

**ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Aysun ŞENER

**EMİR ÜZÜMÜNÜN ŞARABA İŞLENMESİNDE
SICAKLIĞIN VE MAYA SUŞUNUN ETİL ALKOL
FERMANTASYONU KİNETİĞİNE ETKİSİ**

GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

ADANA, 2005

ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

EMİR ÜZÜMÜNÜN ŞARABA İŞLENMESİNDE
SICAKLIĞIN VE MAYA SUŞUNUN ETİL ALKOL
FERMANTASYONU KİNETİĞİNE ETKİSİ

Aysun ŞENER

YÜKSEK LİSANS TEZİ

GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

**Bu tez/...../2005 Tarihinde Aşağıdaki Jüri Üyeleri Tarafından Oybirliği/
Oyçokluğu İle Kabul Edilmiştir.**

İmza.....

Prof.Dr. Ahmet CANBAŞ
DANIŞMAN

İmza.....

Yrd. Doç. Dr. M. Ümit ÜNAL
ÜYE

İmza.....

Yrd.Doç.Dr. Ahmet PINARBAŞI
ÜYE

Bu tez Enstitümüz Gıda Mühendisliği Anabilim Dalında hazırlanmıştır.

Kod No:

Prof. Dr. Aziz ERTUNÇ

Enstitü Müdürü

**Bu Çalışma Çukurova Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi
Tarafından Desteklenmiştir.**

Proje No: ZF.2004.YL.33

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

ÖZ
YÜKSEK LİSANS TEZİ

**EMİR ÜZÜMÜNÜN ŞARABA İŞLENMESİNDE
SICAKLIĞIN VE MAYA SUŞUNUN ETİL ALKOL
FERMANTASYONU KİNETİĞİNE ETKİSİ**

Aysun ŞENER

ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

Danışman : Prof. Dr. Ahmet CANBAŞ

Yıl: 2005, Sayfa:87

Jüri: Prof. Dr. Ahmet CANBAŞ

Yrd. Doç. Dr. M. Ümit ÜNAL

Yrd. Doç Dr. Ahmet PINARBAŞI

Bu çalışmada, Nevşehir-Ürgüp yöresinde yetiştirilen beyaz şaraplık çeşitlerden Emir üzümünün şaraba işlenmesinde sıcaklığın ve maya suşunun etil alkol fermantasyonunun kinetiğine etkisi incelenmiştir.

Bu amaçla üzüm sırası 18°C ve 25°C olmak üzere iki farklı sıcaklıkta ve *S. cerevisiae* türü iki farklı maya suşu ('Zymoflore VL1' ve 'Uvaferm CM') kullanılarak etil alkol fermantasyonuna terk edilmiştir.

Fermantasyon boyunca 12 saat ara ile alınan örneklerde canlı maya sayımı, biyokütle, şeker ve etil alkol tayini yapılmıştır. Elde edilen analiz sonuçlarından kinetik parametreler hesaplanmıştır.

Denemelerde mayaların spesifik gelişme hızı 25°C'de 18°C'ye göre daha yüksek bulunmuştur. 18°C'de mayalar arasında spesifik gelişme hızı bakımından fark görülmezken, 25°C'de 'Uvaferm CM'nin spesifik gelişme hızı 'Zymoflore VL1'den daha yüksek bulunmuştur.

18°C'de gerçekleştirilen denemelerde 'Zymoflore VL1' 'in büyümeye bağlı ürün oluşumu 'Uvaferm CM'den daha yüksek, substrata bağlı hücre verimi ve substrata bağlı biyokütle verimi ise daha düşük bulunmuştur. Ayrıca 18°C'de 'Zymoflore VL1' 'in spesifik ölüm hızı 25°C'ye göre daha düşük bulunmuştur.

Duyusal değerlendirmelerde 18°C'de elde edilen şaraplar, 25°C'de elde edilen şaraplara göre ve 'Uvaferm CM' ile elde edilen şaraplar, 'Zymoflore VL1' kullanılarak elde edilen şaraplara göre, daha çok beğenilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Kinetik, sıcaklık, alkol fermantasyonu, *Saccharomyces cerevisiae*.

ABSTRACT

MSC THESIS

EFFECTS OF TEMPERATURE AND YEAST STRAIN ON ETHANOL FERMENTATION KINETICS IN THE PRODUCTION OF WINE FROM EMIR GRAPES

Aysun ŞENER

DEPARTMENT OF FOOD ENGINEERING
INSTITUTE OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES
UNIVERSITY OF ÇUKUROVA

Supervisor : Prof. Dr. Ahmet CANBAŞ

Year: 2005, Pages: 87

Jury : Prof. Dr. Ahmet CANBAŞ

Asst. Prof. Dr. M Ümit ÜNAL

Asst. Prof. Dr. Ahmet PINARBAŞI

This research was undertaken to investigate effects of temperature and yeast strain on ethanol fermentation kinetics in the production of wine from Emir grapes grown in Nevşehir-Ürgüp region.

Ethanol fermentation was carried out at 18°C and 25°C using two different yeast strain ('Zymoflore VL1' and 'Uvaferm CM') in grape must. The samples taken at 12-hour time interval were analysed for live yeast, biomass, sugar and ethanol.

Specific growth rates at 25°C were found to be higher than those at 18°C. In terms of specific growth rates, no difference was found at 18°C, while specific growth rate of 'Uvaferm CM' at 25°C was higher than that of 'Zymoflore VL1'.

Growth-associated product formation by 'Zymoflore VL1' at 18°C was higher than that of 'Uvaferm CM', while cell and biomass yields were lower. In addition, specific death rate of 'Zymoflore VL1' at 18°C was found to be lower than that at 25°C.

Organoleptic evaluation showed that the wines produced at 18°C were more preferred. The wines produced by using Uvaferm CM at both temperatures had higher score than those produced by Zymoflore VL1.

KeyWords: Kinetics, temperature, alcoholic fermentation, *Saccharomyces cerevisiae*

TEŞEKKÜR

Çalıőmamın her aşamasında yol gösteren ve değerli yardımlarını esirgemeyen danışman hocam Prof. Dr. Ahmet CANBAŞ'a sonsuz teőekkürlerimi sunarım.

Araőtırmalarım, çalıőmalarım ve tezin yazımı sırasında yardım ve önerilerini esirgemeyen Yrd. Doç. Dr. M. Ümit ÜNAL' a, çalıőmalarım sırasında yardımlarını esirgemeyen Doç. Dr. Hüseyin ERTEN'e ve Doç. Dr. Turgut CABAROęLU'na, jüri üyesi olarak tezimi değerlendiren Yrd. Doç. Dr. Ahmet PINARBAŞI'na, laboratuvar çalıőmalarım sırasında yardımcı olan Arő. Gör. Adnan BOZDOęAN'a, Arő. Gör. Hasan TANGÜLER'e, Gıda Mühendisi Esra ÖZDEMİR'e ve Gıda Mühendisi Gülten YAęMUR'a, çalıőmalarım süresince ilgi, sabır ve manevi destekleri esirgemeyen aileme, ayrıca çalıőmamın gerçekleşmesinde maddi desteklerinden dolayı Çukurova Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projesi Birimine teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

SAYFA

ÖZ.....	I
ABSTRACT.....	II
TEŞEKKÜR.....	III
İÇİNDEKİLER.....	IV
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	VI
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	VIII
EK ÇİZELGE LİSTESİ.....	X
SEMBOL LİSTESİ.....	XI
1.GİRİŞ.....	1
2.ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....	4
2.1. Şarap Üretimi.....	4
2.2. Etil Alkol Fermantasyonu.....	4
2.3. Şarap Üretiminde Kinetik.....	6
2.3.1. Mikroorganizma Büyüme Kinetiği.....	6
2.3.1.1. Kesikli Sistemde Mikroorganizma Büyüme Kinetiği.....	7
2.3.1.1.1. Etil Alkolün İnhibe Edici Etkisi	15
2.3.1.2. Sürekli Sistemde Mikroorganizma Büyüme Kinetiği.....	21
2.3.2. Etil Alkol Üretimi Kinetiği.....	25
2.3.3. Substrat Tüketimi Kinetiği.....	29
2.3.4. Aktivasyon Enerjisi.....	32
2.3.5. Kinetik Modellerin Çözümleri ve Kinetik Parametrelerin Belirlenmesi.....	34
3. MATERYAL VE METOT.....	37
3.1. Materyal.....	37
3.1.1. Hammadde ve Yardımcı Maddeler.....	37
3.1.2. Denemelerde Kullanılan Araç ve Gereçler.....	37
3.1.3. Analizlerde Kullanılan Araç ve Gereçler.....	37
3.2. Metot.....	38
3.2.1. Denemelerin Düzenlenmesi.....	38

3.2.2. Örnekler Üzerinde Yapılan Analizler.....	40
3.2.2.1. Canlı Maya Sayımı.....	40
3.2.2.2. Biyokütle Tayini.....	40
3.2.2.3. İndirgen Şeker Tayini.....	41
3.2.2.4. Etil Alkol Tayini.....	41
3.2.3. Duyusal Analiz.....	41
3.2.4. İstatistiksel Değerlendirme.....	43
3.2.5. Kinetik Parametrelerin Hesaplanması.....	43
3.2.5.1. μ , k_d , g ve t_d Değerlerinin Hesaplanması.....	43
3.2.5.2. β Değerinin Hesaplanması.....	43
3.2.5.3. $Y_{N/S}$, $Y_{X/S}$ ve $Y_{P/S}$ Değerlerinin Hesaplanması.....	44
3.2.5.4. E_{ag} ve E_{ad} Değerlerinin Hesaplanması.....	44
4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA.....	45
4.1. Emir Üzümü Şirasının ‘Zymaflore VL1’ ile Fermantasyonu.....	45
4.2. Emir Üzümü Şirasının ‘Uvaferm CM’ ile Fermantasyonu.....	50
4.3. Mayaların Büyüme Kinetiği.....	54
4.4. Mayaların Verim Değerleri.....	60
4.5. Aktivasyon Enerjisi.....	68
4.6. Duyusal Analiz.....	71
5. SONUÇ.....	74
KAYNAKLAR.....	75
ÖZGEÇMİŞ.....	83
EK ÇİZELGE LİSTESİ.....	84

ÇİZELGELER DİZİNİ

SAYFA

Çizelge 2.1. Kesikli sistemde etil alkol konsantrasyonunun (P) mayaların spesifik büyüme hızı (μ) üzerine etkisi.....	19
Çizelge 2.2. Farklı inhibitörlerin mikroorganizma büyüme hızı üzerine etkisi dikkate alınarak önerilen modeller.....	20
Çizelge 2.3. Sürekli sistemde furfural konsantrasyonunun <i>Saccharomyces cerevisiae</i> 'nin spesifik büyüme hızı (μ) üzerine etkisi.....	25
Çizelge 2.4. Kullanılan kinetik modeller ve çözümleri.....	35
Çizelge 4.1. Maya sayısı kullanılarak hesaplanan spesifik gelişme hızı (μ), spesifik ölüm hızı (k_d) ve generasyon süresi (g).....	54
Çizelge 4.2. Biyokütle miktarı kullanılarak hesaplanan spesifik gelişme hızı (μ), spesifik ölüm (k_d) hızı ve ikiye katlanma süresi (t_d)	55
Çizelge 4.3. Maya suşlarının hücre sayısı üzerinden hesaplanan kinetik parametreleri arasındaki fark.....	57
Çizelge 4.4. Maya suşlarının biyokütle üzerinden hesaplanan kinetik parametreleri arasındaki fark.....	58
Çizelge 4.5. Sıcaklığın hücre sayısı üzerinden hesaplanan kinetik parametreler üzerine etkisi.....	59
Çizelge 4.6. Sıcaklığın biyokütle üzerinden hesaplanan kinetik parametreler üzerine etkisi.....	60
Çizelge 4.7. 'Zymaflore VL1' ve 'Uvaferm CM'in β değerleri	61
Çizelge 4.8. Maya suşlarının büyümeye bağlı ürün oluşum (β) değerlerinin kıyaslanması.....	62
Çizelge 4.9. Sıcaklığın büyümeye bağlı ürün oluşumu (β) üzerine etkisi...	63
Çizelge 4.10. Mayaların verim değerleri.....	64
Çizelge 4.11. Maya suşlarının ürün verimi değerleri arasındaki fark.....	65
Çizelge 4.12. Sıcaklığın verim değerlerine etkisi.....	66
Çizelge 4.13. Maya sayısı üzerinden maya gelişimi (Eag) ve maya ölümü için (Ead) aktivasyon enerjisi.....	69

Çizelge 4.14. Biyokütle miktarı üzerinden maya gelişimi (Eag) ve maya ölümü (Ead) için aktivasyon enerjisi.....	69
Çizelge 4.15. Maya suşlarının Eag ve Ead değerleri arasındaki fark (hücre sayısı üzerinden).....	70
Çizelge 4.16. Maya suşlarının Eag ve Ead değerleri arasındaki fark (biyokütle üzerinden).....	70
Çizelge 4.17. Farklı maya suşu kullanılarak elde edilen örneklerin duyuşal analiz sonuçları.....	73
Çizelge 4.18. Farklı sıcaklık kullanılarak elde edilen örneklerin duyuşal analiz sonuçları.....	73

ŞEKİLLER DİZİNİ	SAYFA
Şekil 2.1. Mikroorganizmaların büyüme eğrisi.....	8
Şekil 2.2. Kesikli kültürde hücrelerin çeşitli fazlardaki spesifik büyüme hızları.....	9
Şekil 2.3. Mikroorganizmaların logaritmik fazda çoğalmaları.....	10
Şekil 2.4. Spesifik büyüme hızının (μ) hesaplanması.....	11
Şekil 2.5. Hücre için Lineweaver-Burk grafiği.....	14
Şekil 2.6. Etil alkolün <i>Saccharomyces cerevisiae</i> 'nin maksimum spesifik gelişme hızı üzerine etkisi.....	17
Şekil 2.7. Sürekli sistem.....	22
Şekil 2.8. Sürekli bir sistemin basitleştirilmiş şeması.....	23
Şekil 2.9. Sürekli sistemde mikroorganizma gelişimi.....	24
Şekil 2.10. Aktivasyon enerjisinin hesaplanması.....	33
Şekil 3.1. Emir üzümünün şaraba işlenmesinde uygulanan işlemler.....	39
Şekil 3.2. Duyusal değerlendirme formu (üçlü test).....	42
Şekil 4.1. 18°C'de Emir şirasının 'Zymaflore VL1' ile fermantasyonu sırasında maya sayısındaki değişim.....	46
Şekil 4.2. 18°C'de Emir şirasının 'Zymaflore VL1' ile fermantasyonu sırasında biyokütle miktarındaki değişim.....	47
Şekil 4.3. 18°C'de Emir şirasının 'Zymaflore VL1' ile fermantasyonu sırasında şeker ve etil alkol miktarındaki değişim.....	47
Şekil 4.4. 25°C'de Emir şirasının 'Zymaflore VL1' ile fermantasyonu sırasında maya sayısındaki değişim.....	48
Şekil 4.5. 25°C'de Emir şirasının 'Zymaflore VL1' ile fermantasyonu sırasında biyokütle miktarındaki değişim.....	49
Şekil 4.6. 25°C'de Emir şirasının 'Zymaflore VL1' ile fermantasyonu sırasında şeker ve etil alkol miktarındaki değişim.....	49
Şekil 4.7. 18°C'de Emir şirasının 'Uvaferm CM' ile fermantasyonu sırasında maya sayısındaki değişim.....	50

Şekil 4.8. 18°C’de Emir şirasının ‘Uvaferm CM’ ile fermantasyonu sırasında biyokütle miktarındaki değişim.....	51
Şekil 4.9. 18°C’de Emir şirasının ‘Uvaferm CM’ ile fermantasyonu sırasında şeker ve etil alkol miktarındaki değişim.....	51
Şekil 4.10. 25°C’de Emir şirasının ‘Uvaferm CM’ ile fermantasyonu sırasında maya sayısındaki değişim.....	52
Şekil 4.11. 25°C’de Emir şirasının ‘Uvaferm CM’ ile fermantasyonu sırasında biyokütle miktarındaki değişim.....	53
Şekil 4.12. 25°C’de Emir şirasının ‘Uvaferm CM’ ile fermantasyonu sırasında şeker ve etil alkol miktarındaki değişim.....	53

EK ÇİZELGE LİSTESİ

SAYFA

Ek 1. Emir şirasının ‘Zymoflore VL1’ ile 18 °C’de fermantasyonu sırasında substrat tüketimi ve etil alkol oluşumu.....	84
Ek 2. Emir şirasının ‘Zymoflore VL1’ ile 25 °C’de fermantasyonu sırasında substrat tüketimi ve etil alkol oluşumu.....	85
Ek 3. Emir şirasının ‘Uvaferm CM’ ile 18 °C’de fermantasyonu sırasında substrat tüketimi ve etil alkol oluşumu.....	86
Ek 4. Emir şirasının ‘Uvaferm CM’ ile 25 °C’de fermantasyonu sırasında substrat tüketimi ve etil alkol oluşumu.....	87

Sembol Listesi

- t : Zaman (saat)
- μ : Spesifik gelişme hızı (saat^{-1})
- k_d : Spesifik ölüm hızı (saat^{-1})
- g : Generasyon süresi (saat)
- t_d : İkiye katlanma süresi (saat)
- X : Biyokütle miktarı (g/L)
- P : Etil alkol miktarı (g/L)
- S : Substrat miktarı (g/L)
- β : Logaritmik fazda (büyümeye bağlı) gram biyokütle tarafından üretilen gram etil alkol miktarı
- α : Durgun fazda (büyümeden bağımsız) gram biyokütle tarafından üretilen gram etil alkol miktarı
- $Y_{N/S}$: Substrata (şeker) bağlı hücre verimi (fermente edilen her bir gram şekerden oluşan hücre sayısı)
- $Y_{X/S}$: Substrata (şeker) bağlı biyokütle verimi (fermente edilen her bir gram şekerden oluşan gram biyokütle miktarı)
- $Y_{P/S}$: Substrata (şeker) bağlı ürün verimi (fermente edilen her bir gram şekerden oluşan gram etil alkol miktarı)
- Y : Hücre verimi
- m : Spesifik metabolik gereksinim (saat^{-1})
- k : Hız sabiti (saat^{-1})
- A : Logaritmik faktör
- E_a : Aktivasyon enerjisi (kJ/molK)
- R : Üniversal gaz sabiti (8,314 j/molK)
- T : Sıcaklık (Kelvin) (K)

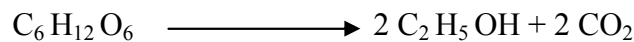
1. GİRİŞ

Biyokimyasal yönden fermantasyon, "mikroorganizmalar tarafından salgılanan enzimlerin organik maddelerde oluşturduğu parçalanma veya kimyasal değişiklikler" şeklinde tanımlanır. Bu tanıma göre; etkili olan mikroorganizma tipine, parçalanan organik maddeye veya değişikliğin olduğu ortam koşullarına göre değişen, çeşitli fermantasyonlar söz konusudur. Genel olarak fermantasyonlar, oksijene karşı durumlarına göre iki grup altında toplanır. Birinci grup oksijensiz fermantasyonlardır ki bunlara "anoksidatif" fermantasyonlar da denir. Diğer fermantasyon şeklinde ise, reaksiyona oksijen girmekle beraber, oksidasyon tam olmaz, yarıda kalır. Bunlara da "oksidatif" fermantasyonlar denir. Anoksidatif fermantasyonlara etil alkol ve laktik asit fermantasyonları, oksidatif fermantasyonlara ise asetik asit ve sitrik asit fermantasyonları örnek olarak verilebilir (Canbaş, 1994).

Anoksidatif fermantasyon ürünleri içerisinde şarap önemli bir yer tutar. Şarap, bir kısmı veya tamamı ezilmiş taze üzümün veya üzüm şirasının etil alkol fermantasyonuna terk edilmesi sonucu elde edilen alkollü bir içkidir (Canbaş, 2003). Şarap üretimi sırasında, maya ve bakteri gibi mikroorganizmalar, çeşitli biyokimyasal reaksiyonlarla şıra ve şarabın kimyasal bileşimini değiştirir (Farkas, 1988). Bu biyokimyasal reaksiyonlar içinde etil alkol fermantasyonu önemli bir aşamadır ve bu aşama sadece mayalar tarafından gerçekleştirilir (Farkas, 1988; Haloui ve ark, 1989; Querol ve ark, 1994).

Şırada birçok maya cinsi ve maya türü bulunmasına rağmen alkol fermantasyonu genellikle *Saccharomyces cerevisiae* türüne ait mayalar tarafından gerçekleştirilir (Querol ve ark, 2003). *Saccharomyces cerevisiae* yüksek fermantasyon kapasitesine sahiptir. Alkol oluşturma gücü ve etil alkole karşı direnci yüksektir (Knox ve ark, 2004). Kükürt dioksitine karşı oldukça dirençli ve şekerin büyük kısmını parçalayan maya olduğundan şarapçılıkta önemlidir (Canbaş, 2003).

Fermantasyonda rol oynayan mayalar, alkol fermantasyonu sırasında fermente olabilir şekerleri parçalar ve etil alkol üretir. Bu tepkime basit olarak Gay-Lussac tarafından geliştirilen formül ile gösterilir:



Bu tepkime sonucunda 1 molekül şeker, 2 molekül etil alkol ve 2 molekül CO₂'e parçalanır (Amerine ve ark, 1980; Farkas, 1988; Çelik, 1990).

Fermantasyon işleminin uygun bir şekilde planlanması ve uygulanması bu olayın esasının bilinmesine ve sistem kinetikleri ile ilgili değişkenlerin anahtar işlemlerle nicel olarak tanımlanmasına bağlıdır. Bu bilgiler, fermantasyon işleminin optimum düzeyde planlanması ve geliştirilmesi için temel oluşturmaktadır (Volesky ve Votruba 1992).

Yunanca *kinetikos*'tan gelen kinetik sözcüğü 'hareket eden' anlamına gelmekte ve kimyasal tepkimelerde kullanılmaktadır (Ünal 2002). Daha çok kimyasal tepkimelerin hızıyla ilgili bir alandır ve bir tepkimenin belli koşullarda hangi hızla ilerlediği, tepkime hızını değiştiren faktörler veya tepkime hızının nasıl değiştirileceği, tepkimelerin hangi basamakları izlediği gibi konuları kapsar. Kimyasal tepkimelerin hızı, tepkimeye katılan herhangi bir maddenin miktarının zamana bağlı olarak izlenmesiyle bulunabilir (Levine, 1995; Saçak, 2002).

Tepkime kinetiklerinin incelenmesi amacıyla yapılan deneylerde çoğu kez tepkime hızının belirlenmesi gerekir. Bir tepkimenin hızı, girdi ya da ürünlerden birisinin miktarının uygun fiziksel veya kimyasal yöntemlerle izlenmesiyle bulunabilir. Örneğin; tepkime ortamından değişik zamanlarda örnekler alınarak çöktürme veya titrasyon gibi bir yolla izlenen maddenin miktarı belirlenir (Smith, 1981; Saçak, 2002). Hızlı tepkimelerde veya analiz yönteminin yavaş sonuç vermesi halinde, ortamdaki alınan örnekler seyreltme, soğutma ve tepkimeyi durdurucu maddelerin ilavesi gibi işlemler uygulanarak tepkimenin durdurulması veya yavaşlatılması sağlanır. Böylece, örneğin ortamdaki alınıldığı andaki en doğru madde miktarına yakın bir değer elde edilir (Levine, 1995; Saçak, 2002).

Kinetik parametreler ve dolayısıyla reaksiyon hızı sıcaklıktan önemli oranda etkilenir ve sıcaklık reaksiyonun her basamağında önemli rol oynar (Sirijaruphan ve ark, 2004). Sıcaklığın değişmesi tepkime hız bağıntısında yer alan derişim ve hız sabitini etkiler. Deneysel veriler, derişimin sıcaklıktan fazla etkilenmediğini buna karşın, sıcaklığın yükseltilmesi veya azaltılmasının hız sabitinin büyüklüğünü belirgin şekilde değiştirdiğini göstermiştir (Saçak, 2002).

Kimyasal reaktörlerde gerçekleştirilen kinetik çalışmalar, bu reaktörlerde gerçekleşen reaksiyonların moleküler düzeyde incelenmesini sağlar. Mikrobiyel işlemlerin kinetikleri ve verimleri, fizikokimyasal çevresel faktörlerle kontrol edilebilmektedir. Uygun olmayan mikrobiyel kültürlerle, arzu edilen işlemin gerçekleştirilmesi mümkün değildir. Benzer şekilde uygun olmayan işlem koşulları da üretimin düşmesine neden olmaktadır. Mikrobiyel kültür ve işlem koşullarının seçimi ve işlem parametreleri dikkate alınarak işlemlerin optimizasyonu kapsamlı deneysel çalışmalara dayanarak yapılmaktadır (Volesky ve Votruba, 1992).

Alkol fermantasyonu kinetiklerinin belirlenmesinde bu amaçla geliştirilmiş modeller kullanılmaktadır ve bu modellerde alkol fermantasyonu ile ilgili çok sayıda parametrenin belirlenmesi gerekmektedir. Alkol fermantasyonu kinetiklerinin belirlenmesi amacıyla uygulanan modeller, fermantasyondaki gelişme ve ilerlemelerin önceden belirlenmesine olanak vermektedir. Bu nedenle, bir model sayesinde fermantasyondaki olumsuzluklar önceden görülebilmekte ve bu olumsuzlukların önlenmesi için işlemin erken safhalarında müdahale etmek mümkün olmaktadır. Böylelikle, fermantasyon işlemi daha iyi planlanabilmekte ve işletmede mevcut kaynaklar daha etkili bir şekilde kullanılabilir (Marin, 1999).

Fermantasyon kinetikleri ile ilgili çalışmalar temel olarak mikroorganizma büyümesi, ürün oluşumu (etil alkol) ve substrat (şeker) tüketimi kinetiklerini içermektedir (Starzak, 1994).

Bu çalışma, Emir üzümünün şaraba işlenmesinde, iki farklı sıcaklık uygulamasının ve *Saccharomyces cerevisiae* türü iki farklı maya suşu kullanımının etil alkol fermantasyonu kinetiği üzerine etkilerini belirlemek amacıyla ele alınmıştır.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

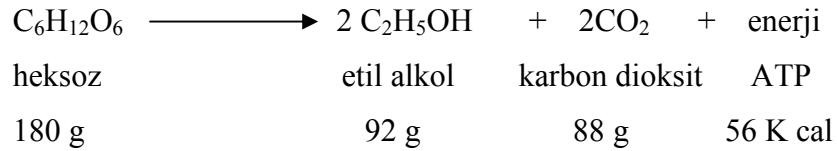
2.1. Şarap Üretimi

Üzüm suyunun fermantasyonla şaraba dönüşümü çeşitli maya ve laktik asit bakteri türlerinin ard arda gelişimini içeren karmaşık mikrobiyolojik bir reaksiyondur. Şarap üretimi birkaç aşamadan oluşur. Bunlar içerisinde etil alkol fermantasyonu özellikle şarabın duyuşal karakteristiklerine etkisi nedeni ile en önemli aşamadır (Haloui ve ark, 1989; Querol ve ark, 1994).

