketlerin, ABD de bazı yerlerde şöminelerde kömür yerine kullanımı oldukça yaygındır (Lilleboe, 1991). ABD de, ayçiçeği işleyen fabrikaların nakliye maliyetlerinde ayçiçeği kabuğunun belirli bir hacim teşkil ettiğinden, genelde kabuğunun çıkartılması daha ekonomik olmakta ve ayçiçeği kabuğu yakılarak ısı enerjisi elde edilmesi de tesislere artı bir değer getirmektedir. Ancak fırınlarda yakılması sırasında kabukların fazla miktarda kül bırakması bir dezavantajdır. Yine bu tür tesislerin yakınlarına kurulan tavukçuluk ve hayvancılık tesislerinde ayçiçeği kabukları hayvanların altlarına serilmektedir. Ayçiçeği kabukları tonu 30 \$ a kadar alıcı bulmaktadır ((Dorrel ve Vick, 1997).



Ayçiçeği kabuğunun değerlendirilmesi konusunda bir

çok araştırmalar yapılmasına rağmen çok az bir kısmı uygulamaya sokulmuştur. Ligno-selülozik bir madde olarak ayçiçeği kabuğu, fermentasyon yoluyla şeker üretiminde, bazı kimyasallara ve değerli bileşiklere dönüşümde oldukça ucuz bir kaynaktır. Örneğin ayçiçeği kabuğunun asit veya celulase enzimleriyle hidrolizi, kabukta şeker oranını artırarak besi değerinin artmasına ve yine maya için gerekli maddelerin oluşumuna yol açmaktadır. Ayçiçeği kabuğunun hücre duvarlarında karbonhidratlarla birlikte bulunan lignin maddesi, enzimlerin bu karbonhidratları şekerlere dönüştürmesini sınırlandırmaktadır. Ancak kabukların sodyum hidroksit ile 1,5 saat 120 °C de muamelesi lignin maddesinin % 55 oranında azalmasına ve % 39 oranına kadar polisakkaritlerin şekerlere dönüşmesine yol açmaktadır.

LİTERATÜR LİSTESİ:

- Dorrel, D.G and B. A. Vick. 1997. Properties and Processing of Oilseed Sunflower. In A. A. Schneiter (Ed). Sunflower Technology and Production. Agronomy Monogram 35.ASA,CSSA, and SSSA, Madison, WI. USA. P. 709-764.
- Doty, H.O. 1978. Future of Sunflower as an Economic Crop in North America and the World. In J.F. Carter(Ed). Sunflower Science and Technology. Agronomy Monogram 19. ASA, CSSA, and SSSA, Madison, WI. USA.
- Lilleboe, D. 1991. Sunflower Handbook. National Sunflower Association. Bismarck, ND. USA. 35 Sayfa.
- Park, C. S., G. D. Marx, Y. S. Moon, D. Wiesenborn, K. W. Chang, ve V. L. Hofman. Alternative Uses of Sunflower. 1997. In A. A. Schneiter (Ed). Sunflower Technology and Production. Agronomy Monogram 35. ASA, CSSA, and SSSA, Madison, WI. P. 765-807.

BU HABERLE İLGİLİ DİĞER GELİŞMELER

Kendinizi Mail listemize ekleyin sitemiz ve sektörle ilgili gelişmelerden siz de haberdar edelim.

listeye ekle

We can find alcohols throughout our daily lives. An alcohol is an organic chemical compound¹⁷⁷ containing the -OH group and there are thousands of alcohols in this series of related chemical compounds. Alcohols are all toxic to humans and they are used in industry and home for the manufacture of other compounds (MTBE gasoline additives, paints, food additives, thickeners), as automotive antifreeze (methyl alcohol and ethylene glycol), as a component of cleaners (isopropanol), cosmetics (glycerol), and other household items, as fuels (ethanol) and as a component of beverages: beer, wine, spirits, and champagne.