2.2. Etil Alkol Fermantasyonu

Şekerlerin mayalar tarafından etil alkol ve karbondioksite parçalanmasıdır. Fermantasyonda oksijen rol oynamaz. Bu nedenle Pasteur alkol fermantasyonunu “havasız hayat” olarak tanımlamıştır (Canbaş, 1994).

Alkol fermantasyonu, Gay-Lussac tarafından ortaya atılan ve bugün de kullanılan, aşağıdaki formül ile gösterilir:



Şarap yapımında, alkol fermantasyonu ile 1 g glikozdan 0.45-0.48 g veya teorik olarak en fazla 0.511 g (% 88-94) etil alkol oluşur. Geriye kalan % 6-12’ lik kısım mayalar tarafından ikincil ürünlerin üretimi ve metabolik aktiviteler için kullanılır. Fermantasyon verimi; fermantasyon sıcaklığına, şıra bileşimine, maya türüne ve maya miktarına bağlıdır (Panchal, 1993).

Mayalar tek hücreli, bitkisel, mikroskopik canlılardır. En çok bağ topraklarında ve üzümde olmak üzere doğada çok yaygındır. Fermantasyon sırasında ortamda bulunan mayaların aktiviteleri, şarabın bileşimi ve kalitesini belirleyen en önemli etkenlerden biridir (Canbaş, 1994; Nurgel, 2000).

Günümüzde şarap üreticilerinin büyük çoğunluğu fermantasyon verimi yüksek olan mayaları seçerek, aktif kuru maya halinde şıraya ilave etmektedir. İlave edilen maya kültürü genellikle fermantasyondan sorumludur ve fermantasyon sonunda toplam maya popülasyonunun büyük çoğunluğunu oluşturur. Fermantasyon sırasında starter kültür kullanımının lag fazının azalması, doğal olarak bulunan maya türlerinin etkisinin önemli ölçüde azalması ve fermantasyon süresinin kısalması gibi avantajları vardır (Zuzuarregui ve Olmo, 2004).

Fermantasyonu kontrol altına almak ve kaliteyi iyileştirmek amacıyla şıraya ticari *Saccharomyces cerevisiae* suşları ilave edilmektedir. Ticari mayaların tümü farklı yöntemlerle doğal olarak elde edilmektedir ve fermantasyon karakteristiklerine göre seçilmektedir. Ticari maya üretimi için tek bir maya hücresi alınır ve çoğaltılır. Bu yöntemle saf starter kültür elde edilir (Panchal, 1993; Nurgel,2000).

Şarap üretiminde starter maya kullanımı 1960'lı yıllarda Amerika Birleşik Devletlerinde başlamış ve oradan da dünyaya yayılmıştır. Ancak, tüm üzüm çeşitlerine, iklim ve üretim koşullarına uygun bir mayanın bulunmaması nedeniyle bazı sorunlar yaşanmıştır. 1970'li yıllarda şarap kalitesini geliştirebilecek nitelikte, ikinci nesil, maya suşları piyasaya sürülmüştür (Degree, 1993).

Çoğu şarap mayası için optimum sıcaklık 22°C ve 27°C arasındadır. *Saccharomyces cerevisiae*'nin optimum gelişme sıcaklığı 28°C'dir. Bununla birlikte, değişik sıcaklıklarda (0-40°C) gelişebilme yeteneğine sahip suşları da bulunmaktadır. *Saccharomyces cerevisiae*'nin bazı suşları düşük sıcaklıklarda da fermantasyon yapabilme yeteneğine sahiptir (Nurgel, 2000). Amerine ve ark., (1980) İtalya'da yetiştirilen üzümlerin şıra ve şaraplarından izole edilen 10 farklı maya suşu kullanılarak 6 farklı sıcaklıkta gerçekleştirilen bir çalışmada maya suşlarından birinin 6°C sıcaklıkta %12 etil alkol oluşturduğunu, buna karşın diğer maya suşlarının sadece % 6 etil alkol oluşturduğunu ve 11 ve 16°C'lerde tüm suşların yüksek verimle etil alkol ürettiğini ancak, 25°C'de etil alkol veriminin en yüksek düzeyde olduğunu bildirmişlerdir.

Sıcaklık maya gelişimi ve aktivitesi üzerine doğrudan etkilidir. Mayalar 10 °C'nin altındaki sıcaklıklarda çoğalamazlar. Mayaların sıcaklığa karşı dirençleri kuru veya yaş olmalarına göre değişir. Yaş halde iken, sıcaklık 20°C' ye çıkınca

çoğalmaları hızlanır ve 30°C civarında bir maksimumdan geçer. 35°C'nin üzerinde etkinliği hemen azalır ve fermantasyon durabilir. Bu nedenle sıcaklığın bu düzeylere çıkmasını önlemek için gerekli önlemler alınmalıdır (Canbaş, 2003).

Fermantasyon sırasında sıcaklığın yüksek düzeylere ulaşması, fermantasyonu durdurma riski dışında beyaz şaraplarda aroma zenginliği ve inceliğinde bir azalmaya ve renkte olumsuz bir değişmeye neden olur. Sıcaklığın çok düşük olması ise fermantasyonun başlamasını önleyebilir. Tüm bu nedenlerden dolayı şaraplar için optimum bir sıcaklık derecesi söz konusudur. Beyaz şaraplar için optimum fermantasyon sıcaklığı 18-20°C'dir (Canbaş, 2003).

2.3. Şarap Üretiminde Kinetik

Şarap üretiminin matematiksel modellenmesi ile ilgili çok az sayıda çalışma yapılmıştır. Bu çalışmalar çoğunlukla *Saccharomyces cerevisiae* mayası kullanılarak yapılan saf kültür fermantasyonlarını içermektedir. Bu çalışmaların bir kısmı çoğunlukla deneysel verilerle sınırlandırılmıştır. Mikroorganizma büyümesi, substrat tüketimi ve etil alkol üretimi fermantasyon sırasında meydana gelen biyolojik değişimlerle ilişkilendirilmiştir (Çelik, 1990).

2.3.1. Mikroorganizma Büyüme Kinetiği

Endüstriyel boyutta bir üretimin planlanması aşamasında üretilecek veya katalizör olarak kullanılacak mikroorganizmanın en uygun tür olduğunun belirlenmesi, mikroorganizmanın fizyolojik özelliklerinin tespiti, ortam faktörlerine bağlı değişimi ve teknolojik açıdan en uygun reaktörün şekillendirilmesi gerekir. Özellikle saf kültür ve bileşimi iyi bilinen substrat kullanılan bir fermantasyon sisteminde matematiksel modelleme yapmak mümkündür. Halbuki karışık kültür kullanıldığında ve atık su arıtımında olduğu gibi substratın bileşiminin çok karmaşık olması durumlarında pratik tecrübe olayların yorumlanması açısından büyük önem taşır (Telefoncu, 1995).

Fermantasyon sistemleri kesikli ve sürekli olmak üzere iki gruba ayrılır. (Waites ve ark., 2001).

2.3.1.1. Kesikli Sistemde Mikroorganizma Büyüme Kinetiği

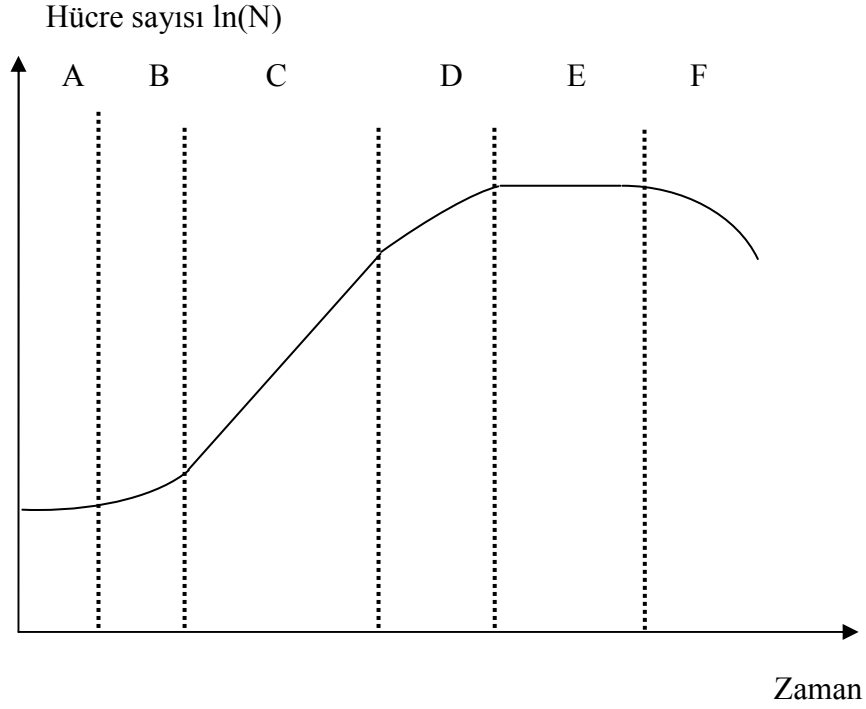
Mikroorganizmaların büyümesi belirli kurallara uyar. Bu nedenle, bazı koşullar altında inkübasyon sonunda beklenen hücre sayısı ve biyokütle miktarı önceden belirlenebilir. Mikroorganizma büyümesi değişik evrelerde gerçekleşmektedir (Bailey ve Ollis, 1986; Telefoncu, 1995; Waites ve ark., 2001).

A. Hazırlık evresi: Hücre bölünmesinin görülmediği bu evre ilk hücre bölünmesi gerçekleşinceye kadar devam eder. Aşılana hücre sayısında hiçbir değişiklik olmaz. Besi ortamından alınan su ve substratlar RNA, ribozom ve protein biyosentezinde (özellikle enzim sentezinde) kullanılır. Bu nedenle, hücre çoğalması olmadığı halde biyokütle artar (Telefoncu, 1995).

B. Hızlanma evresi: Bu evrede hücre çoğalması başlar ama yavaş yürür, artış üssel (logaritmik) değildir. DNA miktarı artar, enzim sentezi devam eder ve hücrelerdeki RNA miktarında önemli artış olur. Bazı bakımlardan benzerlik gösterdiklerinden çoğu kez A ve B evreleri birlikte değerlendirilir (Telefoncu, 1995).

C. Logaritmik evre: Büyüme hızı pratik olarak sabittir ve maksimuma ulaşmıştır. RNA'ya oranla DNA sentezi daha fazladır. Hücreler diğer evrelere göre daha küçük olup hücrelerin kuru kütlelerinin, hücre sayısına oranı diğer evrelerden daha düşüktür. Bu evredeki hücre çoğalması kolayca hesaplanabilir (Telefoncu, 1995).

D. Yavaşlama evresi: Bu evrede hücre çoğalma hızı sürekli azalır. Fakat hücre sayısı ve biyokütle artışı devam eder (Stanbury ve Whitaker, 1989).

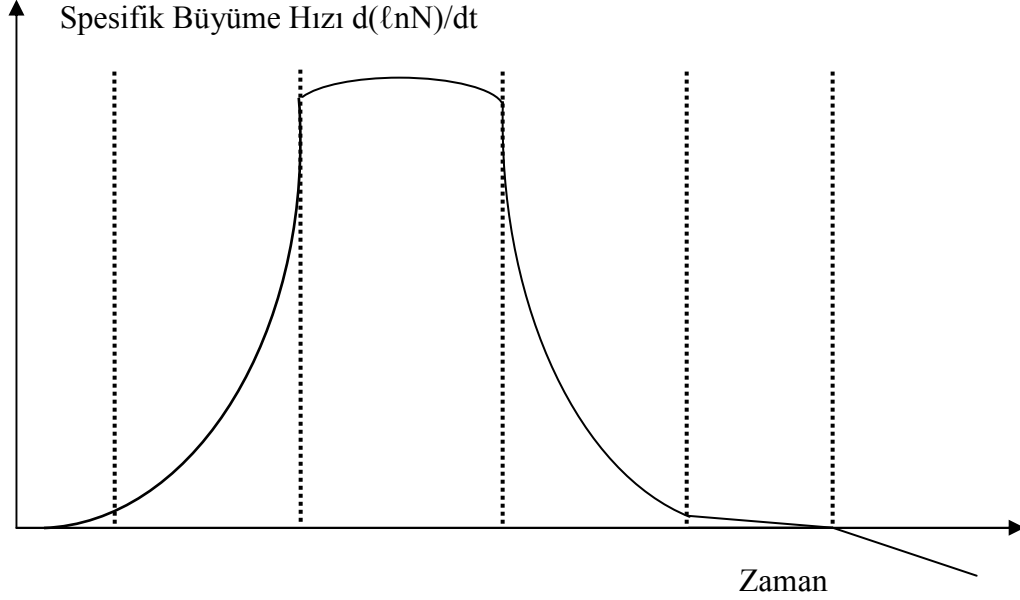


Şekil 2.1. Mikroorganizmaların büyüme eğrisi (Stanbury ve Whitaker, 1989)

E. Durgunluk evresi: Bu evrede yeni oluşan hücre sayısı ile ölen hücre sayısı dengelenmiştir. Toplam hücre sayısı sabit kalır. Biyosentezler daha çok sekonder metabolit üretimine yöneliktir (Telefoncu, 1995).

F.Ölüm evresi: Ölen hücrelerin sayısı yeni oluşarlardan daha fazladır. Otoliz sebebiyle ortamın yoğunluğu ve viskozitesi azalır. Hücrelerin spesifik büyüme hızı, büyüme eğrisinin birinci türevinden bulunur. Spesifik büyüme hızı, birim zamanda toplam hücre sayısına kıyasla hücre sayısındaki artıştır (Telefoncu, 1995).

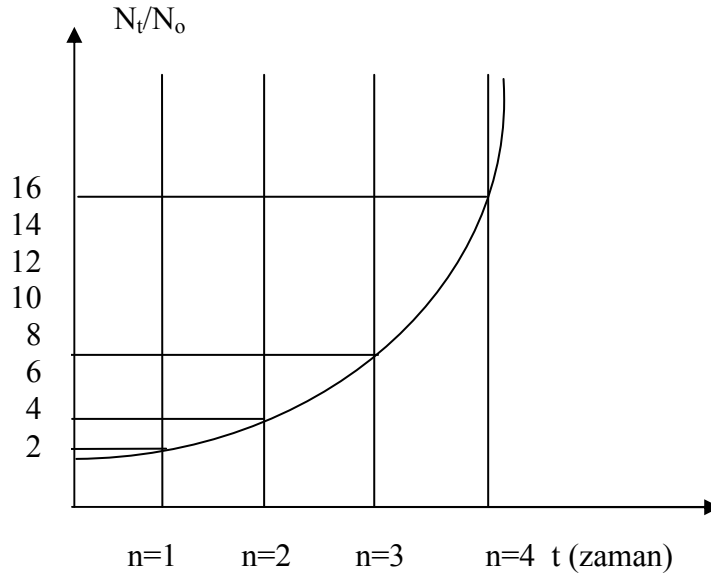
$$\frac{d \ln N}{dt} = \frac{d \ln N}{dN} \cdot \frac{dN}{dt} = \frac{1}{N} \cdot \frac{dN}{dt} \text{ (saat}^{-1}\text{)}$$



Şekil 2.2. Kesikli kültürde hücrelerin çeşitli fazlardaki spesifik büyüme hızları (Telefoncu, 1995)

Şekil 2.2'den de görüldüğü gibi hazırlık evresinde üreme hızı sıfır olup başlangıç evresinde sürekli artar ve logaritmik evrede maksimuma ulaşır. Yavaşlama evresinde hızla azalmaya başlar ve durgunluk evresinde sıfıra yaklaşır. Nihayet ölüm evresinde negatif değerlerle, azalmaya başlar. Logaritmik evrede spesifik üreme hızı sabittir ve maksimumdur (Telefoncu, 1995).

N_t/N_0 ile zaman arasında çizilen grafik eksponansiyel bir eğridir. Zaman skalasını ortalama generasyon süresi cinsinden dilimlersek her dilim hücre sayısının bir kat artması durumuna karşılık gelir ve $N_t/N_0=2^n$ yazılabilir. Burada 'n' söz konusu zaman diliminde hücrelerin kaç kez bölündüklerini gösterir (Telefoncu, 1995).



Şekil 2.3. Mikroorganizmaların logaritmik fazda çoğalmaları (Telefoncu, 1995)

Hücre sayısının deneysel tespiti zor olduğundan hücre büyümesi biyokütle artışı vasıtasıyla izlenir. Biyokütlenin (X) başlangıçtaki değere kıyasla artışının logaritması ile zaman arasında çizilen grafik bir doğrudur (Telefoncu, 1995).

$$X = X_0 2^n = X_0 2^{t/g} \text{ (g/l)}$$

Burada;

n: hücre bölünme sayısını

t: inkübasyon süresini

g: ortalama generasyon süresini gösterir. Bu denklemin logaritması alındığında;

$$\ln X = t/g \ln 2 + \ln X_0 \text{ eşitliği bulunur.}$$

Biyokütleyle göre diferansiyel alındığında;

$$\frac{d \ln X}{dX} = \frac{\ln 2}{g} \cdot \frac{dt}{dX} = \frac{1}{X} \text{ elde edilir.}$$

Bu denklem yeniden düzenlendiğinde,

$$\frac{\ln 2}{g} = \frac{1}{X} \cdot \frac{dX}{dt} = \mu \text{ (saat}^{-1}\text{) denklemi elde edilir.}$$

Bu denklemin integrali alındığında,

$X_t = X_0 e^{\mu t}$ denklemi elde edilir. Bu denklemde,

X_t : t zaman sonra elde edilen biyokütle konsantrasyonu

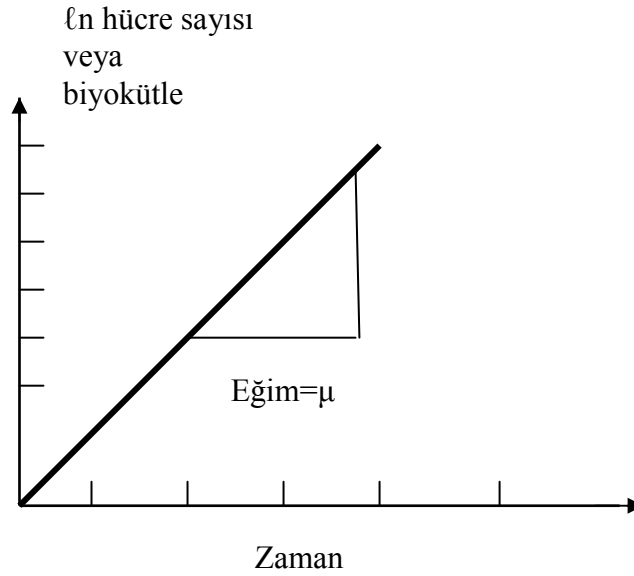
X_0 : logaritmik büyümenin başladığı andaki biyokütle konsantrasyonu

e: doğal logaritma tabanıdır.

Bu denklemin de doğal logaritması alındığında ($\log_e = \ln$),

$\ln X_t = \ln X_0 + \mu t$ denklemi elde edilir.

Bu denklem $y = ax+b$ gibi bir doğru denklemidir ve bu denklemdeki a değeri bu doğrunun eğimini gösterir. Biyokütle konsantrasyonunun doğal logaritmasının zamana karşı grafiği çizildiğinde elde edilen doğrunun eğimi spesifik gelişme hızını yani μ değerini verir (Waites ve ark., 2001)



Şekil 2.4. Spesifik büyüme hızının (μ) hesaplanması (Waites ve ark., 2001)

μ ; hücrelerin spesifik büyüme hızı olup hücre kütlelerinin toplam biyokütleye göre birim zamandaki artışıdır. Generasyon süresi (g) ortamdaki tek bir hücrenin bir kez bölünmesi için gerekli zamandır. μ ise kültürdeki tüm hücreleri kapsar (Higgins ve ark, 1985; Telefoncu, 1995; Waites ve ark., 2001).

Mikroorganizma büyüme hızı aşağıdaki formül ile ifade edilir (Bailey ve Ollis, 1986; Boulton ve ark., 1996).

$$\frac{dX}{dt} = \mu X$$

Burada;

t: Zaman (saat)

μ : Spesifik gelişme hızı (saat⁻¹)

X : Biyokütle miktarı (g/L)'dir.

Nanba ve ark. (1987), Huang ve ark. (1988), Tamer ve ark. (1988), Shu ve Yang (1990), Yeh ve ark. (1990), Starzak (1994), Sablayrolles (1995), Monteagudo ve ark. (1997), Marin (1999), Aiba ve ark. (2000), Arzumanov ve ark. (2000), Uden (2000), Gelmi ve ark. (2002), Reardon ve ark. (2002), Kim ve ark. (2003), Sainz ve ark. (2003) ve Schiraldi ve ark. (2003) yaptıkları çalışmalarda mikroorganizma büyüme hızını aynı model ile hesaplamışlardır.

Yöndem (1991) *Saccharomyces cerevisiae* ve *Lactobacillus plantarum* karışık kültürünün fermantasyon kinetiklerini inceledikleri bir çalışmada, aynı modelden yararlanmışlardır.

Özilgen ve ark. (1991), spontan şarap üretimi kinetiğinin belirlenmesi amacıyla yaptıkları çalışmada, mikroorganizmaların büyüme hızını 3 ayrı mikroorganizma büyüme evresinde incelemişler ve biyokütlenin zamana bağlı değişiminin,

Logaritmik evrede, $dX/dt = \mu X$

Durgun evrede, $dX/dt = 0$ ve

Ölüm evresinde, $dX/dt = -kX$

olduğunu belirtmişlerdir. Bu eşitliklerde:

k= Spesifik ölüm hızı (saat⁻¹) ve

X= Toplam biyokütle miktarı (g/L)'dir.

Denemelerde logaritmik evre durgun evre başlayıncaya kadar devam etmiş ve bu evrede etil alkolün mikroorganizma büyümesine inhibe edici etkisi olmamıştır.

Bu durum sıcaklık artışından kaynaklanmıştır. Sıcaklık artışı, mikroorganizma büyümesine, ürünün (etil alkolün) inhibe edici etkisini dengelemiş ve bu nedenle μ parametresi için sabit bir değer elde edilmiştir. Durgun evrede yeni oluşan hücre sayısı ile ölen hücre sayısı dengelenmiştir. Toplam hücre sayısı sabit kalmış ve maya hücreleri alkol fermantasyonunun sonuna doğru dibe çökmüştür. Ölüm evresinde biyokütle artışı negatif değerde bulunmuştur.

Canlı organizmadaki tüm olaylar enzimler tarafından katalizlendiğine göre hücre çoğalmasında görev alan bazı enzimler bu çoğalmayı kontrol eder şeklinde bir yaklaşımla enzim kinetiği ile büyüme kinetiği arasında bir ilişki kurulmuştur. Michaelis-Menten tarafından geliştirilen enzim kinetiğinde reaksiyon hızı nasıl substrat konsantrasyonunun bir fonksiyonu ise $V=f(S)$ spesifik büyüme hızı da substrat konsantrasyonunun bir fonksiyonudur (Telefoncu, 1995).

$$V=f(S)=V_{\max} \frac{S}{K_m+S}, \quad \mu=f(S)=\mu_{\max} \frac{S}{K_s+S}$$

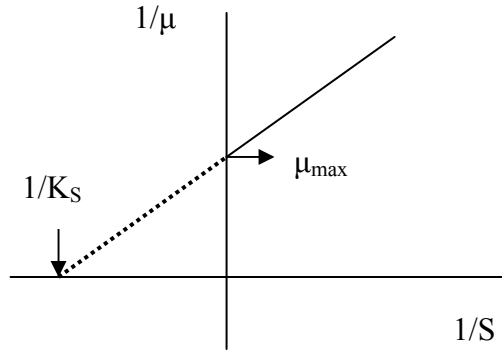
Michaelis-Menten modeli Monod modeli

Burada, substrat absorpsiyon için hücre kapasitesine göre fazla durumda ve substratın hücre içerisine alınması ile oluşan kinetik yollardan biri en yavaş yol olarak kabul edilmektedir. Bu yol, toplam reaksiyonun hızını sınırlamaktadır ve bu sınırlayıcı yol içinde, toplam hızı yönlendiren bir reaksiyon basamağı olduğu kabul edilmektedir. Bu basamak sınırlayıcı reaksiyon basamağıdır ve bu modelde hücre gelişiminin toplam hızı bir enzimatik reaksiyon basamağına bağlıdır (Kaplan, 2001).

Monod modelindeki K_s , büyüme hızının maksimum değerinin yarısına ulaştığı substrat konsantrasyonudur ve birimi g/L'dir. Spesifik büyüme hızının tersi alınarak Lineweaver-Burk ifadesine benzer bir eşitlik oluşturulabilir.

$$\frac{1}{\mu} = \frac{K_s}{\mu_{\max}} \cdot \frac{1}{S} + \frac{1}{\mu_{\max}}$$

$1/\mu$ ile $1/S$ arasında çizilen grafikten K_s ve μ_{\max} değerleri hesaplanır (Higgins ve ark, 1985; Bailey ve Ollis, 1986).



Şekil 2. 5. Hücre için Lineweaver-Burk grafiği (Atkinson ve Mavituna, 1991)

Bu modelin kullanılabilmesi için,

1) Enzim, reaksiyon hızının belirlenmesi için yapılan ölçümler sırasında stabil olmalıdır.

2) Tersinir reaksiyon ihmal edilebilmelidir.

3) Enzim aktivitesini inhibe edecek ürün oluşmamalıdır.

Sonuç olarak bu model, ortamda toksik metabolik ürünlerin mevcut olmadığı durumlarda uygulanabilmektedir (Luong, 1985; Marangeni, 2003).

Stanbury ve Whitaker (1989); Bailey ve Ollis, (1986); Telefoncu (1995); Boulton ve ark. (1996); Marin (1999) ve Waites ve ark (2001) substrat konsantrasyonuna bağlı spesifik gelişme hızını Monod modeli ile göstermişlerdir. Buna göre substrat konsantrasyonuna bağlı spesifik gelişme hızı,

$$\mu=f(S)=\mu_{\max} \frac{S}{K_s+S} \text{ şeklindedir.}$$

Burada;

μ_{\max} : Maksimum spesifik gelişme hızı (saat⁻¹)

K_s : Maksimum hızın yarısına neden olan substrat miktarı (g/L)'dir.

Marin (1999), alkol fermantasyonunun modellenmesi ile ilgili yaptığı çalışmada, substrat konsantrasyonuna bağlı mikrobiyel gelişme hızını,

$$\mu = \mu_{\max} \frac{S}{K_s + S} \quad \text{Monod modeli ile göstermiştir.}$$

Luong (1985) alkol fermantasyonuna etil alkol inhibisyonunun kinetiğini incelediği bir çalışmada, Huang ve Chen (1988) *Zymomonas mobilis* ile etil alkol fermantasyonunun kinetiğini inceledikleri bir çalışmada, Yeh ve ark. (1990) laktik asit fermantasyonunun kinetik modellenmesi ile ilgili yaptıkları bir çalışmada, Roca ve ark. (1996) immobilize *Saccharomyces cerevisiae* ile etil alkol oluşum kinetiğini inceledikleri bir çalışmada, Monteagudo ve ark. (1997) *Lactobacillus delbrueckii* tarafından laktik asit üretim kinetiğini inceledikleri bir çalışmada, Aiba ve ark. (2000) alkol fermantasyonuna ürün inhibisyonunun kinetiğini inceledikleri bir çalışmada, Reardon ve ark. (2002) saf ve karışık bakteri kültürleri tarafından aromatik hidrokarbonların indirgenme kinetiği ile ilgili yaptıkları bir çalışmada, Yalçın ve Özbaş (2003) *Saccharomyces cerevisiae* mayasının mikroorganizma büyümesi ve gliserol üretimi üzerine farklı substratların etkilerini inceledikleri bir çalışmada, substrat konsantrasyonuna bağlı mikroorganizma büyüme hızını Monod modeli ile bulmuşlardır.

Birol ve ark. (1998), immobilize *Saccharomyces cerevisiae* ile etil alkol oluşumunun matematiksel modellenmesi ile ilgili yaptıkları bir çalışmada, mikroorganizma büyüme hızını Monod modeli ile belirlemişlerdir.

Del Re ve ark. (2003), *Rhizopus oligosporus* ile nişasta atıklarının biyodönüşüm kinetiğini inceledikleri bir çalışmada, mikroorganizma büyüme hızını Monod modeli ile hesaplamışlardır.

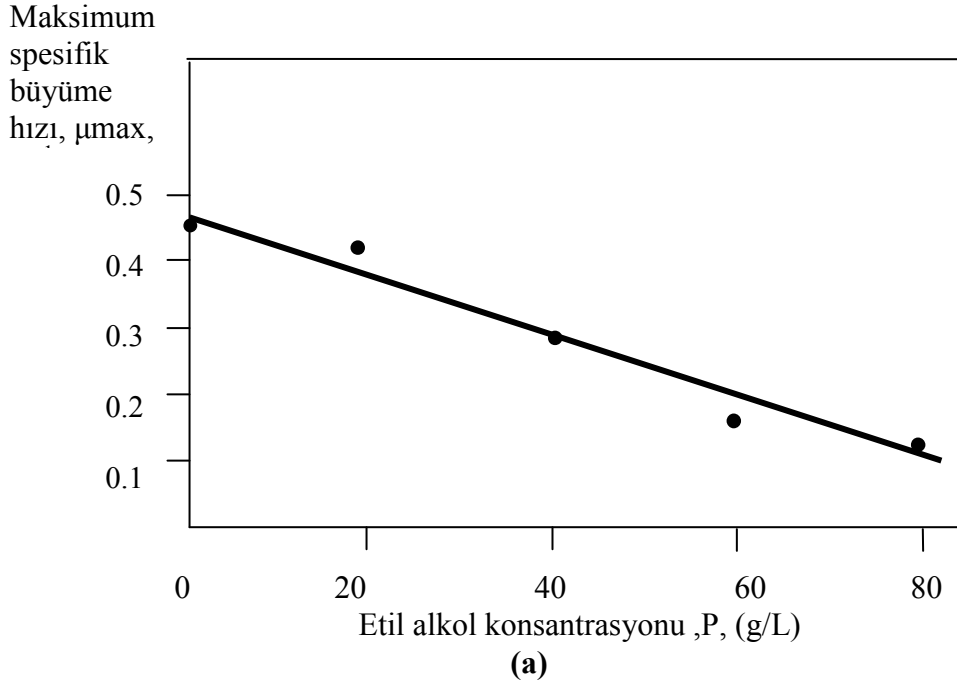
2.3.1.1.1. Etil Alkolün İnhibe Edici Etkisi

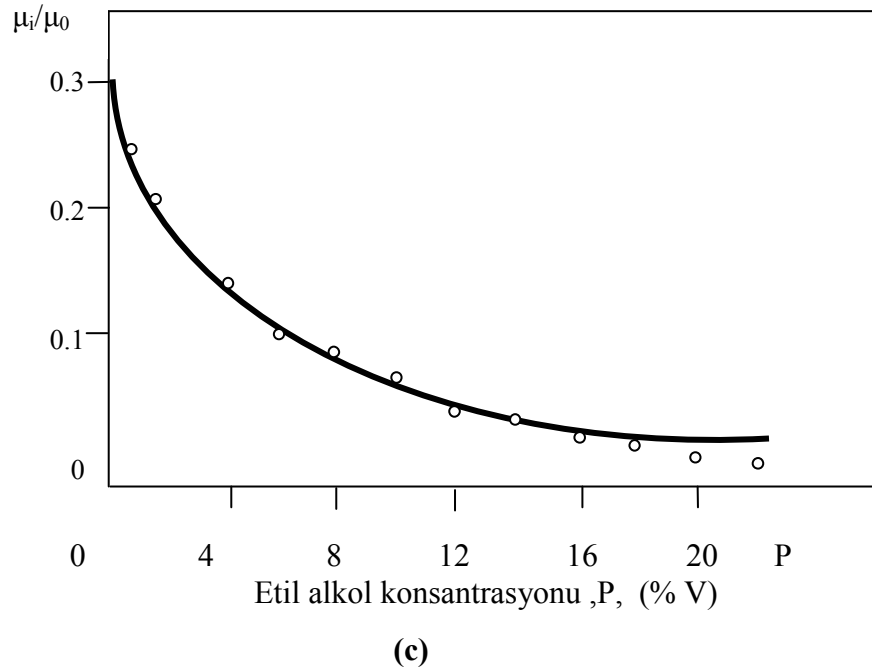
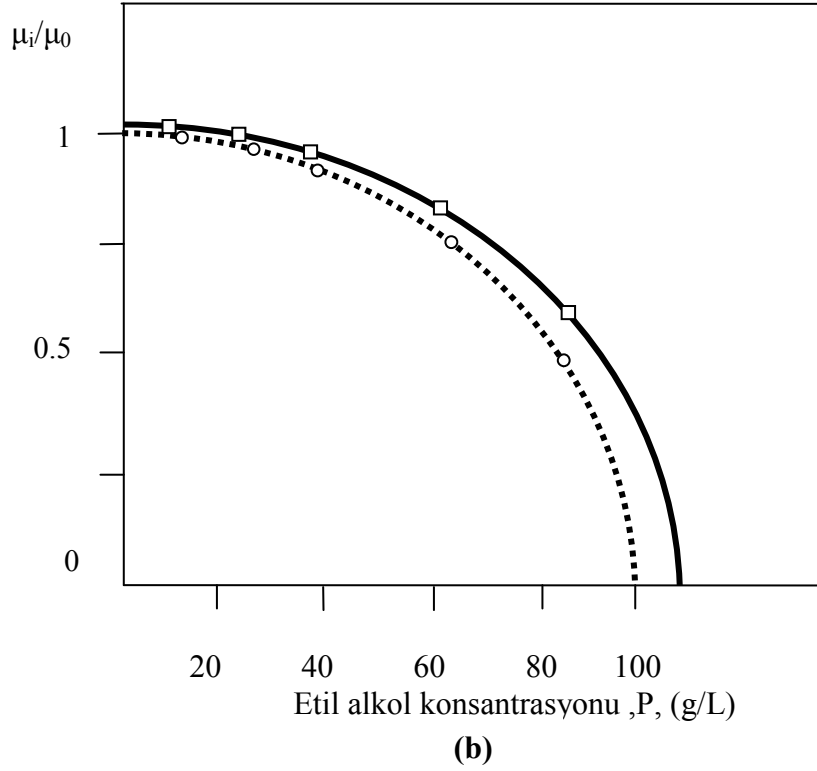
Alkol fermantasyonu etil alkol veya substratın yüksek konsantrasyonda olması durumunda inhibe olabilmektedir (Marin, 1999). Alkol, mayanın fermantasyon aktivitesini ve gelişimini inhibe eden en önemli bileşik olduğundan, alkole karşı tolerans şarapçılıkta starter olarak kullanılacak mayanın seçiminde önemli bir kriterdir. Mayaların, alkol oluşturma gücü, mayanın alkole karşı

toleransına bağlıdır. Alkole karşı tolerans, hücre içi alkol miktarı ile ilgilidir. Mayanın alkol verimi, hücre içi alkol konsantrasyonuna bağlıdır. Alkole toleransı olan mayalar, alkolü hücre dışına atabilme yeteneğine sahiptirler. Bu özelliğin mayanın hücre zarı bileşimi (sterol ve doymamış yağ asitleri bileşimi) ve yapısı ile ilgili olabileceği ve ayrıca alkole toleransı olan suşların daha az karbonhidrat depoladıkları bildirilmiştir (Nurgel, 2000). Etil alkolün inhibisyon etkisi sadece μ_m değeri üzerinedir ve K_s değeri üzerine inhibe edici etkisi yoktur. Bu nedenle substrat konsantrasyonuna bağlı mikroorganizma büyüme hızını gösteren Monod modeli,

$$\mu = \mu_i \frac{S}{K_s + S} \text{ şeklinde gösterilmektedir (Marin, 1999).}$$

Uden (2000)'in bildirdiğine göre maksimum spesifik gelişme hızı, etil alkol konsantrasyonunun artışı ile azalmaktadır. Bu durumda spesifik gelişme hızı ve alkol miktarı arasında çizilen grafik lineer ve lineer olmayan (içbükey, dışbükey) şekilde elde edilmektedir (Şekil 2.6.). Yapılan bazı çalışmalarda belirli bir etil alkol konsantrasyonuna (eşik etil alkol konsantrasyonu) kadar maksimum spesifik gelişme hızında azalma görülmemiştir.





Şekil 2.6. Etil alkolün *Saccharomyces cerevisiae*'nin maksimum spesifik gelişme hızı üzerine etkisi. (a) Lineer kinetik (b) Lineer olmayan (dış bükey) kinetik (c) Lineer olmayan (iç bükey) kinetik (Uden, 2000)

Marin (1999) büyüme hızı üzerinde substratın başlangıç konsantrasyonunun inhibe edici etkisinin önemli olduğu sonucuna varmıştır. Araştırmacı, 250 g/L başlangıç substrat konsantrasyonunda maksimum spesifik gelişme hızının 0.05 saat⁻¹, 20 g/L başlangıç substrat konsantrasyonunda ise maksimum spesifik gelişme hızının 0.4 saat⁻¹ olduğunu bildirmiştir. Ancak kesikli fermantasyon sisteminde ve anaerobik koşullar altında yaptığı çalışmada, 200 g/L'den daha düşük substrat konsantrasyonunun spesifik gelişme hızı üzerinde inhibe edici etkisinin olmadığı sonucuna varmıştır.

Moulin ve ark, (1984) üzüm suyunda *Saccharomyces cerevisiae hansen* suşunun büyümesinin ortamdaki etil alkol konsantrasyonu 68.5 g/L olduğunda durduğunu, öte yandan fermantasyon sonunda elde edilen etil alkol konsantrasyonunun 108 g/L olduğunu belirtmiştir. Benzer olarak 5 farklı *Saccharomyces cerevisiae* suşu ile yaptığı çalışmada hücre büyümesinin suşa bağlı olarak ortamdaki etil alkol miktarı 55 g/L'den, 103 g/L'ye değişen konsantrasyonlara ulaştığında durduğunu göstermiştir. Şaraplardan izole ettiği 632 maya suşu ile yaptığı çalışmada ise bu suşlardan 35'inin büyümesinin ortamdaki etil alkol konsantrasyonu 113 g/L'ye ulaşmaya kadar devam ettiğini belirtmiştir. Ayrıca, Moulin ve ark., (1984) maya hücrelerinin büyüme hızının ortamdaki etil alkol konsantrasyonu arttıkça azaldığını bildirmişlerdir (Çizelge 2.1.).

Çizelge 2.1. Kesikli sistemde etil alkol konsantrasyonunun (P) mayaların spesifik büyüme hızı (μ) üzerine etkisi (Moulin ve ark., 1984)

(A) <i>S. cerevisiae</i> NRL-Y-13		(B) <i>S. cerevisiae</i> ATCC 4126		(C) (A) <i>S. cerevisiae</i> NCYC 479	
P ₀ (g/L)	μ (saat ⁻¹)	P ₀ (g/L)	μ (saat ⁻¹)	P ₀ (g/L)	μ (saat ⁻¹)
0	0.4	0	0.44	0	0.280
24	0.264	50	0.36	20	0.251
50.4	0.17	60	0.36	40	0.200
66.0	0.091	80	0.28	60	0.139
80.2	0.043	100	büyüme yok	80	0.018
90	büyüme yok			100	0.024

Marin (1999)'in bildirdiğine göre, maya türlerinin diğer türlerde olduğu gibi kendi gelişmelerini inhibe etmeleri (mikroorganizmaların kendi inhibisyonu ve diğer mikroorganizma türleri tarafından inhibisyon) 4 farklı üzüm çeşidi kullanılarak ispatlanmıştır. Her iki etki (mikroorganizmaların kendi inhibisyonu ve diğer mikroorganizma türleri tarafından inhibisyon) tüm durumlarda elde edilmiştir ancak mikroorganizmaların kendi inhibisyon etkisinin, tüm inhibisyon etkileri içinde en zayıf olduğu bulunmuştur. Bu etkinin derecesi üzüm çeşidine göre değişmektedir. Benzer şekilde Marin (1999) spesifik büyüme hızındaki azalışın inokulum miktarındaki artış ile ilişkili olduğunu göstermiştir.

Çizelge 2.2.'de alkol fermantasyonu sırasında mikroorganizma büyüme hızını inhibe eden inhibitörleri (etil alkol, substrat, mikroorganizmanın kendi inhibisyonu) dikkate alan modifiye edilmiş formda Monod modelleri verilmiştir.

Çizelge 2.2. Farklı inhibitörlerin mikroorganizma büyüme hızı üzerine etkisi dikkate alınarak önerilen modeller (Marin, 1999)

Model	Etki türü
$\mu_i = (\mu_m - K_p P)$ $\mu_i = \mu_m e^{-K_p P}$ $\mu_i = \mu_m \frac{K_p}{K_p + P}$ $\mu_i = \mu_m (1 - P/P_c)^n$	Ürünün inhibe edici etkisi Lineer Logaritmik Hiperbolik Parabolik
$\mu_i = \mu_m (1 - P/P_c) \frac{S}{K_s + S + S^2/K_s - W}$	Substratın inhibe edici etkisi
$\mu_i = \mu_m \frac{S}{K_s + S} \frac{K_p}{K_p + P} - K_x X$	Mikroorganizmanın kendi inhibisyonu

Burada,

μ_i : inhibitörlerin etkisine bağlı spesifik büyüme hızını (saat⁻¹)

K_p : ürün inhibisyon sabitini (L/g)

P_c : hücre büyümesini engelleyen, kritik etil alkol konsantrasyonunu (g/L)

n : etil alkolün toksisite derecesini

K_x : mikroorganizmanın kendi inhibisyon sabitini

W : büyümeye, substrat inhibisyonunun derecesini göstermektedir.

Yalçın ve Özbaş (2003), *Saccharomyces cerevisiae* mayasının mikrobiyel büyüme ve gliserol üretimi üzerine farklı substratların etkilerini inceledikleri çalışmada, mikroorganizma büyüme hızı üzerinde substratın inhibe edici etkisinin yer aldığı modeli uygulamışlardır.

2.3.1.2. Sürekli Sistemde Mikroorganizma Büyüme Kinetiği

Mikroorganizmaların kesikli sistemde büyümeleri ile ilgili belirlenen kinetik parametreler, sürekli kültürün logaritmik evresindeki mikroorganizmalar için yapılacak hesaplamalarda çok önemlidir (Telefoncu, 1995).

Sürekli sistemde substrat çözeltisi sabit bir akış hızı (F) ile sisteme verilir ve sistemdeki sıvı hacminin değişmemesi için sistemde bulunan sıvı aynı akış hızı ile dışarı alınır (Stanbury ve Whitaker, 1989; Waites ve ark., 2001). Fermentördeki sıvı hacminin değişmediği koşullarda denge koşullarına ulaşılır ve böyle bir sistem matematiksel olarak:

$$D = \frac{F}{V} \text{ (saat}^{-1}\text{) şeklinde ifade edilir.}$$

Burada V: sistemde bulunan sıvı hacmi (l), F: substrat çözeltisinin sisteme akış hızı (L/saat) ve D: ise seyreltme hızı (bir saatte reaktör içinden dışarı alınan sıvı miktarı)'dır (Stanbury ve Whitaker, 1989; Bailey ve Ollis, 1986; Waites ve ark., 2001).

Sürekli bir sistemde mikroorganizma hücrelerinin konsantrasyonundaki değişim:

$$\frac{dX}{dt} = \mu X - DX \text{ modeli ile gösterilir.}$$

Bu modelde;

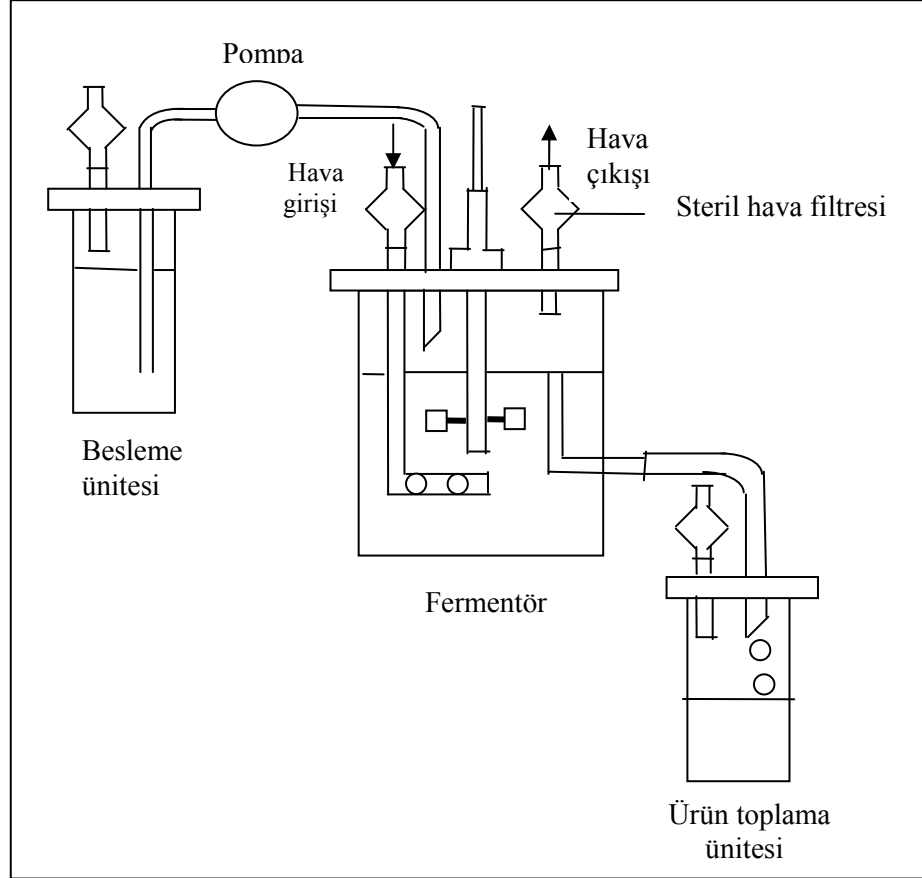
μX : sistemde bulunan mikroorganizma hücrelerinin büyüme hızı

DX : sistemde bulunan mikroorganizma hücrelerinin sistemden kayıp hızıdır.

Denge koşulları oluştuğunda yani sistemdeki sıvı hacminin değişmediği koşullarda $dX/dt = 0$ olur ve,

$$\frac{dX}{dt} = 0 = \mu X - DX$$

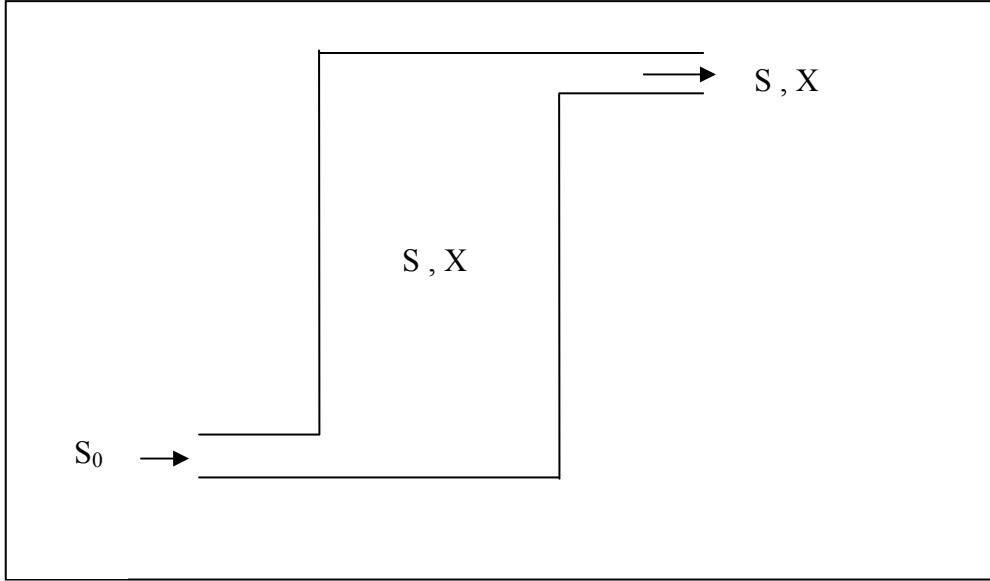
modelinden, $\mu = D$ eşitliği bulunur. Seyreltme hızı sayısal olarak büyüme hızına eşittir (Stanbury ve Whitaker, 1989)



Şekil 2.7. Sürekli sistem (Waites ve ark., 2001)

Denge koşullarına ulaşıldığında sistem içinde hücre ve substrat konsantrasyonları sabit kalır ve sistemden çıkan sıvıda da hücre ve substrat konsantrasyonları aynıdır. Sistemde bulunan substrat konsantrasyonu sisteme verilen substrat çözeltisi ile artarken, sistemden çıkan sıvı ve hücre büyümesi için tüketilen substrat sebebiyle azalır (Telefoncu, 1995).

$$\frac{dS}{dt} = D S_0 - DS - \frac{1}{Y_{x/s}} \mu X$$



Şekil 2.8. Sürekli bir sistemin basitleştirilmiş şeması (Telefoncu, 1995)

Denge koşullarında $dS/dt = 0$ ve $\mu = D$ olduğundan,

$$\frac{dS}{dt} = D S_0 - DS - \frac{1}{Y_{X/S}} \mu X \text{ eşitliğinden;}$$

$$X = Y_{X/S} (S_0 - S) \text{ yazılabilir.}$$

$Y_{X/S}$, hücre verim katsayısı olup bir gram substratın tüketilmesiyle oluşan hücre kütlesinin gram olarak miktarıdır. Buna göre sürekli sistemdeki hücre konsantrasyonu, sisteme verilen substrat çözeltisinin konsantrasyonu ve verim katsayısına bağlıdır (Stanbury ve Whitaker, 1989; Bailey ve Ollis, 1986; Waites ve ark., 2001).

Monod denklemi sürekli sistem için uygulanacak olursa;

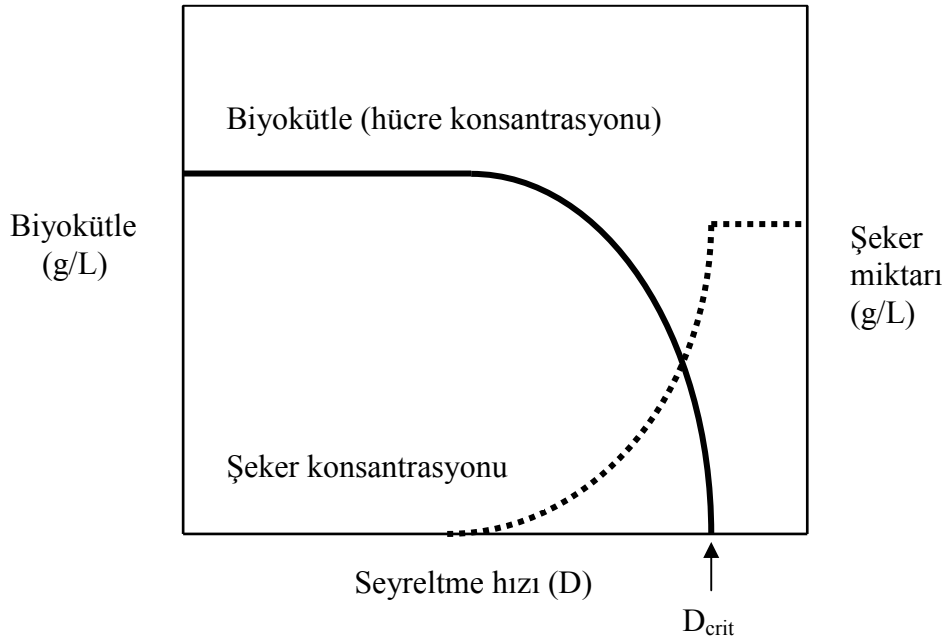
$$\mu = D = \mu_{\max} \frac{S}{K_s + S} \longrightarrow S = \frac{K_s D}{\mu_{\max} - D}$$

modeli elde edilir. Bu modelde,

$$D \ll \mu_{\max} \text{ ise; } S \longrightarrow 0 \text{ ve } X = Y_{X/S} \cdot S_0$$

$$D \gg \mu_{\max} \text{ ise; } S \longrightarrow S_0 \text{ ve } X \longrightarrow 0 \text{ dır.}$$

Seyreltme hızı (D)'nın, maksimum spesifik gelişme hızından küçük olması durumunda hücre konsantrasyonu (X) maksimum değeri alır. Seyreltme hızı maksimum spesifik gelişme hızına eşit olursa hücre konsantrasyonu sıfır değerine yaklaşır ki bu duruma karşılık gelen seyreltme hızına kritik seyreltme hızı denir (Waites ve ark., 2001).



Şekil 2.9. Sürekli sistemde mikroorganizma gelişimi (Stanbury ve Whitaker, 1989)

Horvath ve ark., (2001) sürekli sistemde *Saccharomyces cerevisiae*'nin gelişmesi üzerine furfural'ın etkisini inceledikleri bir çalışmada, *Saccharomyces cerevisiae*'nin büyüme hızını 3 farklı seyreltme hızı ve üç farklı furfural konsantrasyonu kullanarak belirlemişlerdir (Çizelge 2.3.).