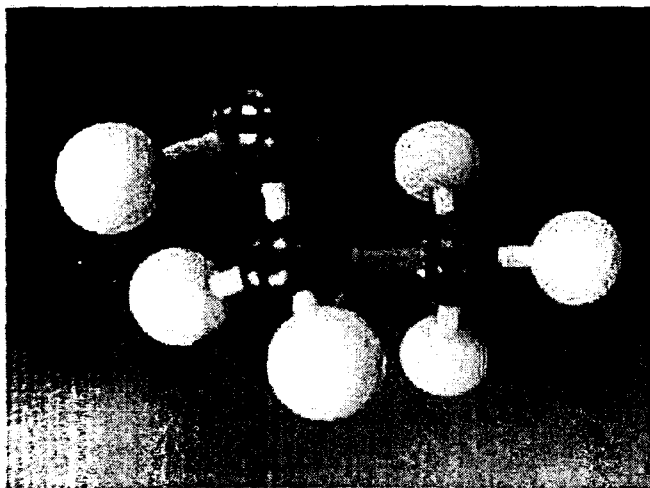
"Alcohol" is a generic name for large group of organic chemical compounds. There are many types of alcohols. They all are derivatives of hydrocarbons in which one or more of the hydrogen atoms have been replaced by a hydroxyl (-OH) functional group. Hydrocarbons are compounds with contain hydrogen (H) and carbon (C) only. The hydroxyl group imparts particular properties to the radical to which it is attached.

Alcohols are named according to the radical to which the -OH group is attached. For example if the -OH group is attached to the methyl radical CH_3 so that the compound is CH_3OH , then one has methyl alcohol. If it is attached to the ethyl (C_2H_5) radical then one has ethyl alcohol ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$) - the alcohol we consume in beverages.. The general formula for alcohol is ROH , where R signifies a hydrocarbon radical attached to an -OH group. A list of some of the common alcohols is given below:

Alcohol Name	Formula
Methyl alcohol (methanol)	CH_3OH
Ethyl alcohol (ethanol)	$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$
n - propyl alcohol	$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$
Isopropyl alcohol (propanol -2)	$\text{CH}_3\text{CHOHCH}_3$
n-butyl alcohol (butanol -1)	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_2\text{CH}_2\text{OH}$
butyl alcohol (butanol -2)	$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CHOHCH}_3$
n-hexyl alcohol (hexanol-1)	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{CH}_2\text{OH}$
n-heptyl alcohol (heptanol-1)	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_5\text{CH}_2\text{OH}$
n-octyl alcohol (octanol-1)	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_6\text{CH}_2\text{OH}$
ethylene glycol	$\text{CH}_2\text{OHCH}_2\text{OH}$
glycerol	$\text{CH}_2\text{OHCHOHCH}_2\text{OH}$

Alcohols are classified as primary, secondary, or tertiary dependent upon the number of other organic groups, denoted R, attached to the carbon atom with the hydroxyl (-OH) group. Those with two hydrogen atoms attached to the carbon atom with the attached hydroxyl group are called primary. Those with one hydrogen atom attached to the carbon with the hydroxyl group are called secondary, and those with no hydrogen atoms attached to the carbon atom with the hydroxyl group are called tertiary. Thus, a primary alcohol has the form $\text{RCH}_2 - \text{OH}$; a secondary alcohol has the form $\text{R}_2\text{CH} - \text{OH}$; and a tertiary alcohol, the form $\text{R}_3\text{C} - \text{OH}$. The R groups do not need to be the same.

Ethyl Alcohol - for which the more scientific name is ethanol - is the substance that we find in beverages. For the remainder of this unit, consider the words ethyl alcohol, alcohol and ethanol to be interchangeable. An alternate representation of ethyl alcohol as a "ball and stick" molecular model appears below:



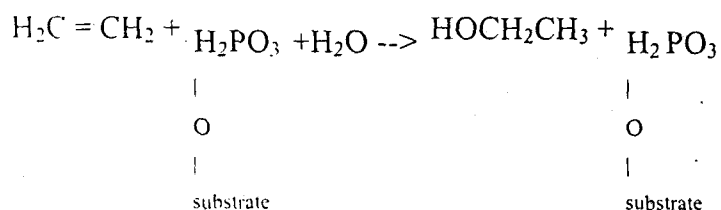
There are other molecules that contain an -OH group - an oxygen bonded to a carbon. Water, H_2O is the most common. It is not an alcohol because alcohols are defined as organic compounds that have little or no ionization of the hydrogen. Other organic compounds that contain -OH groups but are not alcohols are phenol ($\text{C}_6\text{H}_5\text{OH}$) and acetic acid (CH_3COOH). These compounds are not alcohols because they are acidic. The term alcohol, then, is another representation of a type of electronic structure in the molecules of substances.