Çizelge 2.3. Sürekli sistemde furfural konsantrasyonunun *Saccharomyces cerevisiae*'nin spesifik büyüme hızı (μ) üzerine etkisi (Horvath ve ark., 2001)

Seyreltme hızı (saat ⁻¹)	Furfural konsantrasyonu (g/L)		
	4	8	12
	μ (saat ⁻¹)	μ (saat ⁻¹)	μ (saat ⁻¹)
0.097	0.055 \pm 0.023	0.032 \pm 0.011	0.041 \pm 0.012
0.189	0.149 \pm 0.024	0.105 \pm 0.020	0.079 \pm 0.018
0.275	0.198 \pm 0.051	0.126 \pm 0.028	0.094 \pm 0.027

Ayrıca, araştırmacılar farklı furfural konsantrasyonu ve farklı seyreltme hızı kullanarak yaptıkları çalışmada hücre verim katsayısını (Y_x/s) belirlemişlerdir. Buna göre araştırmacılar, 0.095 seyreltme hızında hücre verim katsayısının (Y_x/s) 0.094–0.103 arasında, 0.190 seyreltme hızında ise 0.098– 0.110 arasında değiştiğini bildirmişlerdir.

2.3.2. Etil Alkol Üretimi Kinetiği

Giridhar ve Srivastava (2000) ve Telefoncu (1995) kinetik parametrelerin sayısal değerlerinin belirlenmesi üzerine yaptıkları çalışmada, kesikli sistemlerde ürün oluşumunun, logaritmik ve durgun evre ile bunlar arasında yer alan yavaşlama evresinde gerçekleştiğini bildirmiştir. Araştırmacılar ürün oluşum kinetiğini Leudeking-Piret modeli ile göstermiştir. Bu modelde ürün oluşum kinetiği,

$$\frac{dP}{dt} = \beta \frac{dX}{dt} + \alpha X \text{ şeklinde ifade edilmektedir.}$$

Burada;

P: Etil alkol miktarı (g/L),

β : Logaritmik fazda (büyümeye bağlı) gram biyokütle tarafından üretilen gram etil alkol miktarı ve

α : Durgun fazda (büyümeden bağımsız) gram biyokütle tarafından üretilen gram etil alkol miktarıdır.

Bu model mikrobiyel metabolitlerin birincil (ürün oluşum hızı, biyokütle üretim hızına bağlıdır: $\alpha=0$), ikincil (ürün oluşum hızı ortamda mevcut biyokütle konsantrasyonuna bağlıdır: $\beta=0$) ve karışık (ürün oluşum hızı, büyüme hızına ve ortamda mevcut biyokütle konsantrasyonuna bağlıdır: $\beta=0$ ve $\alpha=0$) olarak sınıflandırılmasına olanak vermektedir. β ve α sırası ile logaritmik (büyümeye bağımlı) ve durgun (büyümeden bağımsız) fazlarda ürün oluşumunu içeren sabitlerdir (Giridhar ve Srivastava, 2000; Alvarez ve ark., 2004).

Gaden (2000) fermantasyon işlemlerinin kinetik açıdan 3 grup altında toplanabileceğini bildirmiştir.

Tip 1: Bu tip fermantasyon işleminde ana ürün birincil enerji metabolizması sonucu ortaya çıkmaktadır. Örnek olarak; mayaların aerobik olarak çoğalması (kütleli hücre artışı), alkol fermantasyonu, glikozun glukonik aside oksidasyonu ve şekerlerin laktik aside parçalanması verilebilir.

Tip 2: Ana ürün enerji metabolizmasının reaksiyonlarından indirekt olarak oluşmaktadır. Bu tip fermantasyon işleminde ürün karbon kaynağının direkt oksidasyonu sonucu oluşmaz ancak bazı yan ürün reaksiyonları veya direkt metabolik ürünler arasındaki reaksiyonlar sonucunda oluşur. Örnek olarak; sitrik asit oluşumu ve bazı aminoasitlerin oluşumu verilebilir.

Tip 3: Ana ürün enerji metabolizması sonucu oluşmaz. Ancak, bağımsız olarak hücreler tarafından biriktirilir. Örnek olarak antibiyotik sentezi verilebilir.

Bu fermantasyon tipleri ürün oluşum hızı bakımından oldukça farklılık gösterir. I. tip fermantasyon işleminde, sadece bir maksimum hız görülür ve bu tip fermantasyon işlemlerinde ürün oluşumu büyüme bağımlıdır.

İkinci tip fermantasyon işleminde iki maksimum hız görülür. Birinci evrede ürün oluşumu daha azdır. İkinci evrede ise ürün oluşum hızı maksimumdur.

Üçüncü tip fermantasyon işleminde iki evre gösterilmesine karşın. I. evrede enerji metabolizmasının tüm engelleri maksimumdur ve bu nedenle ürün oluşumu yok denecek kadar azdır. II. evrede ise ürün oluşumu, yani ürün oluşum hızı maksimumdur.

Ürün oluşum kinetikleri, ürün oluşumu ve substrat tüketimi veya mikroorganizma büyümesi arasındaki basit sitokiyometrik ilişkilerdir. Ürün oluşumu mikroorganizma büyümesi ile ilişkilendirildiği zaman ürün oluşum hızı (dP/dt):

$$\frac{dP}{dt} = \beta \frac{dX}{dt}$$

şeklinde yazılabilir (Monteagudo ve ark., 1997). Bu model büyümeye bağımlı model olarak adlandırılmaktadır ve ürün birincil metabolizmadan oluşmaktadır (Gök, 1998). Alkol fermantasyonu bu sınıfa bir örnektir ve bu tür ürün oluşum kinetikleri büyümeye bağımlı olarak adlandırılmaktadır (Monteagudo ve ark., 1997).

Çoğu fermantasyonlar ikincil metabolitleri içerir. İkincil metabolitler büyümeden bağımsız ürünler olarak adlandırılmaktadır ve ürün oluşum kinetiği büyüme hızından bağımsızdır. Fermantasyonun sonuna kadar önemli miktarda ürün oluşumu gözlenmez. Ürün oluşumu durgun fazda veya durgun faza yaklaşırken oluşur. Ürün oluşumu yalnız hücre konsantrasyonuna bağlıdır. Bu durumda ürün oluşum hızı:

$$\frac{dP}{dt} = \alpha X$$

olarak ifade edilmektedir. Bu model büyümeden bağımsız model olarak adlandırılmaktadır ve ikincil metabolitler büyümeden bağımsız ürünlerdir (Monteagudo ve ark., 1997).

Monteagudo ve ark., (1997) ve Ruggeri ve ark., (1988)'nın bildirdiklerine göre *Lactobacillus delbrueckii* laktik asit bakterisi ile laktik asit fermantasyonları ile ilgili yapılan çalışmalarda ürün oluşum kinetiği için büyümeye bağımlı ve büyümeden bağımsız modellerin kombinasyonu kullanılmıştır. Buna göre, ürün oluşum hızı;

$$\frac{dP}{dt} = \beta \frac{dX}{dt} + \alpha X \text{ modeli ile ifade edilmektedir.}$$

Laktik asit fermantasyonları laktik asit bakterileri tarafından gerçekleştirilir. Bu bakterilerden bazıları şekerleri yalnız laktik aside parçaladıkları halde diğerleri

laktik asit yanında diğer bazı maddeler de oluşturur. Bunlardan birincilerine homofermantatif laktik asit bakterileri diğerlerine ise heterofermantatif laktik asit bakterileri denir. *Lactobacillus delbrueckii* homofermantatif bir laktik asit bakterisidir (Canbaş, 1994).

Yongqiang ve Dehua (2003), kesikli sistemde *Candida krusei* mayasının gliserol üretim kinetiği ile ilgili yaptıkları çalışmada, ürün oluşum hızını belirlemek için Leudeking-Piret modelini kullanmışlardır.

Özilgen ve ark (1991), spontan şarap üretimi kinetiği ile ilgili yaptıkları çalışmada, ürün oluşum kinetiğini, Leudeking-Piret modeli ile göstermişlerdir. Ayrıca, bu modelin sadece saf kültür fermantasyonları için geçerli olduğunu belirtmişler ve β 'yı bir değişken gibi düşünerek Leudeking ve Piret denklemini modifiye etmişlerdir. Bu değişimde, fermantasyon ortamındaki mikroorganizmaların, alkol konsantrasyonuna bağlı olarak değişiklik gösterdiği dikkate alınmış ve β değeri ortamdaki etil alkol konsantrasyonu ile ilişkilendirilmiştir ($\beta = \beta_0 + \beta_1 P + \beta_2 P^2$). Etil alkol konsantrasyonu ve β_0 , β_1 ve β_2 sabitleri toplam populasyonda yer alan mikroorganizmalara bağlıdır. Saf kültür fermantasyonlarında mikroorganizmaların etil alkol üretimi β_0 'a eşittir. β_1 ve β_2 parametreleri ise etil alkol konsantrasyonunun etkisini içermektedir.

Luedeking-Piret modeli, etil alkol fermantasyonu dışındaki fermantasyonlarda da kullanılmıştır. Tamer ve ark. (1988) *Saccharomyces cerevisiae* ile Riboflavin üretim kinetiğini, Kösebalaban (1991) asetik asit bakterileri tarafından şarapların bozulma kinetiğini, Yöndem (1991) *Saccharomyces cerevisiae* ve *Lactobacillus plantarum* karışık kültürlerinin fermantasyon kinetiğini, Özen (1991) *Streptococcus thermophilus* ve *Lactobacillus plantarum* karışık kültürünün laktik asit üretim kinetiğini, Norton ve ark. (1994) immobilize *Lactobacillus helveticus*'un laktik asit üretim kinetiğini ve Del Re ve ark. (2003) *Rhizopus oligosporus* ile nişasta atıklarının biyodönüşüm kinetiğini inceledikleri çalışmalarda ürün oluşum kinetiğini Leudeking-Piret modeli ile hesaplamışlardır.

$$\frac{dP}{dt} = \beta \frac{dX}{dt} + \alpha X$$

eşitliğinin integrali alındığında çözüm 1, modelin her iki tarafı $1/X$ ile çarpıldığında ise çözüm 2 elde edilir.

$$\text{Çözüm 1) } P(t) = P_0 + \beta X_0 [e^{\mu(t-t_0)} - 1] + \frac{\alpha X_0}{M} [e^{\mu(t-t_0)} - 1]$$

$$\text{Çözüm 2) } \frac{1}{X} \frac{dP}{dt} = \beta \frac{1}{X} \frac{dX}{dt} + \alpha$$

2.3.3. Substrat Tüketimi Kinetiği

Çelik, (1990); Monteagudo ve ark., (1997); Marin, (1999) kesikli sistemde substrat tüketimi kinetiğinin belirlenmesinde en genel denklemin biyokütle oluşumu, etil alkol oluşumu ve biyokütlenin metabolik aktivitesi için gerekli substrat tüketimini kapsadığını bildirmişlerdir. Buna göre substrat tüketim kinetiği:

$$-\frac{dS}{dt} = \frac{1}{Y_{X/S}} \cdot \frac{dX}{dt} + \frac{1}{Y_{P/S}} \cdot \frac{dP}{dt} + mX$$

şeklinde ifade edilmektedir.

Burada;

X: Biyokütle miktarı (g/L),

S: Substrat miktarı (g/L),

$Y_{N/S}$: Substrata (şeker) bağlı hücre verimi (fermente edilen her bir gram şeker için elde edilen hücre sayısı),

$Y_{X/S}$: Substrata (şeker) bağlı biyokütle verimi (fermente edilen her bir gram şeker için elde edilen gram biyokütle miktarı),

$Y_{P/S}$: Substrata (şeker) bağlı ürün verimi (fermente edilen her bir gram şeker için elde edilen gram etil alkol miktarı) ve

m: Spesifik metabolik gereksinim (saat⁻¹)'dir.

Biyokütlenin metabolik aktivitesi ile ilgili terim (m) diğer terimlerle kıyaslandığında ihmal edilebilmektedir. Bu durumda,

$$-\frac{dS}{dt} = \frac{1}{Y_{X/S}} \cdot \frac{dX}{dt} + \frac{1}{Y_{P/S}} \cdot \frac{dP}{dt}$$

eşitliği elde edilmektedir ve bu model mikroorganizmaların logaritmik büyüme fazında uygulanmaktadır (Çelik, 1990).

$Y_{X/S}$ biyokütle verim katsayısıdır ve

$$Y_{X/S} = \frac{\text{sentezlenen biyokütle miktarı}}{\text{tüketilen substrat miktarı}}$$

$Y_{P/S}$ ürün verim katsayısıdır ve

$$Y_{P/S} = \frac{\text{sentezlenen ürün miktarı}}{\text{tüketilen substrat miktarı}}$$

şeklinde tanımlanmaktadır ve bu parametreler matematiksel olarak;

$$-\frac{dS}{dt} = \frac{1}{Y_{X/S}} \cdot \frac{dX}{dt} \quad \text{ise}$$

$$Y_{X/S} = -\frac{dX}{dS} = \frac{(X_0 - X)}{(S_0 - S)} \quad \text{ve}$$

$$-\frac{dS}{dt} = \frac{1}{Y_{P/S}} \cdot \frac{dP}{dt} \quad \text{ise}$$

$$Y_{P/S} = -\frac{dP}{dS} = \frac{(P_0 - P)}{(S_0 - S)}$$

şeklinde ifade edilmektedir (Higgins ve ark., 1985; Çelik, 1990).

Ülgen (1987) *Kluyveromyces fragilis* ile substrat tüketim ve ürün oluşum kinetiğini, Tamer ve ark. (1988) *Saccharomyces cerevisiae* ile Riboflavin üretim kinetiğini, Özilgen ve ark. (1991) spontan şarap üretimi kinetiğini ve Marin (1999) alkol fermantasyonunda substrat tüketim kinetiğini inceledikleri çalışmalarda substrat tüketim kinetiğini,

$$-\frac{dS}{dt} = \frac{1}{Y_{X/S}} \cdot \frac{dX}{dt} + \frac{1}{Y_{P/S}} \cdot \frac{dP}{dt}$$

modeli ile belirlemişlerdir ve bu modelin çözümü şu şekildedir;

Etil alkol üretimi için verilen,

$$\frac{dP}{dt} = \beta \frac{dX}{dt} \quad \text{eşitliği yeniden yazıldığında,}$$

$$\frac{dP}{dX} = \beta \quad \text{eşitliği elde edilir. Bu eşitlik}$$

$$-\frac{dS}{dt} = \frac{1}{Y_{X/S}} \cdot \frac{dX}{dt} + \frac{1}{Y_{P/S}} \cdot \frac{dP}{dt} \quad \text{modelinde yerine konulduğunda,}$$

$$\frac{dS}{dt} = -\frac{1}{Y} \cdot \frac{dX}{dt},$$

$$\frac{1}{Y} = \frac{1}{Y_X} + \frac{\beta}{Y_P} \quad \text{elde edilir.}$$

Y: Hücre verimi

Buna göre substrat tüketim kinetiği ile ilgili,

$$-\frac{dS}{dt} = \frac{1}{Y_{X/S}} \cdot \frac{dX}{dt} + \frac{1}{Y_{P/S}} \cdot \frac{dP}{dt} \quad \text{modelinin çözümü}$$

$$(S - S_0) = - \frac{1}{Y} (X - X_0) \text{ şeklindedir (Ülgen, 1987).}$$

2.3.4. Aktivasyon enerjisi (Ea)

Aktivasyon enerjisi, tepkimelerin gerçekleşebilmesi için tepkimeye girecek taneciklerin çarpışması için gerekli en küçük enerji miktarıdır (Saçak, 2002).

Aktivasyon enerjisi tepkime hızı ile sıcaklık arasında verilen

$k = A e^{-Ea/Rt}$ modelinin logaritmasının alınmasıyla elde edilen

$$\ln k = \ln A - \frac{Ea}{RT}$$

modeli kullanılarak hesaplanmaktadır (Levine, 1995; Jideani ve ark., 2002).

Bu modelde,

k: hız sabiti

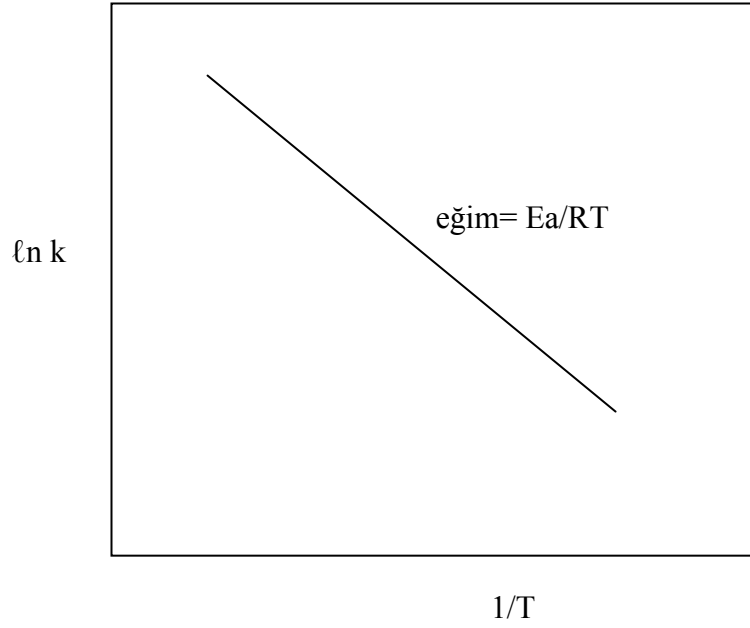
A: logaritmik faktör

Ea: aktivasyon enerjisi (k j/mol K)

R: Üniwersal gaz sabiti (8,314 j/mol K)

T: Sıcaklık (Kelvin) (K) (K= 273 + °C)'tır.

Buna göre $\ln k$ 'nın $1/T$ 'ye karşı grafiği çizilir ve elde edilen doğrunun eğiminden aktivasyon enerjisi hesaplanır (Bailey ve Ollis, 1986; Saçak, 2002).



Şekil 2.10. Aktivasyon enerjisinin hesaplanması (Levine, 1995)

Aktivasyon enerjisinin bilinmesi, herhangi bir sıcaklıkta hız sabiti belli olan bir tepkimenin başka bir sıcaklıktaki hız sabitini, dolayısıyla hızını bulmak açısından önemlidir.

Sıcaklık ile tepkime hızı arasında verilen

$$\ln k = \ln A - \frac{E_a}{RT}$$

modeli iki farklı sıcaklık için yazılıp birbirinden çıkarılırsa

$$\ln \frac{k_2}{k_1} = \frac{E_a}{R} \frac{(T_2 - T_1)}{(T_2 \times T_1)}$$

modeli elde edilir. Modeldeki k_1 ve k_2 terimleri sırası ile T_1 ve T_2 sıcaklıklarında yürütülen tepkimelerin hız sabitleridir (Levine, 1995; Jideani ve ark., 2002; Saçak,2002).

2.3.5. Kinetik Modellerin Çözümleri ve Kinetik Parametrelerin Belirlenmesi

Matematik modelleri kurmak için şu kurallar gözlenmelidir:

- 1) Fiziksel sistemler ele alındığı zaman bilinmeyen sayısı kadar eşitlik olmalıdır.
- 2) Diğer bilinmeyen değerlerin öteki denklemlerden elde edilebilmesi koşuluyla herhangi bir eşitlik tek bir bilinmeyen değer için çözülebilir.
- 3) Eşitlikler, her bir eşitlikten bir bilinmeyen çözecek biçimde sırayla kurulmalıdır (Gültekin ve Gülen, 2001).

Bir modelden optimum çözümün elde edilmesinde iki yöntem vardır. Bu yöntemler analitik ve nümerik yöntemlerdir. Analitik yöntemler matematiksel tümdengelinin kullanımını içermektedir ki bu matris veya cebir gibi çeşitli matematik branşların uygulamalarını gerektirmektedir.

Nümerik yöntemler modelde bulunan kontrol değişkenlerin çeşitli değerleri deneyerek elde edilmektedir. Elde edilen sonuçlar karşılaştırılmakta ve en iyi çözümün elde edildiği kontrol değişkenlerin değerleri seçilmektedir. Bazı uygulamalar deneme ve yanılma yönteminden tekrarlama yöntemine kadar değişen çeşitli yöntemleri içerir. Tekrarlama yöntemi optimum çözümün elde edilmesinde daha iyi sonuç vermektedir (Bender ve ark., 1976; Ruggeri ve ark., 1988).

Analitik yöntemler differansiyel denklemlerin integrasyonunu içerir. Differansiyel denklemlerin nümerik integrasyonunda ise direkt olarak deneysel veriler kullanılır ve bu yöntemdeki hatalar integrasyonun deneysel veriler kullanılarak yapılmasından kaynaklanmaktadır (Ruggeri ve ark., 1988). Nümerik integrasyon yöntemleri:

- 1) Yamuk kuralı
- 2) Simpson kuralı
- 3) Euler tek adım metodu ve
- 4) Runga-Kutta metotlarını içerir.

Bu metotlardan Runga-Kutta metodu oldukça fazla kullanılmakta olup oldukça güçlü bir metottur (Gültekin ve Gülen, 2001).

Bu aşamaya kadar fermantasyonla ilgili verilen kinetik modeller ve bunların analitik yöntemlerle çözümü çizelge 2.4.'te verilmiştir (Ülgen, 1987; Kösebalaban, 1991; Özen, 1991; Waites ve ark., 2001).

Çizelge 2.4. Kullanılan kinetik modeller ve çözümleri

Model	Çözüm
$\frac{dX}{dt} = \mu X$	$X = X_0 e^{\mu t}$ veya $\mu = \ln X - \ln X_0 / t_2 - t_1$
$\frac{dX}{dt} = -k_d X$	$X = X_0 e^{-k_d t}$ veya $k_d = \ln X - \ln X_0 / t_2 - t_1$
$\frac{dP}{dt} = \beta \frac{dX}{dt} + \alpha X$	$P(t) = P_0 + \beta X_0 [e^{\mu(t-t_0)} - 1] + \frac{\alpha X_0}{\mu} [e^{\mu(t-t_0)} - 1]$ veya $\frac{1}{X} \frac{dP}{dt} = \beta \frac{1}{X} \frac{dX}{dt} + \alpha$
$\frac{dP}{dt} = \beta \frac{dX}{dt}$	$\beta = \frac{(P - P_0)}{(X - X_0)}$
$\frac{dS}{dt} = \frac{1}{Y_{X/S}} \cdot \frac{dX}{dt}$	$Y_{X/S} = - \frac{dX}{dS} = \frac{(X_0 - X)}{(S_0 - S)}$
$\frac{dP}{dt} = \frac{1}{Y_{P/S}} \cdot \frac{dP}{dt}$	$Y_{P/S} = - \frac{dP}{dS} = \frac{(P_0 - P)}{(S_0 - S)}$

Çizelge 2.4.' ün devamı

Model	Çözüm
$\frac{dS}{dt} = \frac{1}{Y_{X/S}} \cdot \frac{dX}{dt}$ $+ \frac{1}{Y_{P/S}} \cdot \frac{dP}{dt}$	$(S - S_0) = - \frac{1}{Y} (X - X_0)$

3. MATERYAL VE METOT**3.1. Materyal****3.1.1. Hammadde ve Yardımcı Maddeler**

Denemelerde, Nevşehir-Ürgüp yöresinden sağlanan, Emir üzümü kullanılmıştır.

Şarap üretiminde *Saccharomyces cerevisiae* 'Zymaflore VL1' (Bordeaux, Fransa) ve *Saccharomyces cerevisiae* 'Uvaferm CM' (Lallemand, Fransa) ticari maya suşları kullanılmıştır.

3.1.2. Denemelerde Kullanılan Araç ve Gereçler

Üzümlerin, Ç.Ü. Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü Pilot Şarap İşletmesine taşınmasında 25-30 kg'lık plastik kasalar kullanılmıştır. Ezme işlemi şarap işletmesinde bulunan paletli ve kauçuk valsli bir ezme değirmeninde gerçekleştirilmiştir. Sıkma işleminde kesikli çalışan yatık bir pres kullanılmıştır.

Denemelerde alkol fermantasyonu, fermantasyon başlıklı, 10 litrelik cam damacanalarda ve 18°C ve 25°C olmak üzere iki farklı sıcaklıkta gerçekleştirilmiştir.

Şıranın pastörizasyonu, "Mommert" marka su banyosunda gerçekleştirilmiştir.

3.1.3. Analizlerde Kullanılan Araç ve Gereçler

Analizler için gerekli çözeltilerin hazırlanmasında "Stuart" marka manyetik karıştırıcı, biyokütle ve şeker analizleri için ise "Nüve" marka tüp karıştırıcı kullanılmıştır.

Kükürtleme işleminde % 5'lik sıvı kükürtdioksit çözeltisinden yararlanılmıştır.

Şeker ve biyokütle analizleri için yapılan spektrofotometrik ölçümler ‘Shimadzu UV-1201’ marka spektrofotometrede gerçekleştirilmiştir.

Mayaların sayımında ‘Euromex’ marka mikroskop kullanılmıştır.

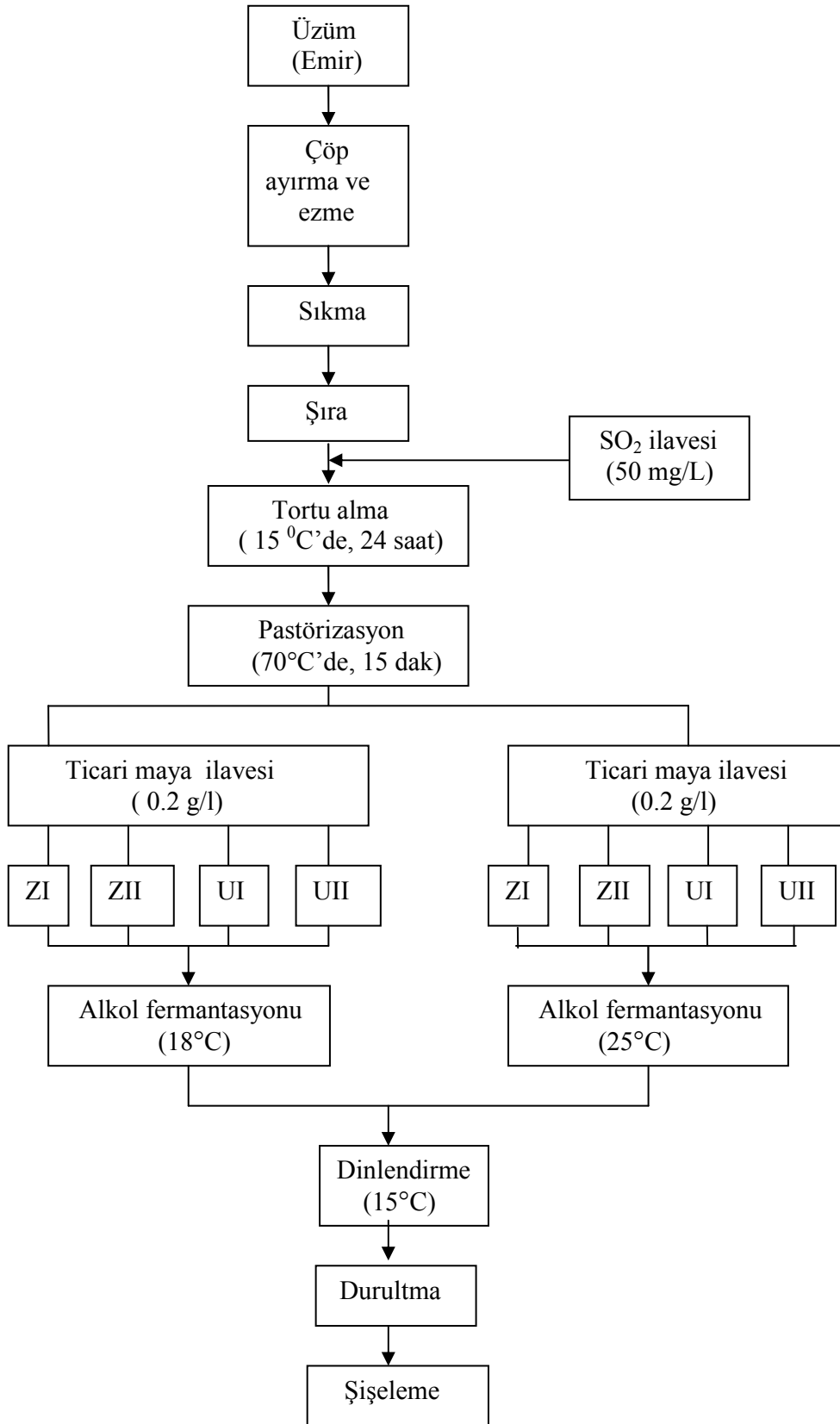
Mayaların inkübasyonunda ‘Sanyo’ marka soğutmalı inkübatörden yararlanılmıştır.

Biyokütle analizi için mayalar ‘Edmund Bühler’ marka orbital karıştırıcıda çoğaltılmıştır. Besiyerlerinin ve cam malzemelerin sterilizasyonunda ‘Hirayama’ (Japonya) marka otoklav kullanılmıştır.

3.2. Metot

3.2.1. Denemelerin Düzenlenmesi

Denemeler de ele alınan değişkenler ve gerçekleştirilen uygulamalar Şekil 3.1.’de verilmiştir.



Şekil 3.1. Emir üzümünün şaraba işlenmesinde uygulanan işlemler (ZI ve ZII: 'Zymaflore VL1', UI ve UII: 'Uvaferm CM')

Emir üzümü çöp ayırma düzenli üzüm ezme değirmeninden geçirildikten sonra sıklımış ve elde edilen şıraya 50 mg/L hesabıyla kükürtdioksit ilave edildikten sonra şıra, tortu alma işlemi uygulanmak üzere 24 saat süre ile 15°C'lik mahzene alınmıştır.

Tortu alma işleminden sonra şıra su banyosunda 70°C'de 15 dakika süre ile pastörize edilmiştir. Daha sonra hızla soğutulan şıradan 9'ar litre alınmış ve 10 litrelik cam damacanalara aktarılmıştır. Denemeler 0.2 g/L hesabıyla 'Zymaflore VL1' ve 'Uvaferm CM' ticari maya suşları ilave edilerek 18°C ve 25°C olmak üzere iki farklı sıcaklıkta gerçekleştirilmiştir. Denemeler iki paralel halinde yürütülmüştür.

Alkol fermentasyonu tamamlandıktan sonra şaraplar havalı olarak aktarılmış ve içlerine 30 mg/L kükürt dioksit ilave edildikten sonra, sıcaklığı 15-18°C arasında değişen dinlenme mahzenine alınmıştır.

3.2.2. Örnekler Üzerinde Yapılan Analizler

Fermentasyona terk edilen şıralardan, 12 saat arayla 250 ml örnek alınmıştır. Örnekler alınır alınmaz canlı maya sayımı yapılmıştır. Diğer analizleri yapmak üzere alınan örnekler fermentasyonu durdurmak ve ortamdaki maya hücrelerini öldürmek amacıyla, % 2.5 oranında % 40'luk formaldehit çözeltisi ilave edilmiş ve biyokütle analizi yapılmıştır. Daha sonra formaldehit çözeltisi ilave edilen örnekler indirgen şeker ve etil alkol analizleri yapılmak üzere, dondurulmuştur.

3.2.2.1.Canlı Maya Sayımı

Canlı maya sayımı metilen mavisi kullanılarak mikroskop altında yapılmıştır (Bakker, 1991).

3.2.2.2. Biyokütle Tayini

Biyokütle tayininde, mayaların santrifüjleme yolu ile çöktürülüp saf su ile süspanse edilerek optik yoğunluk değerlerinin ölçümlerini temel alan bir

yöntemden yararlanılmıştır. Elde edilen optik yoğunluk değerleri daha önce hazırlanan standart eğriye uygulanarak, sonuçlar elde edilmiş ve g/L olarak verilmiştir (Bakker, 1991; Cruz ve ark, 2002).

3.2.2.3. İndirgen Şeker Tayini

Alınan örneklerde indirgen şeker Ghose (1984) ve Gök (1998)' e göre yapılmıştır.

3.2.2.4. Etil Alkol Tayini

Etil alkol miktarı, damıtma sonucu elde edilen alkollü sıvının piknometre ile bulunan yoğunluğundan, özel çizelgeler yardımıyla ağırlık (g/L) olarak saptanmıştır (Anon, 1997).

3.2.3. Duyusal Analiz

Şarapların duyusal analizi “üçlü test” uygulanarak 10 seçilmiş üyeden oluşan jüri tarafından yapılmıştır (Barillere ve Benard, 1986). Analiz’de şekil 3.2’de verilen form kullanılmıştır.

ÜÇLÜ TEST		
Adı Soyadı:.....		
Tarih:.....		
1. Aşağıdaki örneklerden ikisi aynı, biri farklıdır. Farklı örneği işaretleyiniz.		
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
2. Hangi örneği tercih ettiniz ?		
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
3. Niçin ?		

Şekil 3.2. Duyusal değerlendirme formu (Barillere ve Benard, 1986)

Üçlü test analizinde, jüri üyelerine ikisi aynı ve biri farklı üç şarap sunulmuş ve hangi örneğin farklı olduğu ve hangi örneği tercih ettikleri ve niçin tercih ettikleri sorulmuştur. Bu şekilde farklı sıcaklık ve farklı maya suşu kullanılarak elde edilen örneklerin tercih edilme durumu saptanmaya çalışılmıştır.

3.2.4. İstatistiksel Değerlendirme

Hesaplamalar sonucu elde edilen kinetik parametreler istatistiksel olarak t testine göre değerlendirilmiştir. İstatistiksel analizde “SPSS 10” paket program kullanılmıştır. Duyusal değerlendirme sonuçlarının istatistik analizinde ise üçlü test istatistiksel değerlendirme tablosu kullanılmıştır (Özdamar, 1999).

3.2.5. Kinetik Parametrelerin Hesaplanması

3.2.5.1. μ , k_d , g ve t_d Değerlerinin Hesaplanması

μ değeri mayaların logaritmik gelişme evresinde elde edilen hücre sayısı ve biyokütle miktarının doğal logaritması ile zaman arasında çizilen grafiğin eğiminden bulunmuştur. K_d değeri ise mayaların ölüm evresinde elde edilen hücre sayısı ve biyokütle miktarının doğal logaritması ile zaman arasında çizilen grafiğin eğiminden bulunmuştur.

g değeri maya sayısı kullanılarak $g = \ln 2 / \mu$ formülünden, t_d değeri ise biyokütle miktarı kullanılarak $t_d = \ln 2 / \mu$ formülünden hesaplanmıştır.

3.2.5.2. β Değerinin Hesaplanması

β değeri mayaların logaritmik gelişme evresinde maya sayısı ile alkol miktarı ve biyokütle miktarı ile alkol miktarı arasında çizilen grafiğin eğiminden bulunmuştur.

3.2.5.3. $Y_{N/S}$, $Y_{X/S}$ ve $Y_{P/S}$ Değerlerinin Hesaplanması

$Y_{N/S}$ değeri mayaların logaritmik gelişme evresinde maya sayısı ile şeker miktarı arasında çizilen grafiğin eğiminden, $Y_{X/S}$ değeri ise mayaların yine logaritmik gelişme evresinde biyokütle miktarı ile şeker miktarı arasında çizilen grafiğin eğiminden bulunmuştur.

$Y_{P/S}$ değeri mayaların logaritmik gelişme evresinde alkol miktarı ile şeker miktarı arasında çizilen grafiğin eğiminden hesaplanmıştır.

3.2.5.4. E_{ag} ve E_{ad} Değerlerinin Hesaplanması

E_{ag} değeri iki sıcaklık için verilen $\ln k_2/k_1 = E_a / R \times (T_2 - T_1) / (T_2 \times T_1)$ denkleminde k_2 yerine 25°C'de elde edilen μ değeri, k_1 yerine ise 18°C'de elde edilen μ değeri konularak hesaplanmıştır.

E_{ad} değeri yine iki sıcaklık için verilen $\ln k_2/k_1 = E_a / R \times (T_2 - T_1) / (T_2 \times T_1)$ denkleminde k_2 yerine 25°C'de elde edilen k_d değeri, k_1 yerine ise 18°C'de elde edilen k_d değeri konularak hesaplanmıştır.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA**4.1. Emir Üzümü Şirasının ‘Zymaflore VL1’ ile Fermantasyonu**

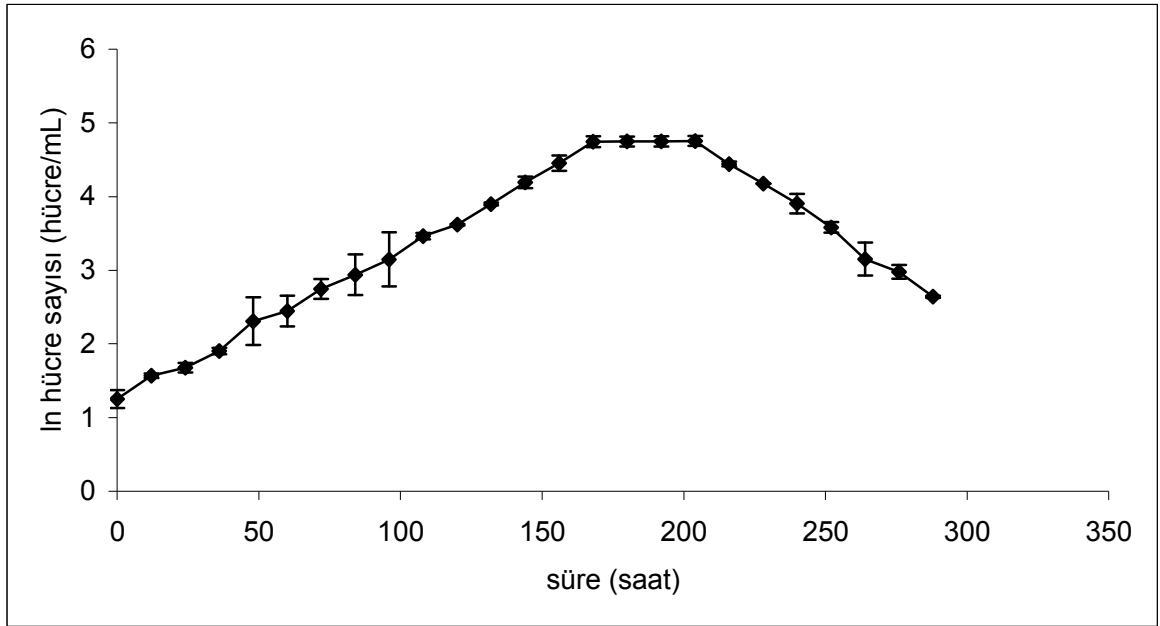
18°C’de ‘Zymaflore VL1’ kullanılarak gerçekleştirilen denemelerde, lag fazı görülmeden mayaların hemen gelişmeye başladıkları ve logaritmik faza girdikleri görülmektedir (Şekil 4.1.). Logaritmik evre yaklaşık 168 saat sürmüştür. Biyokütle analizi sonucunda elde edilen veriler de bu durumu doğrulamaktadır (Şekil 4.2.). Mayaların üssel olarak çoğalmaları sonucu sıradaki şeker miktarı hızla azalmış ve başlangıçta ortalama 185.5 g/L olarak bulunan şeker miktarı 168 saat sonunda 0.75 g/L düzeyine düşmüştür (Ek 1. ve Şekil 4.3.). Ortamdaki şekerlerin bir kısmı maya gelişimi için kullanılırken bir kısmı da etil alkol üretimi için kullanılmıştır. Mayaların gelişmeye başlaması ile etil alkol miktarı da artmış ve 168. saatte, yaklaşık 85 g/L ile maksimuma ulaşmıştır (Ek 1. ve Şekil 4.3.).

Ortamdaki şekerin tükenmesi ve etil alkol miktarının artması sonucu maya gelişimi durmuş ve mayalar durgun faza girmişlerdir. 36 saat süren durgun fazın ardından ölüm fazı başlamış ve mikroorganizma sayısı ve biyokütle de düşüş gözlenmiştir (Şekil 4.1. ve Şekil 4.2.).

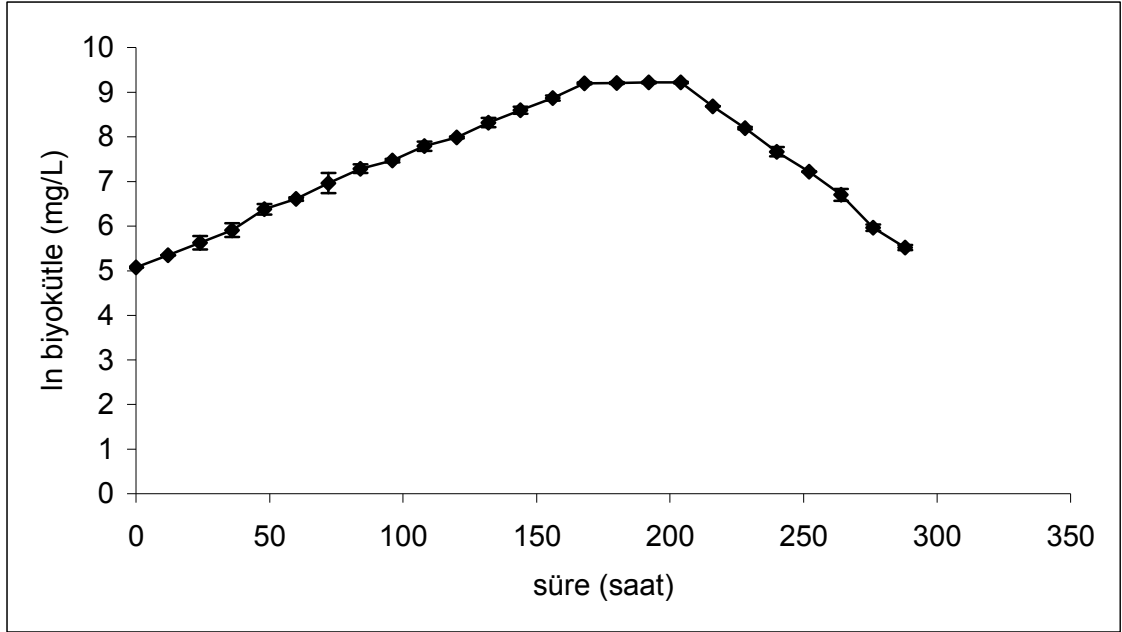
Alkol fermantasyonu etil alkolün yüksek konsantrasyonda olması durumunda inhibe olabilmektedir (Marin, 1999). Etil alkol, maya hücresinin hücre zarında bulunan lipidleri ve bazı enzimlerin hareketlerini modifiye ederek inhibisyon etkisi göstermektedir (Moulin, 1984). Alkol, mayanın fermantasyon aktivitesini ve gelişimini inhibe eden en önemli bileşik olduğundan, alkole karşı tolerans şarapçılıkta starter olarak kullanılacak mayanın seçiminde önemli bir kriterdir. Mayaların alkol oluşturma gücü, mayanın alkole karşı toleransına bağlıdır (Nurgel, 2000). Mayaların alkol oluşturma gücü arasında farklılık vardır. Örneğin; *Kloeckera apiculata* % 5 alkolden sonra fermantasyona devam edemez, aksine *Saccharomyces cerevisiae* alkol derecesi % 17’ye ulaşınca kadar fermantasyona devam eder (Canbaş, 2003).

Ghose ve Tyagi (1979) *Saccharomyces cerevisiae*'nin gelişmesi üzerine etil alkolün inhibisyon etkisini inceledikleri bir çalışmada 90 g/L etil alkol konsantrasyonunda hücre büyümesinin durduğunu bildirmişlerdir.

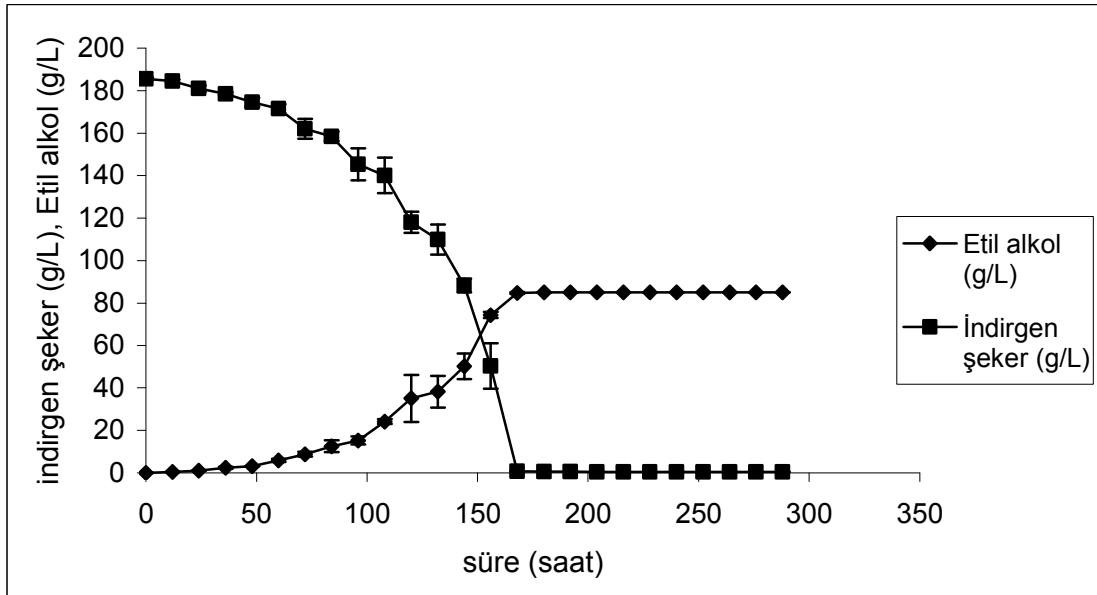
Luong (1985) etil alkol fermantasyonunda *Saccharomyces cerevisiae*'nin gelişmesi üzerine etil alkol inhibisyonunun kinetiğini incelediği bir çalışmada 112 g/L etil alkol konsantrasyonunda büyümenin durduğunu göstermiştir.



Şekil 4.1. 18°C'de Emir şirasının 'Zymaflore VL1' ile fermantasyonu sırasında maya sayısındaki değişim



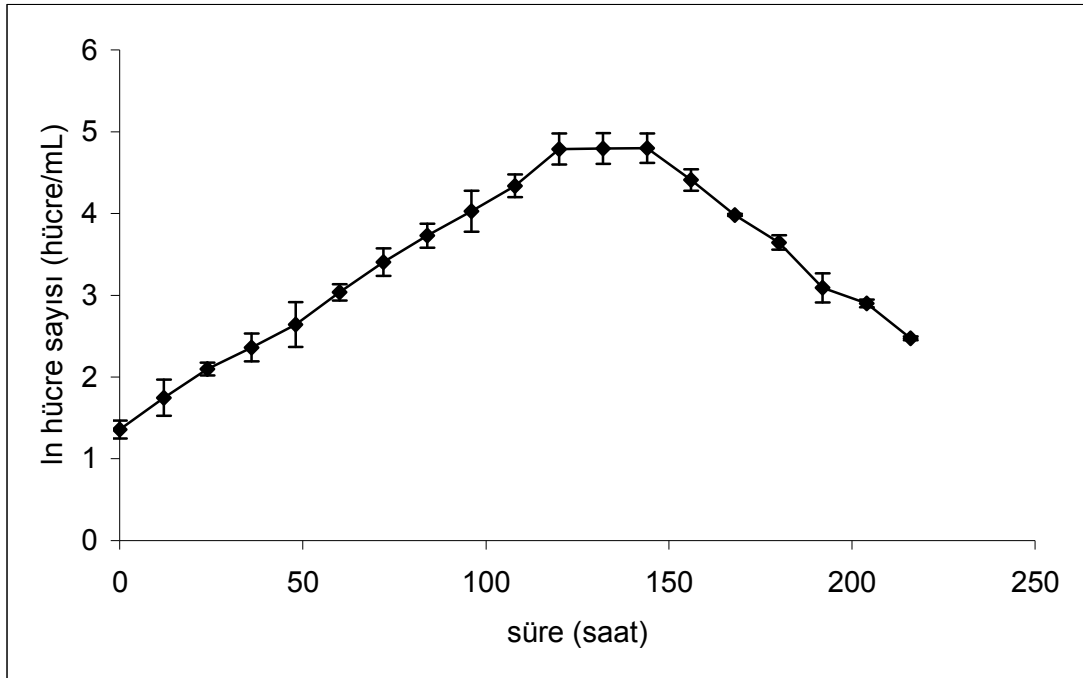
Şekil 4.2. 18°C'de Emir şirasının 'Zymaflore VL1' ile fermantasyonu sırasında biyokütle miktarındaki değişim



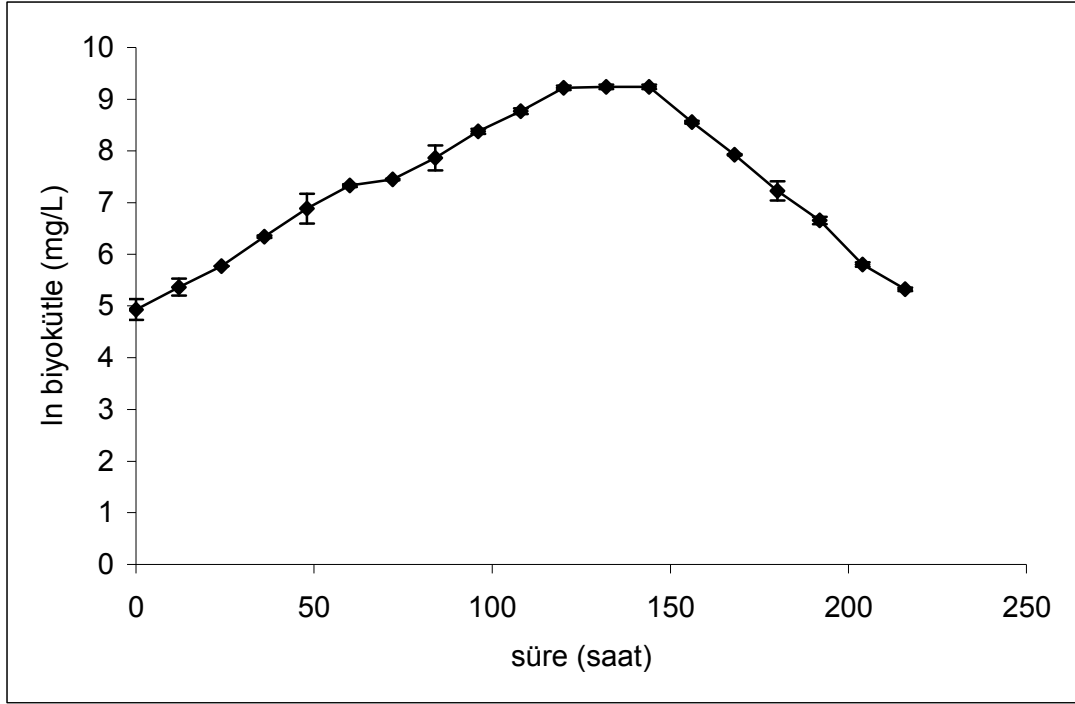
Şekil 4.3. 18°C'de Emir şirasının 'Zymaflore VL1' ile fermantasyonu sırasında şeker ve etil alkol miktarındaki değişim

25°C'de gerçekleştirilen denemelerde de, mayalar lag fazı görülmeden logaritmik faza girmişler ve 18°C'dekine kıyasla daha kısa sürede durgun faza

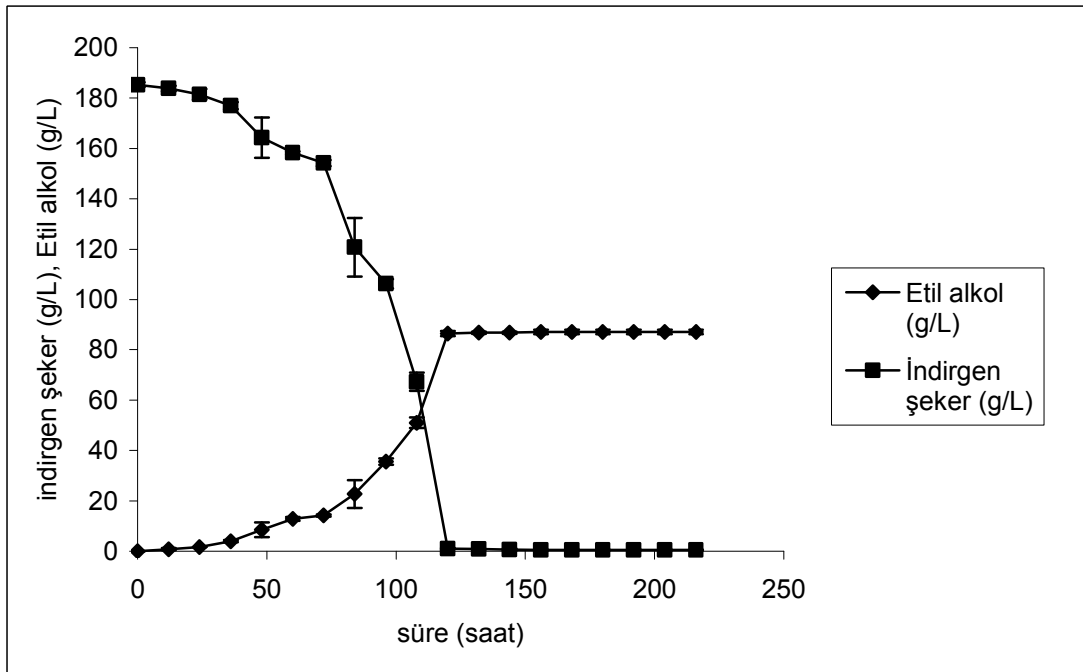
girmişlerdir (Şekil 4.4.). Logaritmik evre 120 saat sürmüştür. Biyokütle verilerinde de benzer durum göze çarpmaktadır (Şekil 4.5.). Şeker kullanımı da, hızlı maya gelişiminin sonucu olarak hızlı olmuş ve 120 saat içerisinde şeker miktarı ortalama 1 g/L düzeyine düşmüştür (Ek 2. ve Şekil 4.6.). Etil alkol üretimi hızlı maya gelişimi ve şeker kullanımı sonucu hızla artmış ve 120 saat sonunda ortalama 86.5 g/L düzeyine ulaşmıştır (Ek 2. ve Şekil 4.6.). Şekerlerin tükenmesi ve etanol konsantrasyonunun artması sonucu 120. saatte durgun faz başlamış ve 144. saatten itibaren ölüm fazı görülmüştür (Şekil 4.4. ve Şekil 4.5.).