Properties of Some Alcohols

Boiling Point	$^{\circ}\text{C}$	and	Flammability	and	Toxicity- LD_{50}
The dose, in mg/kg, that kills 50% of test animals, generally reported for rats.)					
	bp		flam		LD_{50}
Methanol	65		yes		6500
Ethanol	78		yes		7060
Ethylene Glycol	198		no		4700
Glycerol	290		no		12600

Ethyl alcohol is derived from two main processes, hydration of ethylene and fermentation of sugars. Hydration of ethylene is the primary method for the industrial production of ethyl alcohol, while fermentation is the primary method for production of beverage alcohol.

Industrial Production: Traditionally, industrial ethanol is manufactured via the acid catalyzed hydration of ethylene. One synthetic route of alcohol by hydration of ethene involves the use of concentrated sulfuric acid (H_2SO_4). Unfortunately the use of sulfuric acid complicates the process due to concerns about safety, corrosion, and the environment. Current technology allows alcohol to be produced by utilization of zeolites or silica aerogels impregnated with phosphoric or tungstic acid. The distinct advantages of this process are that the reaction can be a one stage process, the catalyst is regenerated, and concerns about safety, corrosion, and the environment are diminished. The reaction with phosphoric acid is as follows: This method has been chosen due to the relative low cost of the ethylene.



Of the alcohols produced, ethanol is particularly useful in industrial applications because of its relatively high affinity for both water and organic compounds. The composition of other alcohols limit their

flexibility as compared to ethanol. For examples, methanol with one carbon (CH_3OH) has reduced solubility in hydrocarbons, while increasing the chain length such as in pentanol with 5 carbon units, reduces its solubility in water. Thus, varying the chain length of the alcohol modifies its solubility in different compounds making it more or less useful dependent on the situation.

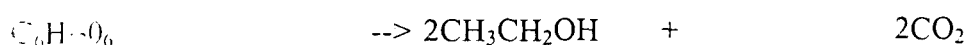
One problem with the industrial production and utilization of ethanol is that ethanol is the alcohol found in beverages. Thus, industrial alcohol could be the source of large amounts of beverage alcohol. But it has been the practice to tax and control alcohol for beverages and industrial ethanol could be the source for a large amount of illegal alcohol.

In order to reduce the need for strict control and heavy taxation on industrially produced ethanol, the alcohol is denatured. Denaturing is a process of adding other compounds to the ethanol to render it unfit for consumption. Denaturants are selected to give the ethanol a disagreeable taste or odor and in some cases a distinctive color. In some cases the substances added are toxic and produce gastric disturbances upon ingestion and/or other unpleasant symptoms. A large number of different "denaturants" are utilized dependent upon the use for which the ethanol is intended. These denaturants include methyl isobutyl ketone, pyronate, kerosene, acetone, turpentine, amyl alcohol, methyl alcohol, and various butyl alcohols. In some cases more than one denaturant is utilized.

Industrially produced ethanol has many uses including use in solvent based paints, pharmaceuticals, perfumes, cleaning products for home and car, lacquers, and inks.