Şekil 4.4. 25°C’de Emir şirasının ‘Zymaflore VL1’ ile fermantasyonu sırasında maya sayısındaki değişim



Şekil 4.5. 25°C’de Emir şirasının ‘Zymaflore VL1’ ile fermantasyonu sırasında biyokütle miktarındaki değişim

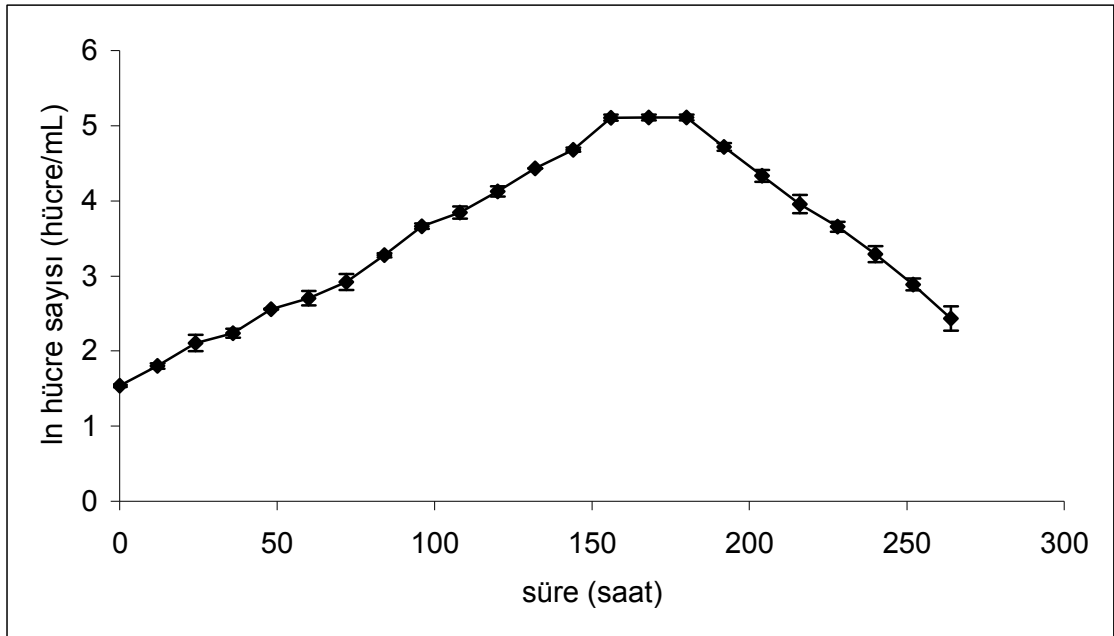


Şekil 4.6. 25°C’de Emir şirasının ‘Zymaflore VL1’ ile fermantasyonu sırasında şeker ve etil alkol miktarındaki değişim

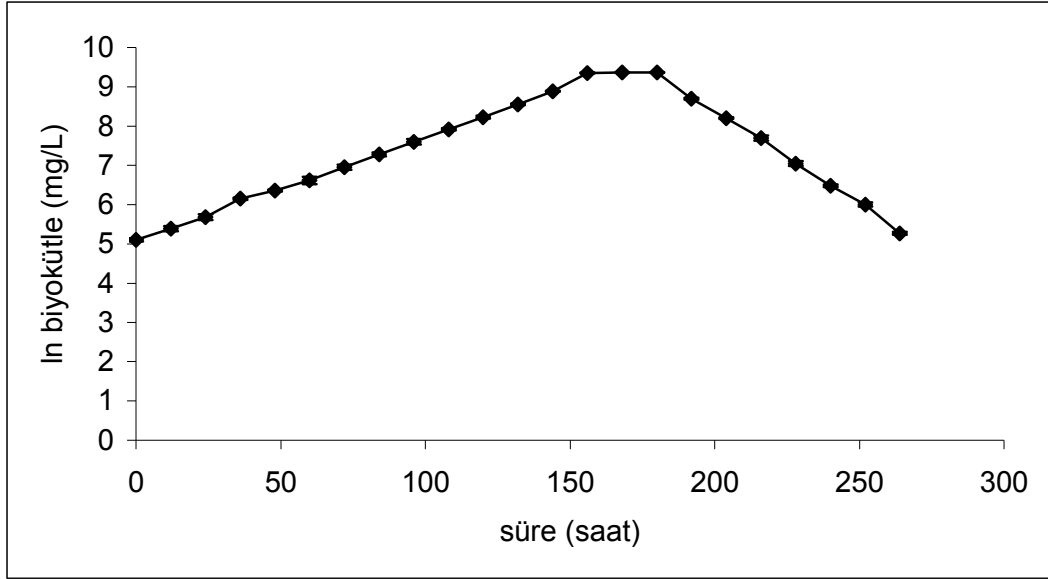
4.2. Emir Üzümü Şirasının ‘Uvaferm CM’ ile Fermantasyonu

18°C’de ‘Uvaferm CM’ kullanılarak gerçekleştirilen denemelerde, lag fazı görülmeden mayaların hemen gelişmeye başladıkları ve logaritmik faza girdikleri görülmektedir (Şekil 4.7.). Logaritmik evre 156 saat sürmüştür. Biyokütle analizi sonucunda elde edilen veriler de bu durumu doğrulamaktadır (Şekil 4.8.). Mayaların üssel olarak çoğalmaları sonucu şıradaki şeker miktarı hızla azalmış ve başlangıçta ortalama 186.5 g/L olarak bulunan şeker miktarı 156 saat sonunda 0.7 g/L düzeyine düşmüştür (Ek 3. ve Şekil 4.9.). Mayaların gelişmeye başlaması ile etil alkol miktarı da artmış ve 156. saatte, ortalama 85.15 g/L ile maksimuma ulaşmıştır (Ek 3. ve Şekil 4.9.).

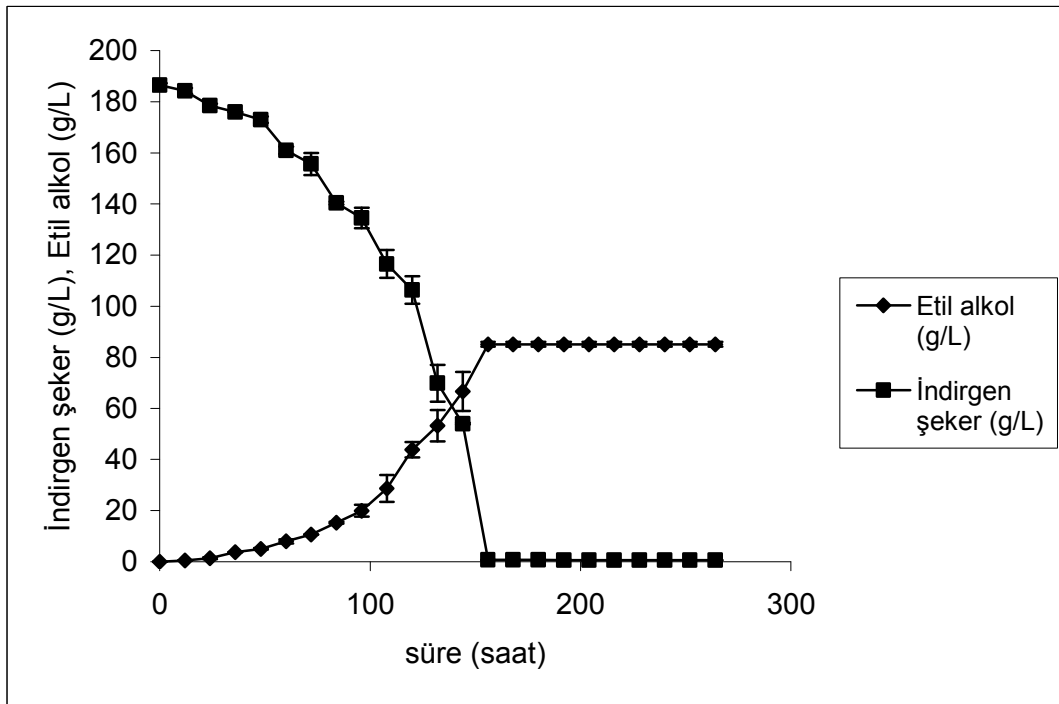
Ortamdaki şekerin tükenmesi ve etil alkol miktarının artması sonucu maya gelişimi durmuş ve mayalar durgun faza girmişlerdir. 24 saat süren durgun fazın ardından ölüm fazı başlamış ve mikroorganizma sayısı ve biyokütle de düşüş gözlenmiştir (Şekil 4.7. ve Şekil 4.8.).



Şekil 4.7. 18°C’de Emir şirasının ‘Uvaferm CM’ ile fermantasyonu sırasında maya sayısındaki değişim

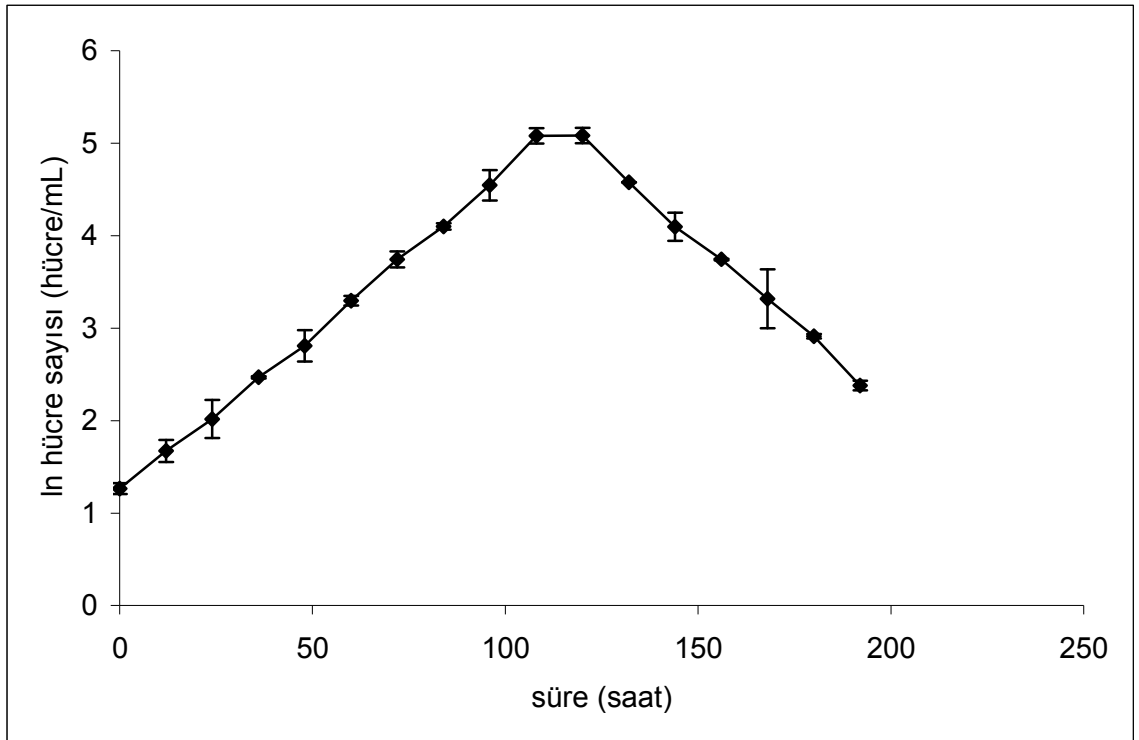


Şekil 4.8. 18°C'de Emir şirasının 'Uvaferm CM' ile fermantasyonu sırasında biyokütle miktarındaki değişim

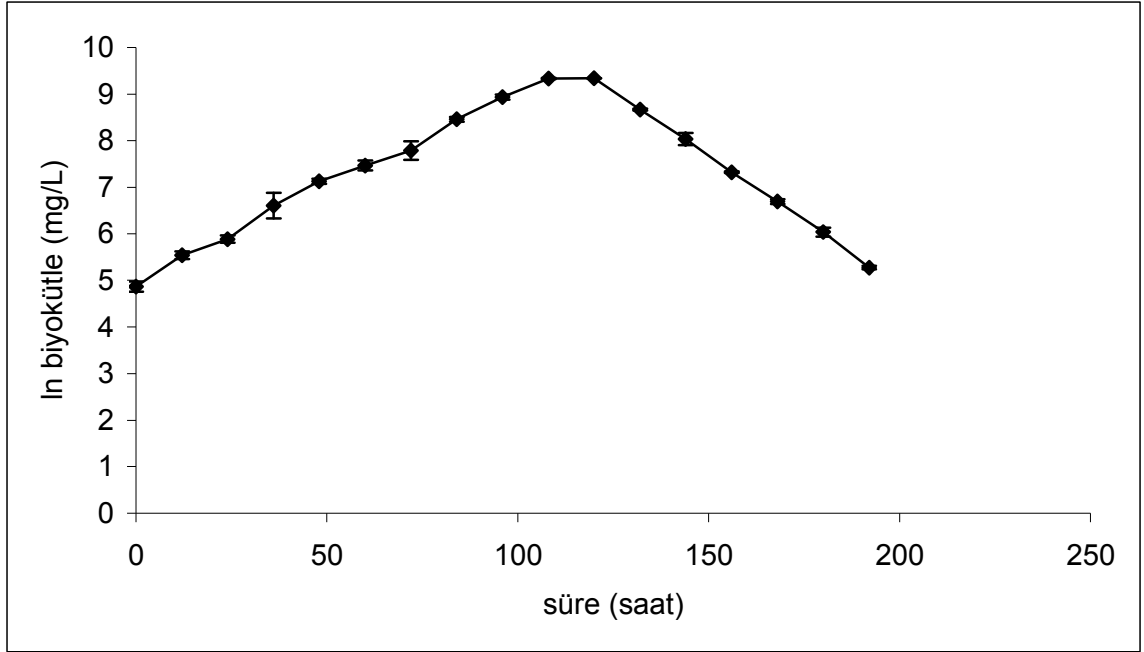


Şekil 4.9. 18°C'de Emir şirasının 'Uvaferm CM' ile fermantasyonu sırasında şeker ve etil alkol miktarındaki değişim

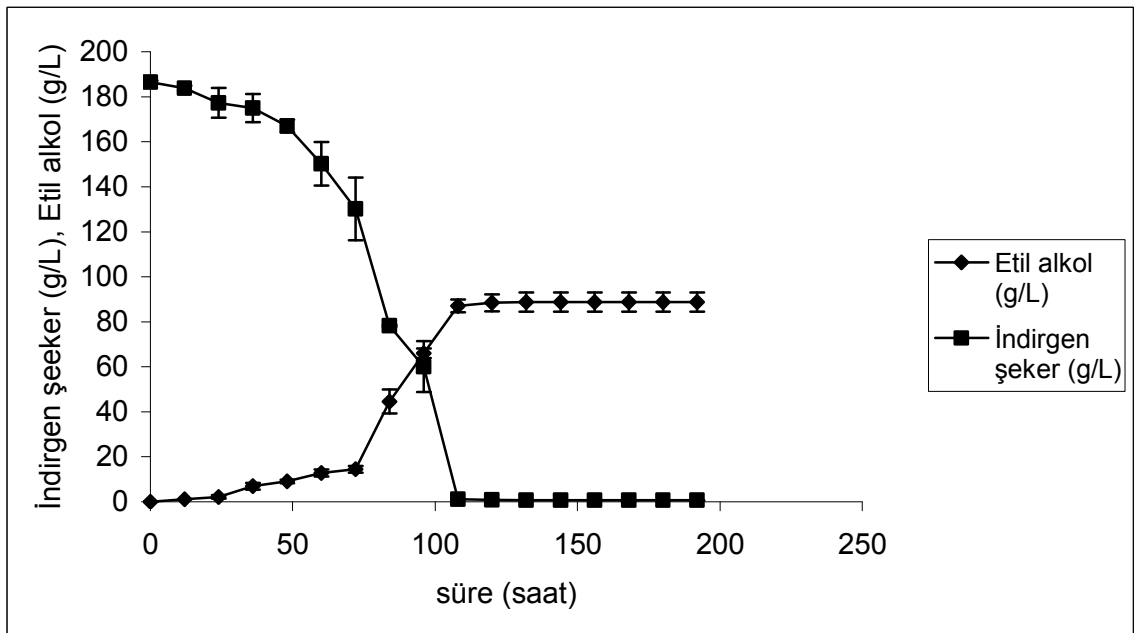
25°C’de gerçekleştirilen denemelerde de lag fazı görülmeden mayalar logaritmik faza girmişler ve 18°C’dekine kıyasla daha kısa süre içerisinde durgun faza girmişlerdir (Şekil 4.10.). Logaritmik evre 108 saat sürmüştür. Biyokütle verilerinde de benzer durum göze çarpmaktadır (Şekil 4.11.). Şeker kullanımı da, hızlı maya gelişiminin sonucu olarak hızlı olmuş ve 108 saat içerisinde ortalama 1.15 g/L düzeyine düşmüştür (Ek 4. ve Şekil 4.12.). Etil alkol üretimi hızlı maya gelişimi ve şeker kullanımı sonucu hızla artmış ve 108 saat sonunda ortalama 87.15 g/L düzeyine ulaşmıştır (Ek 4 ve Şekil 4.12.). 108. saatte şekerlerin tükenmesi sonucu durgun faz başlamış ve 120. saatten itibaren ölüm fazı görülmüştür (Şekil 4.10. ve Şekil 4.11.).



Şekil 4.10. 25°C’de Emir şirasının ‘Uvaferm CM’ ile fermantasyonu sırasında maya sayısındaki değişim



Şekil 4.11. 25°C’de Emir şirasının ‘Uvaferm CM’ ile fermantasyonu sırasında biyokütle miktarındaki değişim



Şekil 4.12. 25°C’de Emir şirasının ‘Uvaferm CM’ ile fermantasyonu sırasında şeker ve etil alkol miktarındaki değişim

4.3. Mayaların Büyüme Kinetiği

Mayaların büyüme kinetiği logaritmik evre ve ölüm evresi olmak üzere iki ayrı gelişme evresinde incelenmiştir. Logaritmik evrede spesifik gelişme hızı μ (saat⁻¹), generasyon süresi g (saat) ve ikiye katlanma süresi t_d (saat), ölüm evresinde ise spesifik ölüm hızı k_d (saat⁻¹) hesaplanmıştır. Elde edilen sonuçlar Çizelge 4.1. ve Çizelge 4.2.'de verilmiştir.

Çizelge 4.1. Maya sayısı kullanılarak hesaplanan spesifik gelişme hızı (μ), spesifik ölüm hızı (k_d) ve generasyon süresi (g)

Kinetik parametreler	18°C		25°C	
	'Zymaflore VL1'	'Uvaferm CM'	'Zymaflore VL1'	'Uvaferm CM'
μ (saat ⁻¹)	0.0205±0.0007	0.0225±0.0007	0.0275±0.0007	0.0350±0.0014
k_d (saat ⁻¹)	0.0255±0.0007	0.0275±0.0063	0.0320±0.0028	0.0365±0.0007
g (saat)	33.8±1.16	30.8 ± 0.96	25.2±0.64	19.8 ± 0.79

Çizelge 4.2. Biyokütle miktarı kullanılarak hesaplanan spesifik gelişme hızı (μ), spesifik ölüm (k_d) hızı ve ikiye katlanma süresi (t_d)

Kinetik parametreler	18°C		25°C	
	'Zymaflore VL1'	'Uvaferm CM'	'Zymaflore VL1'	'Uvaferm CM'
μ (saat ⁻¹)	0.0245±0.0007	0.0265±0.0007	0.0355±0.0007	0.0410±0.0014
k_d (saat ⁻¹)	0.0440±0	0.0420±0.0070	0.0550±0.0014	0.0560±0
t_d (saat)	28.3 ± 0.81	26.2±0.7	19.5 ± 0.38	16.9 ± 0.57

Her iki sıcaklıkta da, 'Uvaferm CM'in spesifik gelişme hızı 'Zymaflore VL1' den daha yüksek, generasyon ve ikiye katlanma süresi ise daha düşüktür (Çizelge 4.1. ve Çizelge 4.2.). Bir başka ifadeyle 'Uvaferm CM', 'Zymaflore VL1'den daha hızlı büyümektedir. Sıcaklıktaki artışla beraber, her iki mayada da spesifik gelişme hızı artmış ve ikiye katlanma süresi düşmüştür. Yani, sıcaklıktaki artış mayaların büyümesini hızlandırmıştır.

Çelik (1990) beyaz üzüm şırası kullanarak spontan şarap üretiminin kinetiğini incelediği bir çalışmada, fermantasyon sırasında ortamda bulunan mikroorganizmaların spesifik gelişme ve spesifik ölüm hızlarını toplam biyokütle miktarından yararlanarak hesaplamıştır. Buna göre mikroorganizmaların spesifik gelişme hızı 0.006-0.024 saat⁻¹, spesifik ölüm hızı ise 0.026-0.14 saat⁻¹ arasında değişmiştir. Çizelge 4.2.'den elde edilen bulgular, Çelik (1990)'in bulguları ile benzerlik göstermektedir.

Şarap mayalarında aranan önemli özelliklerden biri fermantasyonu hızlı gerçekleştirmesidir (Shinohara ve ark., 1994). Fermantasyonu kontrol altına almak ve şarapta kalite ve duyuşal özellikleri iyileştirip standart hale getirmek amacıyla, şarap üretimi sırasında saf maya kullanılmaktadır. Mayaların seçiminde temel alınan en önemli özelliklerinden biri fermantasyon hızı ve verimidir (Nurgel, 2000).

Hücre sayısı üzerinden spesifik ölüm hızları kıyaslandığında, ‘Uvaferm CM’in spesifik ölüm hızı her iki sıcaklıkta da daha yüksek bulunmuştur (Çizelge 4.1.). Ancak, biyokütle üzerinden hesaplanan spesifik ölüm hızlarında farklılık göze çarpmaktadır. 18°C’de gerçekleştirilen denemelerde ‘Zymaflore VL1’in spesifik ölüm hızı daha yüksek iken, 25°C’de ‘Uvaferm CM’in spesifik ölüm hızı daha yüksek bulunmuştur (Çizelge 4.2.).

Birol ve ark. (1998) immobilize *Saccharomyces cerevisiae* ile etil alkol fermantasyonunun matematiksel modellenmesi ile ilgili yaptıkları çalışmada 100 g/L glikoz konsantrasyonu ve 30°C sıcaklıkta mayanın spesifik gelişme hızının 0.193 saat⁻¹ olduğunu bildirmişlerdir.

Ciani ve Picciotti (1995) şarap yapımında mayaların büyüme kinetiğini inceledikleri çalışmada 105.6 g/L şeker içeren beyaz üzüm şırası kullanmışlar ve 25°C’de mayaların spesifik gelişme hızının hücre sayısı üzerinden 0.262 saat⁻¹, biyokütle üzerinden ise 0.085 saat⁻¹ olduğunu saptamışlardır.

Mwesigye ve Barford (1996) *Saccharomyces cerevisiae*’nın maltoz ve sükröz karışımında büyüme kinetiğini inceledikleri bir çalışmada 30°C’de %1 maltoz içeren sentetik besiyerinde spesifik gelişme hızının 0.40 saat⁻¹, %1 maltoz ve %1 sükröz karışımı içeren sentetik besiyerinde ise spesifik gelişme hızının 0.46 saat⁻¹ olduğunu bulmuşlardır.

Ruggeri ve ark. (1988) *Saccharomyces cerevisiae*’nın kinetik parametrelerinin sayısal değerlerinin belirlenmesi ile ilgili yaptıkları çalışmada 30°C’de 100 kg m⁻³ glikoz içeren ortamda mayanın spesifik gelişme hızının 0.209 saat⁻¹, 200 kg m⁻³ glikoz içeren ortamda mayanın spesifik gelişme hızının 0.105 saat⁻¹ olduğunu göstermişlerdir.

Lee ve ark. (1989) *Saccharomyces uvarum* ile etil alkol üretim kinetiğine sıcaklığın etkisini inceledikleri bir çalışmada 250 g/L glikoz içeren ortamda spesifik

gelişme hızının 25°C’de 0.19 saat⁻¹, 30°C’de 0.23 saat⁻¹, 33°C’de 0.26 saat⁻¹, 37°C’de 0.23 saat⁻¹, 40°C’de 0.21 saat⁻¹ ve 43°C’de 0.16 saat⁻¹ olduğunu göstermişlerdir.

Mayaların spesifik gelişme hızı, spesifik ölüm hızı, generasyon süresi ve ikiye katlanma süresi arasındaki fark t testi ile kıyaslanmış ve istatistiksel değerlendirme sonuçları Çizelge 4.3. ve Çizelge 4.4.’de verilmiştir. Buna göre 18°C’de hücre sayısı üzerinden mayaların μ , k_d ve g değerleri arasındaki fark istatistiksel olarak önemli değildir. Buna karşılık, 25°C’de μ ve g değerleri arasındaki fark önemli, k_d ise önemsiz bulunmuştur.

Çizelge 4.3. Maya suşlarının hücre sayısı üzerinden hesaplanan kinetik parametreleri arasındaki fark

Kinetik parametreler	Sıcaklık (°C)	‘Zymaflore VL1’	‘Uvaferm CM’	Önem derecesi (* % 5 ; ** % 1)
μ (saat ⁻¹)	18	0.0205±0.0007	0.0225±0.0007	önemsiz
k_d (saat ⁻¹)	18	0.0255±0.0007	0.0275±0.0063	önemsiz
g (saat)	18	33.8±1.16	30.8 ± 0.96	önemsiz
μ (saat ⁻¹)	25	0.0275±0.0007	0.0350±0.0014	*
k_d (saat ⁻¹)	25	0.0320±0.0028	0.0365±0.0007	önemsiz
g (saat)	25	25.2±0.64	19.8 ± 0.79	*

18°C’de biyokütle üzerinden hesaplanan μ , k_d ve t_d değerleri arasındaki fark önemsiz; 25°C’de ise μ ve t_d değerleri arasındaki fark önemli ($P<0.05$), k_d değerleri arasındaki fark önemsiz bulunmuştur (Çizelge 4.4.).

Çizelge 4.4. Maya suşlarının biyokütle üzerinden hesaplanan kinetik parametreleri arasındaki fark

Kinetik parametreler	Sıcaklık (°C)	‘Zymaflore VL1’	‘Uvaferm CM’	Önem derecesi (* % 5 ; ** % 1)
μ (saat ⁻¹)	18	0.0245±0.0007	0.0265±0.0007	önemsiz
k_d (saat ⁻¹)	18	0.0440±0	0.0420±0.0070	önemsiz
t_d (saat)	18	28.3 ± 0.81	26.2±0.7	Önemsiz
μ (saat ⁻¹)	25	0.0355±0.0007	0.0410±0.0014	*
k_d (saat ⁻¹)	25	0.0550±0.0014	0.0560±0	önemsiz
t_d (saat)	25	19.5 ± 0.38	16.9 ± 0.57	*

Farklı sıcaklık uygulamalarının hücre sayısı üzerinden hesaplanan kinetik parametrelere etkisi ile ilgili istatistiksel değerlendirme sonuçları Çizelge 4.5.’de verilmiştir. Her iki maya suşunda da sıcaklığın μ ve g değerlerine etkisi istatistiksel olarak önemli bulunurken k_d üzerine etkisi önemsiz bulunmuştur. Sıcaklığın biyokütle üzerinden hesaplanan kinetik parametrelere etkisi Çizelge 4.6’da verilmiştir. Buna göre ‘Zymaflore VL1’ ile yapılan denemeler de sıcaklığın tüm kinetik parametreler üzerine etkisi önemli bulunmuş; ‘Uvaferm CM’ ile yapılan denemelerde ise sıcaklığın μ ve t_d üzerine etkisi önemli, k_d üzerine etkisi önemsiz bulunmuştur.

Çizelge 4.5. Sıcaklığın hücre sayısı üzerinden hesaplanan kinetik parametreler üzerine etkisi

Kinetik parametreler	Maya suşu	Sıcaklık (18°C)	Sıcaklık (25°C)	Önem derecesi (* % 5 ; ** % 1)
μ (saat ⁻¹)	'Zymaflore VL1'	0.0205±0.0007	0.0275±0.0007	*
k_d (saat ⁻¹)	'Zymaflore VL1'	0.0255±0.0007	0.0320±0.0028	önemsiz
g (saat)	'Zymaflore VL1'	33.8±1.16	25.2 ± 0.64	*
μ (saat ⁻¹)	'Uvaferm CM'	0.0205±0.0007	0.0275±0.0007	**
k_d (saat ⁻¹)	'Uvaferm CM'	0.0255±0.0007	0.0320±0.0028	önemsiz
g (saat)	'Uvaferm CM'	30.8±0.96	19.8 ± 0.79	**

Çizelge 4.6. Sıcaklığın biyokütle üzerinden hesaplanan kinetik parametreler üzerine etkisi

Kinetik parametreler	Maya suşu	Sıcaklık (18°C)	Sıcaklık (25°C)	Önem derecesi (* % 5 ; ** % 1)
μ (saat ⁻¹)	'Zymaflore VL1'	0.0245±0.0007	0.0355±0.0007	**
k_d (saat ⁻¹)	'Zymaflore VL1'	0.0440±0	0.0550±0.0014	**
t_d (saat)	'Zymaflore VL1'	28.3 ± 0.81	19.5±0.38	**
μ (saat ⁻¹)	'Uvaferm CM'	0.0265±0.0007	0.0410±0.0014	**
k_d (saat ⁻¹)	'Uvaferm CM'	0.0420±0.0070	0.0560±0	önemsiz
t_d (saat)	'Uvaferm CM'	26.2 ± 0.7	16.9 ± 0.57	**

4.4. Mayaların Verim Değerleri

Mayaların büyümeye bağlı ürün oluşum parametresi olan β değerleri logaritmik gelişme evresinde maya sayısı ve biyokütle miktarı üzerinden hesaplanmış ve sonuçlar çizelge 4.7.'de verilmiştir. Çizelge 4.7.'den görüleceği gibi her iki sıcaklıkta da 'Zymaflore VL1'in maya sayısı üzerinden hesaplanan β değerleri Uvaferm'in β değerlerinden yüksektir. Sıcaklıktaki artışla beraber 'Zymaflore

VL1'in β değeri düşerken, 'Uvaferm CM'in β değeri artmıştır. Biyokütle miktarı üzerinden hesaplanan β değerleri kıyaslandığında, 'Zymaflore VL1'in β değeri her iki sıcaklıkta da daha yüksektir. Sıcaklıktaki artışla 'Zymaflore VL1'in β değerinde düşme görülmüş, 'Uvaferm CM'in β değerinde çok az bir düşme görülmüştür.

Çizelge 4.7. 'Zymaflore VL1' ve 'Uvaferm CM'in β değerleri

Kinetik parametre	18°C		25°C	
	'Zymaflore VL1'	'Uvaferm CM'	'Zymaflore VL1'	'Uvaferm CM'
β (g etanol/hücre x 10 ⁹)	0.815±0.021	0.575±0.035	0.740±0.16	0.590±0.028
β (g etanol/g biyokütle)	9.40 ±0.14	8.15±0.07	8.50±0.57	8.10±0.28

Maya suşlarının β değerleri arasındaki fark istatistiksel olarak değerlendirilmiş ve sonuçlar çizelge 4.8.'de verilmiştir. Buna göre 18°C'de iki maya suşunun hücre sayısı üzerinden hesaplanan β değerleri arasındaki fark önemli ($P<0.05$), 25°C ise önemsiz bulunmuştur. Biyokütle üzerinden hesaplanan β değerleri arasındaki fark benzer şekilde, 18°C'de önemli, 25°C'de önemsiz bulunmuştur.

Çizelge 4.8. Maya suşlarının büyümeyle ilgili ürün oluşum (β) değerlerinin kıyaslanması.

Kinetik parametreler	Sıcaklık (°C)	'Zymaflore VL1'	'Uvaferm CM'	Önem derecesi (* % 5 ; ** % 1)
β (g etanol / hücre x 10 ⁹)	18	0.815±0.021	0.575±0.035	*
β (g etanol / hücre x 10 ⁹)	25	0.740±0.16	0.590±0.028	önemsiz
β (g etanol / g biyokütle)	18	9.40 ±0.14	8.15±0.07	**
β (g etanol / g biyokütle)	25	8.50±0.57	8.10±0.28	önemsiz

Farklı sıcaklık uygulamasının büyümeyle ilgili ürün oluşumu üzerine etkisi ile ilgili istatistiksel değerlendirme sonuçları çizelge 4.9.'da verilmiştir. Buna göre, farklı sıcaklık uygulamasının β değerleri üzerine etkisi her iki maya suşunda da önemsiz bulunmuştur.

Çizelge 4.9. Sıcaklığın büyümeye bağlı ürün oluşumu (β) üzerine etkisi

Kinetik parametreler	Maya suşu	Sıcaklık (18°C)	Sıcaklık (25°C)	Önem derecesi (* % 5 ; ** % 1)
β (g etanol / hücre x 10 ⁹)	'Zymaflore VL1'	0.815±0.021	0.740±0.16	önemsiz
β (g etanol / hücre x 10 ⁹)	'Uvaferm CM'	0.575±0.035	0.590±0.028	önemsiz
β (g etanol / g biyokütle)	'Zymaflore VL1'	9.40 ±0.14	8.50 ±0.57	önemsiz
β (g etanol / g biyokütle)	'Uvaferm CM'	8.15 ± 0.07	8.10±0.28	önemsiz

Logaritmik büyüme evresinde mayaların karbon kaynağı (şeker) üzerinde hücre ($Y_{N/S}$), biyokütle ($Y_{X/S}$) ve ürün (etanol) oluşum ($Y_{P/S}$) verimleri hesaplanmış ve sonuçlar çizelge 4.10.'de verilmiştir.

Her iki sıcaklıkta da 'Uvaferm CM'in $Y_{N/S}$ değerleri, 'Zymaflore VL1'in $Y_{N/S}$ değerlerinden daha yüksektir. Sıcaklıktaki artışla 'Zymaflore VL1'in $Y_{N/S}$ değerinde artış, 'Uvaferm CM'de ise düşme gözlenmiştir. 'Uvaferm CM'in $Y_{X/S}$ değerleri her iki sıcaklıkta da 'Zymaflore VL1'in $Y_{X/S}$ değerlerinden daha yüksektir. Sıcaklıktaki artışla her iki maya suşunun $Y_{X/S}$ değerleri artmıştır. Tüketilen birim substrat başına oluşan birim ürün bakımından, 18°C'de her iki maya suşunun $Y_{P/S}$ değerleri birbirine

yakın, 25°C’de ‘Uvaferm CM’in daha yüksektir. Sıcaklık artışıyla her iki maya suşunun $Y_{P/S}$ değerlerinde düşme gözlenmiştir.

Çizelge 4.10. Mayaların verim değerleri

Verim Değerleri	18°C		25°C	
	‘Zymaflore VL1’	‘Uvaferm CM’	‘Zymaflore VL1’	‘Uvaferm CM’
$Y_{N/S}$ (10^9 hücre/g)	0.610 ±0.03	0.830±0.04	0.625±0.1	0.780±0.04
$Y_{X/S}$ (g/g)	0.0525±0.0007	0.0575±0.0007	0.0535±0.0007	0.0580±0.0007
$Y_{P/S}$ (g/g)	0.499±0.011	0.483±0.0045	0.455±0.015	0.474±0.008

Maya suşlarının verim değerleri arasındaki farklar istatistiksel olarak değerlendirilmiş ve sonuçlar çizelge 4.11.’de verilmiştir. Buna göre 18°C’de $Y_{N/S}$ ve $Y_{X/S}$ değerleri arasındaki fark önemli, $Y_{P/S}$ değerleri arasındaki fark önemsiz bulunmuştur. 25°C’de ise, tüm verim değerleri arasındaki farklar önemsiz bulunmuştur.

Çizelge 4.11. Maya suşlarının ürün verimi değerleri arasındaki fark

Verim Değerleri	Sıcaklık (°C)	'Zymaflore VL1'	'Uvaferm CM'	Önem derecesi (* % 5 ; ** % 1)
$Y_{N/S}$ (10^9 hücre/g)	18	0.610 ±0.03	0.830±0.04	*
$Y_{X/S}$ (g/g)	18	0.0525±0.0007	0.0575±0.0007	*
$Y_{P/S}$ (g/g)	18	0.499±0.011	0.483±0.0045	önemsiz
$Y_{N/S}$ (10^9 hücre/g)	25	0.625±0.1	0.780±0.04	önemsiz
$Y_{X/S}$ (g/g)	25	0.0535±0.0007	0.0580±0.0007	önemsiz
$Y_{P/S}$ (g/g)	25	0.455±0.015	0.474±0.008	önemsiz

Farklı sıcaklık uygulamasının maya suşlarının verim değerlerine etkisi istatistiksel olarak değerlendirilmiş ve sonuçlar Çizelge 4.12.'de verilmiştir. Her iki maya suşunda da sıcaklığın verim değerleri üzerine etkisi önemsiz bulunmuştur.

Çizelge 4.12. Sıcaklığın verim değerlerine etkisi

Verim Değerleri	Maya suşu	Sıcaklık (18°C)	Sıcaklık (25°C)	Önem derecesi (* % 5 ; ** %1)
$Y_{N/S}$ (10^9 hücre/g)	'Zymaflore VL1'	0.610±0.03	0.625±0.1	önemsiz
$Y_{x/s}$ (g/g)	'Zymaflore VL1'	0.0525±0.0007	0.0535±0.0007	önemsiz
$Y_{p/s}$ (g/g)	'Zymaflore VL1'	0.499±0.011	0.455±0.015	önemsiz
$Y_{N/S}$ (10^9 hücre/g)	'Uvaferm CM'	0.830±0.04	0.780±0.04	önemsiz
$Y_{x/s}$ (g/g)	'Uvaferm CM'	0.0575±0.0007	0.0580±0.0007	önemsiz
$Y_{p/s}$ (g/g)	'Uvaferm CM'	0.483±0.0045	0.474±0.008	önemsiz

Ghose ve Tyagi (1979) *Saccharomyces cerevisiae* tarafından etil alkol üretimi kinetiğine substrat (şeker) ve etil alkolün inhibisyon etkisini inceledikleri bir çalışmada sentetik besiyerinde ve 30°C sıcaklıkta substrata bağlı biyokütle veriminin 0.09 g/g , substrata bağlı ürün veriminin ise 0.47 g/g olduğunu bildirmişlerdir. Admassu ve Korus (1985) *Saccharomyces cerevisiae* ile etil alkol üretimi kinetiğini inceledikleri bir çalışmada sentetik besiyerinde ve 32°C sıcaklıkta substrata bağlı

biyokütle veriminin 0.090 g/g substrata bağlı ürün veriminin ise 0.492 g/g olduğunu saptamışlardır.

Thatipamala ve ark. (1992) *Saccharomyces cerevisiae* tarafından etil alkol üretimi sırasında biyokütle ve ürün verimi üzerine substrat ve ürün inhibisyon kinetiğini inceledikleri bir çalışmada sentetik besiyerinde ve 30°C sıcaklıkta substrata bağlı biyokütle veriminin 0.026-0.156 g/g arasında substrata bağlı ürün veriminin ise 0.43-0.46 g/g arasında olduğunu bildirmişlerdir. Starzak (1994) *Saccharomyces cerevisiae* tarafından etil alkol üretiminin matematiksel modellenmesi ile ilgili yaptığı bir çalışmada sentetik besiyerinde ve 30°C sıcaklıkta substrata bağlı ürün veriminin 0.813 g/g olduğunu bildirmiştir.

Mwesigye ve Barford (1996) *Saccharomyces cerevisiae* tarafından farklı oranlarda maltoz ve sükroz karışımının tüketim kinetiğini inceledikleri bir çalışmada 30°C'de biyokütle veriminin 0.29-0.47 g/g arasında olduğunu belirlemişlerdir.

Birol ve ark (1998) immobilize *Saccharomyces cerevisiae* mayası ile etil alkol fermantasyonunun matematiksel modellenmesi ile ilgili yaptıkları bir çalışmada sentetik besiyerinde, 30°C sıcaklıkta ve farklı başlangıç glikoz konsantrasyonlarında substrata bağlı biyokütle veriminin 0.49-53.67 g/g arasında substrata bağlı ürün veriminin ise 0.42-0.66 g/g arasında değiştiğini belirlemişlerdir.

Lee ve Rogers (1983) *Zymomonas mobilis* ile etil alkol üretimi kinetiğini inceledikleri bir çalışmada sentetik besiyerinde ve 30°C sıcaklıkta substrata bağlı ürün veriminin 0.48 g/g olduğunu bildirmişlerdir. Huang ve Chen (1988) farklı sıcaklıkta *Zymomonas mobilis* ile etil alkol üretimi kinetiğini inceledikleri bir çalışmada sentetik besiyerinde substrata bağlı biyokütle veriminin 30°C'de 0.032 g/g , 35°C'de 0.032 g/g , 37°C'de 0.031 g/g ve 40°C'de 0.029 g/g olduğunu, substrata bağlı ürün veriminin ise 30°C'de 0.44 g/g , 35°C'de 0.43 g/g , 37°C'de 0,43 g/g ve 40°C'de 0.39 g/g olduğunu saptamışlardır.

Nellaiah ve ark.(1988) *Zymomonas mobilis* ile etil alkol üretimi kinetiğini inceledikleri bir çalışmada sentetik besiyerinde (glikoz) ve 30°C sıcaklıkta substrata bağlı biyokütle veriminin 0.005-0.014 g/g ve substrata bağlı ürün veriminin ise 0.46-0.51 g/g arasında olduğunu belirlemişlerdir.

Lee ve ark. (1989) *Saccharomyces uvarum* tarafından etil alkol üretimi kinetiğine sıcaklığın etkisini inceledikleri bir çalışmada sentetik besiyerinde 25°C, 30°C, 33°C, 37°C ve 40°C'de substrata bağlı ürün veriminin 0.377 g/g olarak 43°C'de ise 0.37 g/g olarak belirlemişlerdir.

Kannan ve Mutharasan (1984) *Thermoanaerobacter ethanolicus* ile etil alkol fermantasyonu kinetiğini inceledikleri bir çalışmada sentetik besiyerinde ve 70°C sıcaklıkta substrata bağlı biyokütle veriminin %1 glikoz konsantrasyonunda 0.31 g/g ve %2 glikoz konsantrasyonunda ise 0.55 g/g olduğunu saptamışlardır.

Çelik (1990) beyaz üzüm şirasından spontan şarap üretiminin kinetiğini incelediği bir çalışmada substratta biyokütle veriminin 0.04 -14.3 g/g arasında, substrata bağlı ürün veriminin ise 0.48-10 g/g arasında değiştiğini bildirmiştir

Aiba ve ark. (2000) ekmek mayası ile alkol fermantasyonuna ürün inhibisyonu kinetiğini inceledikleri bir çalışmada sentetik besiyerinde ve 30°C sıcaklıkta substrata bağlı biyokütle verimini 0.10 g/g ve substrata bağlı ürün verimini 0.35 g/g olarak belirlemişlerdir.

Bu çalışmada elde edilen substrata bağlı biyokütle ve substrata bağlı ürün verimleri, bu konu üzerine yapılmış başka çalışmalarla (Ghose ve Tyagi, 1979; Lee ve Rogers, 1983; Admassu ve Korus, 1985; Huang ve Chen, 1988; Nellaiah ve ark., 1988; Lee ve ark., 1989; Çelik, 1990; Thatipamala ve ark., 1992; Starzak, 1994) uyum içerisinde dir.

4.5. Aktivasyon Enerjisi

Mayaların aktivasyon enerjileri farklı sıcaklıkta elde edilen spesifik gelişme ve spesifik ölüm hızları kullanılarak hesaplanmıştır. Logaritmik evrede maya gelişimi için aktivasyon enerjisi ve ölüm evresinde ise maya ölümü için aktivasyon enerjisi değerleri belirlenmiştir.

Elde edilen değerler maya sayısı üzerinden Çizelge 4.13'de ve biyokütle miktarı üzerinden Çizelge 4.14'de verilmiştir.

Çizelge 4.13. Maya sayısı üzerinden maya gelişimi (Eag) ve maya ölümü için (Ead) aktivasyon enerjisi

Kinetik parametreler	'Zymaflore VL1'	'Uvaferm CM'
Eag (kj/molK)	30.30 \pm 6.222	45.45 \pm 0.919
Ead (kj/molK)	23.20 \pm 12.020	30.55 \pm 26.092

Çizelge 4.13.'de görüldüğü gibi maya sayısı üzerinden 'Zymaflore VL1' maya suşunun gelişme ve ölüm için aktivasyon enerjisi sırası ile 30.30 ve 23.20 kj/molK olarak bulunmuştur. 'Uvaferm CM' maya suşunun gelişme (Eag) ve ölüm (Ead) için aktivasyon enerjileri ise sırası ile 45.45 ve 30.55 kj/molK olarak bulunmuştur.

Çizelge 4.14. Biyokütle miktarı üzerinden maya gelişimi (Eag) ve maya ölümü (Ead) için aktivasyon enerjisi

Kinetik parametreler	'Zymaflore VL1'	'Uvaferm CM'
Eag (kj/molK)	38.25 \pm 0.919	44.95 \pm 6.293
Ead (kj/molK)	19.80 \pm 7	30.40 \pm 17

Çizelge 4.14.'de görüldüğü gibi maya sayısı üzerinden 'Zymaflore VL1' maya suşunun gelişme ve ölüm için aktivasyon enerjisi sırası ile 38.25 ve 19.80 kJ/molK olarak bulunmuştur. 'Uvaferm CM' maya suşunun gelişme ve ölüm için aktivasyon enerjileri ise sırası ile 44.95 ve 30.40 kJ/molK olarak bulunmuştur.

Maya suşlarının hücre sayısı ve biyokütle üzerinden hesaplanan E_{ag} ve E_{ad} değerleri arasındaki farklar istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur. (Çizelge 4.15 ve Çizelge 4.16).

Çizelge 4.15. Maya suşlarının E_{ag} ve E_{ad} değerleri arasındaki fark (hücre sayısı üzerinden)

Kinetik parametreler	'Zymaflore VL1'	'Uvaferm CM'	Önem derecesi (* % 5 ; ** % 1)
E_{ag} (kJ/mol K)	30.30±6.222	45.45±0.919	önemsiz
E_{ad} (kJ/mol K)	23.20±12.020	30.55±26.092	önemsiz

Çizelge 4.16. Maya suşlarının E_{ag} ve E_{ad} değerleri arasındaki fark (biyokütle üzerinden)

Kinetik parametreler	'Zymaflore VL1'	'Uvaferm CM'	Önem derecesi (* % 5 ; ** % 1)
E_{ag} (kJ/mol K)	38.25±0.919	44.95±6.293	önemsiz
E_{ad} (kJ/mol K)	19.80±7	30.40±17	önemsiz

4.6. Duyusal Analiz

Farklı maya suşu ve farklı sıcaklık kullanılarak elde edilen şaraplarda üçlü-test yöntemine göre, 10 kişilik seçilmiş üyelerden oluşan bir jüri tarafından yapılan duyusal analizlerin sonuçları Çizelge 4.17. ve Çizelge 4.18.'de verilmiştir. Bu sonuçlar istatistiksel açıdan, üçlü-test için hazırlanmış tablodan yararlanılarak değerlendirilmiştir.

18°C'de 'Zymaflore VL1' I suşu kullanılarak elde edilen örneğin 'Uvaferm CM' I suşu kullanılarak elde edilen örnekten farklı olduğunu 8 panelist doğru olarak belirlemiştir. Panelistlerden 3'ü 'Zymaflore VL1' I suşu kullanılarak elde edilen örneği tercih ederken, 7'si 'Uvaferm CM' I suşu kullanılarak elde edilen örneği tercih etmiştir. Doğru yanıt veren panelist sayısına göre örnekler arasındaki fark % 1 güven sınırında önemlidir (Çizelge 4.17.).

25°C'de 'Zymaflore VL1' I suşu kullanılarak elde edilen örneğin. 'Uvaferm CM' I suşu kullanılarak elde edilen örnekten farklı olduğunu 7 panelist doğru olarak belirlemiştir. Panelistlerden 3'ü. 'Zymaflore VL1' I suşu kullanılarak elde edilen örneği tercih ederken, 7'si 'Uvaferm CM' I suşu kullanılarak elde edilen örneği tercih etmiştir. Doğru yanıt veren panelist sayısına göre örnekler arasındaki fark % 5 güven sınırında önemlidir (Çizelge 4.17.).

18°C'de 'Zymaflore VL1' I suşu kullanılarak elde edilen örneğin 25 °C'de 'Zymaflore VL1' I suşu kullanılarak elde edilen örnekten farklı olduğunu 8 panelist doğru olarak belirlemiştir. Panelistlerden 3'ü 'Zymaflore VL1' I suşu kullanılarak elde edilen örneği tercih ederken, 7'si 'Uvaferm CM' I suşu kullanılarak elde edilen örneği tercih etmiştir. Doğru yanıt veren panelist sayısına göre örnekler arasındaki fark % 1 güven sınırında önemlidir (Çizelge 4.18.).

18°C'de 'Uvaferm CM' I suşu kullanılarak elde edilen örneğin 25 °C'de 'Uvaferm CM' I suşu kullanılarak elde edilen örnekten farklı olduğunu 8 panelist doğru olarak belirlemiştir. Panelistlerden 4'ü 'Zymaflore VL1' I suşu kullanılarak elde edilen örneği tercih ederken, 6'sı 'Uvaferm CM' I suşu kullanılarak elde edilen örneği tercih etmiştir. Doğru yanıt veren panelist sayısına göre örnekler arasındaki fark % 1 güven sınırında önemlidir (Çizelge 4.18.).

18°C'de 'Zymaflore VL1' II suşu kullanılarak elde edilen örneğin 'Uvaferm CM' II suşu kullanılarak elde edilen örnekten farklı olduğunu 8 panelist doğru olarak belirlemiştir. Panelistlerden 3'ü 'Zymaflore VL1' II suşu kullanılarak elde edilen örneği tercih ederken, 7'si 'Uvaferm CM' II suşu kullanılarak elde edilen örneği tercih etmiştir. Doğru yanıt veren panelist sayısına göre örnekler arasındaki fark % 1 güven sınırında önemlidir (Çizelge 4.17.).

25°C'de 'Zymaflore VL1' II suşu kullanılarak elde edilen örneğin 'Uvaferm CM' II suşu kullanılarak elde edilen örnekten farklı olduğunu 7 panelist doğru olarak belirlemiştir. Panelistlerden 4'ü 'Zymaflore VL1' II suşu kullanılarak elde edilen örneği tercih ederken, 6'sı 'Uvaferm CM' II suşu kullanılarak elde edilen örneği tercih etmiştir. Doğru yanıt veren panelist sayısına göre örnekler arasındaki fark % 5 güven sınırında önemlidir (Çizelge 4.17.).

18°C'de 'Zymaflore VL1' II suşu kullanılarak elde edilen örneğin 25 °C'de 'Zymaflore VL1' II suşu kullanılarak elde edilen örnekten farklı olduğunu 7 panelist doğru belirlemiştir. Panelistlerden 3'ü 'Zymaflore VL1' suşu kullanılarak elde edilen örneği tercih ederken, 7'si 'Uvaferm CM' II suşu kullanılarak elde edilen örneği tercih etmiştir. Doğru yanıt veren panelist sayısına göre örnekler arasındaki fark % 5 güven sınırında önemlidir (Çizelge 4.18.).

18°C'de 'Uvaferm CM' II suşu kullanılarak elde edilen örneğin 25 °C'de 'Uvaferm CM' II suşu kullanılarak elde edilen örnekten farklı olduğunu 7 panelist doğru belirlemiştir. Panelistlerden 3'ü 'Zymaflore VL1' suşu kullanılarak elde edilen örneği tercih ederken, 7'si 'Uvaferm CM' II suşu kullanılarak elde edilen örneği tercih etmiştir. Doğru yanıt veren panelist sayısına göre örnekler arasındaki fark % 5 güven sınırında önemlidir (Çizelge 4.18.).