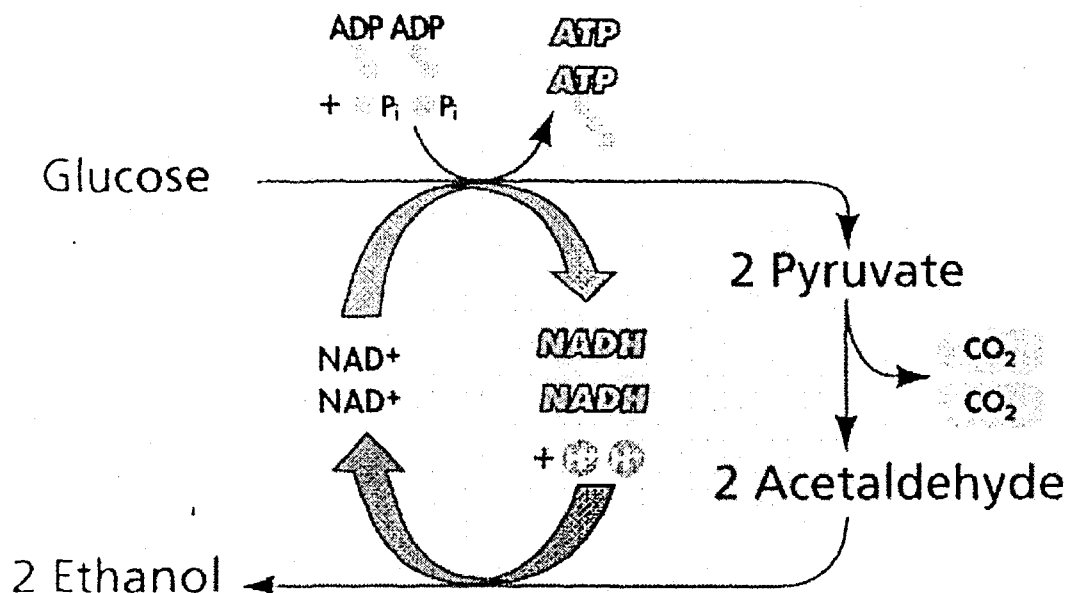
Further ethanol and other alcohols have been added to gasoline to produce alcohol-containing fuels. Since ethanol contains only one partially oxidized carbon atom, it is flammable and can be used as a fuel. The usual ratio of ethanol to gasoline is ninety parts gasoline to 10 parts ethanol while that for methanol is 97 parts gasoline to 3 parts methanol. Some cars have been designed to run on pure methanol. Gasohol has higher antiknock properties (higher octane) than gasoline, burns more slowly, coolly, and completely. However, it is more expensive and energy intensive to produce and may produce environmental hazards to the individual and to the atmosphere.

Fermentation and Industrial and Beverage Production: All beverage alcohol and much of that used in industry is formed through fermentation of a variety of products including grain such as corn, potato mashes, fruit juices, and beet and cane sugar molasses. (In earlier years, until about 1947, the largest proportion of the production of industrial alcohol was from fermentation, but as was described above the hydration of ethene now provides the greatest source of industrial alcohol). Fermentation can be defined as an enzymatically anaerobic controlled transformation of an organic compound. With respect to alcohol, we are referring to the conversion of sugars to ethanol by microscopic yeasts in the absence of oxygen. The equation for the fermentation of glucose is:



in the presence of yeast

The figure uses a symbolic notation familiar in biochemistry. It shows the stepwise transformation of glucose to ethanol through intermediates, pyruvate and acetaldehyde.



The initial fermentation mixture contains approximately 3 to 5% ethanol such as in beer and up to 12 to 15% ethanol as in wine and sherry. Higher concentrations of ethanol cannot be achieved by fermentation, because the yeast becomes inactivated. In this case distillation is required to generate higher alcohol concentrations.

Distillation is a process that uses differences in boiling points to separate compounds. In the case of alcohol and particularly ethanol, knowledge that the boiling point of pure water is 100°C, while that of ethanol is 78.3°C allows the separation of the ethanol from the water by adjusting the distillation temperature to a point higher than that for ethanol, but lower than that for water. Thus, the concentration of ethanol can be enhanced by removing it as a distillate from the ethanol-water solution. Spirits such as gin, scotch, bourbon, and vodka, as well as liqueurs, cordials, and bitters are examples of beverages made from distillation. The distillation procedure also allows for the concentration of components of the beverage which provide some distinctive flavor.

ÖZGEÇMİŞ

1978 Tekirdağ doğumlu Müjgan TELLİ OKUR orta öğrenimini bitirdikten sonra, 1996 yılında Osmangazi Üniversitesi Mühendislik ve Mimarlık Fakültesi Kimya Mühendisliği Bölümüne girdi. Aynı bölümden 2000 yılında mezun olarak 2001 yılında Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Mühendisliği Bölümünde Yüksek Lisans Programına kayıt oldu. Aynı yıl bu bölümde Araştırma Görevlisi olarak göreve başladı.