Çizelge 4.17. Farklı maya suşu kullanılarak elde edilen örneklerin duyuşsal analiz sonuçları

Kıyaslanan örnekler	Farkı bulan	Tercih eden <i>S. cerevisiae</i> z.	Tercih eden <i>S. cerevisiae</i> u.
‘Zymaflore VL1’ I (18°C) ‘Uvaferm CM’ I (18°C)	8**	3	7
‘Zymaflore VL1’ II (18°C) ‘Uvaferm CM’ II (18°C)	8**	3	7
‘Zymaflore VL1’ I (25°C) ‘Uvaferm CM’ I (25°C)	7*	3	7
‘Zymaflore VL1’ II (25°C) ‘Uvaferm CM’ II (25°C)	7*	4	6

*% 5 ve **%1 güven sınırında fark vardır.

Çizelge 4.18. Farklı sıcaklık kullanılarak elde edilen örneklerin duyuşsal analiz sonuçları

Kıyaslanan örnekler	Farkı bulan	Tercih eden (25°C)	Tercih eden (18°C)
‘Zymaflore VL1’ I (18°C) ‘Zymaflore VL1’ I (25°C)	8**	3	7
‘Zymaflore VL1’ II (18°C) ‘Zymaflore VL1’ II (25°C)	7*	3	7
‘Uvaferm CM’ I (18°C) ‘Uvaferm CM’ I (25°C)	8**	4	6
‘Uvaferm CM’ II (18°C) ‘Uvaferm CM’ II (25°C)	7*	3	7

*% 5 ve **%1 güven sınırında fark vardır.

5. SONUÇ

Bu çalışmada, Nevşehir-Ürgüp yöresinde yetiştirilen beyaz şaraplık çeşitlerden Emir üzümünün şaraba işlenmesinde sıcaklığın ve maya suşunun etil alkol fermantasyonunun kinetiğine etkisi incelenmiştir.

Elde edilen bulgulara göre;

- Maya sayısı ve biyokütle miktarı üzerinden 25°C’de gerçekleştirilen denemelerde mayaların spesifik gelişme hızı 18°C’de gerçekleştirilen denemelerden daha yüksek bulunmuştur.

- 18°C’de gerçekleştirilen denemelerde maya sayısı ve biyokütle miktarı üzerinden mayaların spesifik gelişme hızı bakımından fark görülmezken, 25°C’de gerçekleştirilen denemelerde ‘Uvaferm CM’in spesifik gelişme hızının, ‘Zymaflore VL1’ den daha yüksek olduğu saptanmıştır.

- ‘Zymaflore VL1’in substrata bağlı hücre verimi ve substrata bağlı biyokütle veriminin 18°C’de elde edilen denemelerde ‘Uvaferm CM’den daha düşük buna karşın büyümeye bağlı ürün oluşumunun daha yüksek olduğu belirlenmiştir.

- 18°C’de gerçekleştirilen denemelerde ‘Zymaflore VL1’in biyokütle miktarı üzerinden spesifik ölüm hızı 25°C’de ‘Zymaflore VL1’ ile gerçekleştirilen denemelerden daha düşük bulunmuştur.

- Belirlenen diğer kinetik parametreler üzerine sıcaklık ve maya suşunun etkisi görülmemiştir.

- Duyusal değerlendirme sonucu 18°C’de elde edilen şaraplar 25°C’de elde edilen şaraplardan ve her iki sıcaklıktada ‘Uvaferm CM’ kullanılarak elde edilen şaraplar ‘Zymaflore VL1’ kullanılarak elde edilen şaraplardan daha çok beğenilmiştir.

KAYNAKLAR

- ADMASU, W., KORUS, R.A., 1985. Ethanol Fermentation with a Flocculating Yeast. *The Chemical Engineering Journal*, 31:B1-B8.
- AIBA, S., SHODA., M., NAGATANI, M., 2000. Kinetics of Product Inhibition in Alcohol Fermentation. *Biotechnology and Bioengineering*, X: 845-864.
- ALVAREZ, J.A., GONZALEZ, M.P., MURADO, M.A., 2004. Pediocin Production by *Pediococcus acidilactici* in Solid State Culture on a Waste Medium: Process Simulation and Experimental Results. *Biotechnology and Bioengineering*, 85(6):676-682.
- AMERINE, M.A. BERG, H.V., KUNKEE, R.E., OUGH, C.S., SINGLETON V.L., WEBB, A.D., 1980. *The Technology of Wine Making*. The AVI Publishing Company, Inc. Vestport, Connecticut, 794s.
- ANONYMOUS, 1997, *Methods of Analysis*, The Institute of Brewing, London.
- ARZUMANOV, T.E., SIDOROV, I.A., SHISHKANOVA, N.V., FINOGENOVA, T.V., 2000. Mathematical Modeling of Citric Acid Production by Repeated Batch Culture. *Enzyme and Microbial Technology*, 26:826-833.
- ATKINSON, B., MAVITUNA, F., 1991. *Biochemical Engineering and Biotechnology Handbook*. Macmillan Publishers Ltd, USA , 1271s.
- BAILEY, J.E., OLLIS, D.F., 1986. *Biochemical Engineering Fundamentals*. McGraw-Hill Book Company , JAPAN, 984s.
- BAKKER, C.D., 1991. *Recommended Methods of Analysis*. Institute of Brewing, London.
- BARILLERE, J.M., BENARD, P., 1986. Exemples d'interpretation de resultats de degustation. *Connaissance. Vigne Vin*. 26(3):137-154
- BENDER, F.E., KRAMER, A., KAHAN, G., 1976. *System Analysis for the Food Industry*. The Avi Publishing Company, USA, 468s.
- BİROL, G., DORUKER, P., KIRDAR, B., ÖNSAN, Z. İ., ÜLGİN, K., 1998. Mathematical Description of Ethanol Fermentation by Immobilised *Saccharomyces cerevisiae*. *Process Biochemistry*, 33(7):763-771.
- BOULTON, R.B., SINGLETON, V.L., BISSON, L.F., 1996. *Principles and Practices of Winemaking*. International Thomson Publishing, USA, 604s.

- CANBAŞ, A., 1994. Gıda Bilimi ve Teknolojisi. Ç. Ü. Ziraat Fakültesi Ofset ve Teksir Atölyesi, Adana, 199s.
- CANBAŞ, A., 2003. Şarap Teknolojisi Ders Notları. Ç. Ü. Ziraat Fakültesi (Yayımlanmadı), Adana, 195s.
- CIANI, M., PICCIOTTI, G., 1995. The Growth Kinetics and Fermentation Behaviour of Some Non-*Saccharomyces* Yeasts Associated with Wine-Making. *Biotechnology Letters*, 17(11):1247-1250.
- CRUZ, S.H., CILLI, E.M., ERNANDES, J.R., 2002. Structural Complexity of the Nitrogen Source and Influence on Yeast Growth and Fermentation. *J. Inst. Brew*, 108(1):54-61.
- ÇELİK, M., 1990. Kinetics of Spontaneous Wine Fermentation. A Master's Thesis in Food Engineering, Middle East Technical University, Ankara, 40s.
- DEGREE, R., 1993. Selection and Commercial Cultivation of Wine Yeast and Bacteria. *Wine Microbiology and Biotechnology*, (G.M. Fleet, Editör) Harword Academic Pres, Chur, Switzerland, 507s.
- DEL RE, G., DI GIACOMO, G., SPERA, L., VEGLIO, F., 2003. Integrated Approach in the Biotreatment of Starch Wastes By *Rhizopus oligosporus*: Kinetic analysis. *Desalination*, 156:389-396.
- FARKAS, J., 1988. *Technology and Biochemistry of Wine Volume:1*. Gordon and Breach Science Publishers, USA, 387s.
- GADEN, E.L., 2000. Fermentation Process Kinetics. *Biotechnology and Bioengineering*, 67(6):629-635.
- GELMI, C., PEREZ-CORREA, R., AGOSIN, E., 2002. Modelling *Gibberella fujikuroi* growth and GA₃ Production in Solid-State Fermentation. *Process Biochemistry*, 37:1033-1040
- GHOSE, T., 1984. Measurement of Cellulase Activities. Commission on Biotechnology, International Union of Pure and Applied Chemistry, New Delhi, India.
- GHOSE, T.K., TYAGI, R.D., 1979. Rapid Ethanol Fermentation of Cellulose Hydrolysate. II. Product and Substrate Inhibition and Optimization of Fermentor Design. *Biotechnology and Bioengineering*, XXI:1401-1420.

- GIRIDHAR, R., SRIVASTAVA A.K., 2000. Model Based Constant Feed Fed-Batch L-Sorbose Production Process for Improvement in L-Sorbose Productivity. Chemical Biochemical Engineering, 14(4):133-140.
- GÖK, İ., 1998. Yield and Kinetics of Riboflavin Production by *Asbya gossypii*. Master Thesis., Institute of Natural and Applied Sciences, Gaziantep University, Gaziantep.
- GÜLTEKİN, S., GÜLEN, J., 2001. Kimya Mühendisliğinde Matematiksel Modelleme. Kimya-Metalurji Fakültesi, Kimya Mühendisliği Bölümü, İSTANBUL, 112s.
- HALOUI, N.E., CORRIEU, G., CLERAN, Y., CHERUY, A., 1989. Method for On-Line Prediction of Kinetics of Alcoholic Fermentation in Wine Making. Journal of Fermentation and Bioengineering, 68(2):131-135.
- HIGGINS, I.J., BEST, D.J., JONES, J., 1985. Biotechnology. Blackwell Scientific Publications, LONDON,422s.
- HORVATH, I.S., TAHERZADEH, M.J., NIKLASSON, C., LIDEN, G., 2001. Effects of Furfural on Anaerobic Continuous Cultivation of *Saccharomyces cerevisiae*. Biotechnology and Bioengineering, 75(5):540-549.
- HUANG, S.Y., CHEN, J.C., 1988. Analysis of the Kinetics of Ethanol Fermentation with *Zymomonas mobilis* Considering Temperature Effect. Enzyme Microbial Technology, 10:431-439.
- JIDEANI, V.A., NKAMA, I., AGBO, E.B., JIDEANI, I.A., 2002. Mathematical Modeling of Odor Deterioration of Millet (*Pennisetum glaucum*) Dough (*fura*) as Affected by Time-Temperature and Product Packaging Parameters. Cereal Chemistry, 79(5):710-714.
- KANNAN, V., MUTHARASAN, R., 1984. Ethanol Fermentation Characteristics of *Thermoanaerobacter ethanolicus*. Enzyme Microbial Technology, 7:87-89.
- KAPLAN, İ., 2001. Fermantasyon Kinetiği ve Modelleme. Lisans Tezi, Yıldız Teknik Üniversitesi, İSTANBUL, 71s.
- KIM, S.W., HWANG, H.J., XU, C.P., CHOI, J.W., YUN, J.W., 2003. Effect of Aeration and Agitation on the Production of Mycelial biomass and

- Exopolysaccharides in an Entomopathogenic Fungus *Paecilomyces sinclairii*, 36:321-326.
- KNOX, A.M., PREEZ, J. C., KILIAN, S.G., 2004. Starch Fermentation Characteristics of *Saccharomyces cerevisiae* Strains Transformed with Amylase Genes from *Lipomyces Kononenkoae* and *Saccharomycopsis fibuligera*. *Enzyme and Microbial Technology*, 34:453-460.
- KÖSEBALABAN, F., 1991. Kinetic Aspects of Wine Spoilage By Acetic Acid Bacteria. A Master's Thesis in Food Engineering., Middle East Technical University , Ankara, 49s.
- LEE, J.H., WILLIAMSON, D., ROGERS, P.L., 1989. The effects of Temperature on the Kinetics of Ethanol Production by *Saccharomyces uvarum*. *Biotechnology Letters*, 2(4):83-88.
- LEE, K.J., ROGERS, P.L., 1983. The Fermentation Kinetics of Ethanol Production by *Zymomonas mobilis*. *The Chemical Engineering Journal*, 27: B31-B38.
- LEVINE, I.N., 1995. Physical Chemistry. McGraw-Hill, INC, USA, 901s.
- LUONG, J.H.T., 1985. Kinetics of Ethanol Inhibition in Alcohol Fermentation. *Biotechnology and Bioengineering*, XXVII:280-285.
- MARANGENI, A.G., 2003. Enzyme Kinetics: A Modern Approach. Department of Food Science University of Guelph, 216s.
- MARIN, M.R., 1999. Alcoholic Fermentation Modelling: Current State and Perspectives. *Am. J. Enol. Vitic.*, 50(2):166-178.
- MONTEAGUDO, J.M., RODRIGUEZ, L., RINCON, J., FUERTES, J., 1997. Kinetics of Lactic Acid Fermentation by *Lactobacillus delbrueckii* Grown on Beet Molasses. *Journal Chemical Technology Biotechnology*, 68:271-276.
- MOULIN, G., BOZE, H., GALZY., P., 1984. Inhibition of Alcoholic Fermentation. *Biotechnology and Genetic Engineering Reviews*, 2:365-382.
- MWESIGYE, P.K., BARFORD, J.P., 1996. Batch Growth and Transport Kinetics of Utilization of Mixtures of Sucrose and Maltose by *Saccharomyces cerevisiae*. *Journal of Fermentation and Bioengineering*, 82(2):101-108.

- NANBA, A., NISHIZAWA, Y., TSUCHIYA, Y., NAGAI, S., 1987. Kinetic Analysis for Batch Ethanol Fermentation of *Saccharomyces cerevisiae*. Journal Fermentation Technology, 65(3):277-283.
- NELLAIAH, H., KARUNAKARAN, T., GUNASEKARAN, P., 1988. Ethanol Fermentation Technology, 65(2):219-223.
- NORTON, S., LACROIX, C., VUILLEMARD, J.C., 1994. Kinetic Study of Continuous Whey Permeate Fermentation by Immobilized *Lactobacillus helveticus* for Lactic Acid Production. Enzyme Microbial Technology, 16: 457-466.
- NURGEL, C., 2000. Emir ve Kalecik Karası Üzümlerinin Şaraba İşlenmesinde Maya Florasındaki Gelişmeler ve Fermantasyonda Kullanılan Mayaların Kalite Üzerine Etkileri. Doktora Tezi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Çukurova Üniversitesi, ADANA, 161s.
- ÖZDAMAR, K., 1999. Paket Programlar ile İstatistiksel Veri Analizi, Kaan Kitabevi, Eskişehir, 535s.
- ÖZEN, S., 1991. Kinetics of Lactic Acid Production By Mixed Cultures of *Lactobacillus bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus*. A Master's Thesis in Food Engineering, Middle East Technical University , Ankara, 63s.
- ÖZİLGEN, M., ÇELİK, M., BOZOĞLU, T.F., 1991. Kinetics of Spontaneous Wine Production. Enzyme Microbial Technology, 13:252-256.
- PANCHAL, C.J., 1993. Yeast Strain Selection. Miles Research Center, West Haven, Connecticut, CANADA, 349s.
- QUEROL, A., BARRIO, E., RAMON, D., 1994. Population Dynamics of Natural *Saccharomyces* Strains During Wine Fermentation. International Journal of Food Microbiology, 21:315-323.
- QUEROL, A., FERNANDEZ-ESPINAR, M.T., OLMO, M., BARRIO, E., 2003. Adaptive Evolution of Wine Yeast, 86:3-10.
- REARDON, K.F., MOSTELLER, D.C., ROGERS, J.B., DuTEAU, N.M., 2002. Biodegradation Kinetics of Aromatic Hydrocarbon Mixtures by Pure and Mixed Bacterial Cultures, 110:1005-1011.

- ROCA, E., FLORES, J., NUNEZ, M.J., LEMA, J.M., 1996. Ethanol fermentation by immobilized *Saccharomyces cerevisiae* in a semipilot pulsing packed-bed bioreactor. *Enzyme and Microbial Technology*, 19(265557):132-139.
- RUGGERI, B., SPECCHIA, V., SASSI, G., GIANETTO, A., 1988. Numerical Estimation of Biokinetic Parameters. *The Chemical Engineering Journal*, 39: B17-B24.
- RUGGERI, B., SPECCHIA, V., GIANETTO, A., 1988. Ethanol Production from Lactose by *Kluyveromyces Fragilis*: Kinetic Study on an Immobilized Yeast Reactor. *The Chemical Engineering Journal*, 37: B23-B30.
- SABLAYROLLES, J.M., 1995. Fermentation Kinetics and the Production Of Volatiles During Alcoholic Fermentation. *Journal American Society Brewing Chemistry*, 53(2):72-78.
- SACAĞ, M., 2002. *Kimyasal Kinetik*. Gazi Kitabevi Tic. Ltd. Şti, Ankara, 355s.
- SAINZ, J., PIZARRO, F., PEREZ-CORREA, R., AGOSIN, E., 2003. Modeling of Yeast Metabolism and Process Dynamics in Batch Fermentation. *Biotechnology and Bioengineering*, 81(7):818-828.
- SCHIRALDI, C., ADUCCI, V., VALLI, V., MARESCA, C., GIULIANO, M., LAMBERTI, M., CARTENI, M., ROSA, M., 2003. High Cell Density cultivation of Probiotics and Lactic Acid Production, *82(2):213-222*.
- SHINOHARA, T., SAITO, K., YANAGIDA, F., GOTO, S., 1994. Selection and Hybridization of Wine Yeasts for Improved Winemaking Properties: Fermentation Rate and Aroma Productivity. *Journal Fermentation Bioengineering*, 77(4):428-431.
- SHU, C.H., YANG, S.T., 1990. Kinetics and Modeling Temperature Effects on Batch Xanthan Gum Fermentation. *Biotechnology and Bioengineering*, 37: 567-574.
- SIRIJARUPHAN, A., GOODWIN JR, J.G., RICE, R.W., 2004. Effect of Temperature and Pressure on the Surface Kinetic Parameters of Pt/γ — Al₂O₃ During Selective CO Oxidation. *Journal of Catalysis*, 227:547-551.
- SMITH, J.M., 1981. *Chemical Engineering Kinetics*. Mc Graw-Hill International Book Company, JAPAN, 676s.

- STANBURY, P.F., WHITAKER, A., 1989. Principles of Fermentation Technology, Pergamon Pres, Oxford, 1-24.
- STARZAK, M., 1994. Macroapproach Kinetics of Ethanol Fermentation by *Saccharomyces cerevisiae*: Experimental Studies and Mathematical Modelling. The Chemical Engineering Journal, 54:221-240.
- TAMER, I.M., ÖZİLGEN, M., UNGAN, S., 1988. Kinetics of Riboflavin Production by Brewers' Yeasts. Enzyme Microbial Technolog, 10: 754-756.
- TELEFONCU, A., 1995. Biyoteknoloji. Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Yayınları, No:152, 356s.
- THATIPAMALA, R., ROHANI, S., HILL, G.A., 1992. Effects of High Product and Substrate Inhibitions on the Kinetics and Biomass and Product Yields during Ethanol Batch Fermentation, 40:289-297.
- UDEN, N., 2000. Alcohol Toxicity in Yeasts and Bacteria. CRC Pres, Inc. Boca Raton, PORTUGAL, 300s.
- ÜLGEN, N., 1987. Kinetics of By- Product Formation and Substrate Utilization By *Kluyveromyces fragilis*. A Master's Thesis in Food Engineering, Middle East Technical University , Ankara, 67s.
- ÜNAL, M., 2002. Enzimoloji Ders Notları. Ç. Ü. Ziraat Fakültesi (Yayımlanmadı), Adana, 65s.
- VOLESKY B., VOTRUBA, J., 1992. Modelling and Optimization Fermentation Process. Elsevier Science Publisher, Netherlands, 266s.
- WAITES, M.J., MORGAN, N.L., ROCKEY, J.S., HIGTON, G., 2001. Industrial Microbiology: An Introduction. Marston Book Services Ltd, LONDON, 288s.
- YALÇIN, S.K., ÖZBAŞ, Z.Y., 2003. Effects of Different Substrates on Growth and Glycerol Production Kinetics of a Wine Yeast Strain *Saccharomyces cerevisiae* Narince 3. Process Biochemistry, (Basımda).
- YEH, P., BAJPAI, R.K., IANNOTTI, E.L., 1990. An Improved Kinetic Model for Lactic Acid Fermentation. Journal of Fermentation and Bioengineering, 71(1): 75-77.

- YONGQIANG, L., DEHUA, L., 2003. Kinetic Study on Glycerol Production by Repeated Batch Fermentation Using Free *Candida Crusei*. Process Biochemistry, xxx:xxx-xxx.
- YÖNDEM, F., 1991. Kinetic Aspect of Leavening With Mixed Cultures of *Lactobacillus plantarum* and *Saccharomyces cerevisiae*. A Ph. D. Thesis in Food Engineering, Middle East Technical University, Ankara, 113s.
- ZUZUARREGUI, A., OLMO, M., 2004. Expression of Stress Response Genes in Wine Strains with Different Fermentative Behavior. FEMS Yeast Research, 4:699-710.

ÖZGEÇMİŞ

1978 yılında Adana ili Ceyhan ilçesinde doğdum. İlk, orta ve lise öğrenimimi Adana'da tamamladıktan sonra 1998 yılında İnönü Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümünü kazandım, aynı yıl Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümüne yatay geçişle kabul edildim. 2002 yılında bu bölümden mezun oldum. Aynı yıl Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Bölümünde yüksek lisans öğrenimime başladım ve aynı yıl Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümüne araştırma görevlisi olarak atandım. Halen aynı Anabilim Dalı'nda araştırma görevlisi olarak çalışmaktayım.

EK ÇİZELGE LİSTESİ

Ek 1. Emir şirasının 'Zymoflore VL1' ile 18°C'de fermantasyonu sırasında substrat tüketimi ve etil alkol oluşumu

Süre (saat)	Şeker (g/L)	Alkol (g/L)
0	185.50 ± 0.70	0 ± 0
12	184.45 ± 0.77	0.5 ± 0
24	181.00 ± 1.41	1.1 ± 0
36	178.50 ± 0.70	2.4 ± 0.42
48	174.50 ± 2.12	3.2 ± 0
60	171.50 ± 2.12	5.8 ± 0.77
72	162.05 ± 4.73	8.8 ± 1.13
84	158.50 ± 2.12	12.5 ± 2.75
96	145.30 ± 7.49	15.2 ± 1.90
108	140.10 ± 8.34	24.1 ± 1.13
120	118.05 ± 5.02	35 ± 11.1
132	110.00 ± 7.07	38.2 ± 7.49
144	88.30 ± 3.25	50.1 ± 6.01
156	50.35 ± 10.67	74.3 ± 1.41
168	0.75 ± 0.07	84.8 ± 0.42
180	0.60 ± 0	85.1 ± 0
192	0.60 ± 0	85.1 ± 0
204	0.44 ± 0.02	85.1 ± 0
216	0.44 ± 0.02	85.1 ± 0
228	0.44 ± 0.02	85.1 ± 0
240	0.44 ± 0.02	85.1 ± 0
252	0.44 ± 0.02	85.1 ± 0
264	0.44 ± 0.02	85.1 ± 0
276	0.44 ± 0.02	85.1 ± 0
288	0.44 ± 0.02	85.1 ± 0

Ek 2. Emir şirasının ‘Zymoflore VL1’ ile 25°C’de fermantasyonu sırasında substrat tüketimi ve etil alkol oluşumu

Süre (saat)	Şeker (g/L)	Alkol (g/L)
0	185.3 ± 0.98	0 ± 0
12	183.8 ± 1.13	0.8 ± 0.42
24	181.5 ± 2.12	1.6 ± 0
36	177.0 ± 1.41	4 ± 0.42
48	164.3 ± 8.06	8.5 ± 2.96
60	158.3 ± 0.56	12.8 ± 0.77
72	154.2 ± 1.20	14.2 ± 0.42
84	120.8 ± 11.59	22.7 ± 5.51
96	106.3 ± 1.83	35.6 ± 1.27
108	67.2 ± 3.60	51.0 ± 2.12
120	1.0 ± 0.19	86.5 ± 0.98
132	0.8 ± 0.07	86,8 ± 0,49
144	0.6 ± 0.32	86.8 ± 0.49
156	0.49 ± 0.18	87.1 ± 0.91
168	0.47 ± 0.18	87.1 ± 0.91
180	0.47 ± 0.18	87.1 ± 0.91
192	0.46 ± 0.19	87.1 ± 0.91
204	0.46 ± 0.19	87.1 ± 0.91
216	0.46 ± 0.19	87.1 ± 0.91

Ek 3. Emir şirasının ‘Uvaferm CM’ ile 18°C’de fermantasyonu sırasında substrat tüketimi ve etil alkol oluşumu

Süre (saat)	Şeker (g/L)	Alkol (g/L)
0	186.5 ± 0.70	0 ± 0
12	184.2 ± 1.13	0.5 ± 0
24	178.5 ± 0.70	1.3 ± 0.35
36	176.0 ± 0	3.7 ± 0
48	173.0 ± 1.27	5.0 ± 0.35
60	161.0 ± 1.41	7.9 ± 0.77
72	155.6 ± 4.31	10.6 ± 0
84	140.4 ± 0.56	15.2 ± 0.35
96	134.5 ± 4.03	19.9 ± 2.33
108	116.5 ± 5.44	28.6 ± 5.30
120	106.4 ± 5.37	43.8 ± 2.96
132	69.8 ± 7.28	53.2 ± 6.08
144	54.0 ± 0.28	66.6 ± 7.63
156	0.7 ± 0.02	85.1 ± 0.91
168	0.7 ± 0.02	85.1 ± 0.91
180	0.69 ± 0.01	85.1 ± 0.91
192	0.68 ± 0.007	85.1 ± 0.91
204	0.67 ± 0.007	85.1 ± 0.91
216	0.65 ± 0.021	85.1 ± 0.91
228	0.64 ± 0.042	85.1 ± 0.91
240	0.63 ± 0.02	85.1 ± 0.91
252	0.63 ± 0.02	85.1 ± 0.91
264	0.63 ± 0.02	85.1 ± 0.91

Ek 4. Emir şirasının ‘Uvaferm CM’ ile 25°C’de fermantasyonu sırasında substrat tüketimi ve etil alkol oluşumu

Süre (saat)	Şeker (g/L)	Alkol (g/L)
0	186.5 ± 0.70	0 ± 0
12	183.8 ± 1.13	1.1 ± 0
24	177.3 ± 6.64	2.1 ± 0.77
36	175.0 ± 6.22	6.9 ± 1.55
48	167.0 ± 2.82	9.0 ± 0.77
60	150.2 ± 9.68	12.8 ± 1.55
72	130.1 ± 13.93	14.4 ± 1.48
84	78.3 ± 0.42	44.5 ± 5.30
96	60.0 ± 11.3	65.9 ± 2.19
108	1.1 ± 0.07	87.1 ± 2.89
120	0.8 ± 0.02	88.5 ± 3.81
132	0.7 ± 0.08	88.85 ± 4.31
144	0.7 ± 0.02	88.85 ± 4.31
156	0.7 ± 0.02	88.85 ± 4.31
168	0.6 ± 0.04	88.85 ± 4.31
180	0.6 ± 0.04	88.85 ± 4.31
192	0.6 ± 0.04	88.85 ± 4.31