

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ



**KALSİYUM ALJİNATTA İMMOBİLİZE EDİLMİŞ
Saccharomyces cerevisiae HÜCRELERİ İLE ETANOL ÜRETİMİ
ÜZERİNE İNHİBİTÖR MADDELERİN ETKİSİNİN BELİRLENMESİ**

Selime Benemir ERKAN

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

GIDA MÜHENDİSLİĞİ

ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS

HAZİRAN 2020

ANTALYA

**T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ**



**KALSİYUM ALJİNATTA İMMOBİLİZE EDİLMİŞ
Saccharomyces cerevisiae HÜCRELERİ İLE ETANOL ÜRETİMİ
ÜZERİNE İNHİBİTÖR MADDELERİN ETKİSİNİN BELİRLENMESİ**

Selime Benemir ERKAN

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

GIDA MÜHENDİSLİĞİ

ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS

HAZİRAN 2020

ANTALYA

**T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**KALSIYUM ALJİNATTA İMMOBİLİZE EDİLMİŞ
Saccharomyces cerevisiae HÜCRELERİ İLE ETANOL ÜRETİMİ
ÜZERİNE İNHİBİTÖR MADDELERİN ETKİSİNİN İNCELENMESİ**

**Selime Benemir ERKAN
GIDA MÜHENDİSLİĞİ
ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS**

**Bu tez Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon
Birimi tarafından FYL-2019-4699 nolu proje ile desteklenmiştir.**

HAZİRAN 2020

ÖZET

KALSİYUM ALJİNATTA İMMOBİLİZE EDİLMİŞ *Saccharomyces cerevisiae* HÜCRELERİ İLE ETANOL ÜRETİMİ ÜZERİNE İNHİBİTÖR MADDELERİN ETKİSİNİN İNCELENMESİ

Selime Benemir ERKAN

Yüksek Lisans Tezi, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Doç.Dr. İrfan TURHAN

Haziran 2020; 119 sayfa

Günümüzde, enerjinin büyük bir bölümü petrol, kömür ve doğal gaz gibi fosil yakıtlardan elde edilmektedir. Hızla tükenen enerji kaynakları göz önüne alındığında bu durum gelişmiş ülkeleri alternatif yollar bulmaya yönlendirmiştir. Bu nedenle doğal tarımsal kaynaklarla ya da ucuz ve içeriği uygun lignoselülozik hammaddeler ile etanol üretimi gerçekleştirilmektedir. Saf karbon kaynaklarından etanol üretimi fermentasyon ve distilasyon aşamalarından oluşurken lignoselülozik materyallerden etanol üretimi ön-işlem, hidroliz, fermentasyon ve distilasyon aşamalarından oluşmaktadır. Bu işlemler sırasında fermentasyon ortamında olumsuz etki gösterebilecek inhibitörler oluşmaktadır. Bu maddeler biyokütle gelişimi engelleyerek ürün verimini azaltmaktadırlar.

Yapılan bu çalışmada etanol üretimi için immobilize edilmiş *Saccharomyces cerevisiae* hücreleri kullanılmıştır. Immobilizasyon ile hücrelerin inhibitörlere olan tolerans aralıklarını arttırmak amaçlanmıştır. Çalışmada inhibitör olarak HMF, furfural, fenol, asetik ve formik asit tek tek ve miks olmak üzere farklı konsantrasyonlarda kullanılmıştır. İnhibitörlerin karışımının fermentasyon üzerindeki etkisini belirlemek amacıyla 10 farklı deneme Plackett-Burman Dizayn ile oluşturulmuştur. Yapılan fermentasyonlar sonucunda besiyerinde 8 g/L HMF inhibitör etki göstermiştir. Furfural ile yapılan fermentasyonlarda 8 g/L furfural inhibitör etki göstermiştir. Fenol ile yapılan fermentasyonlarda 5 g/L fenol inhibitör etki göstermiştir. Asetik asit ile yapılan fermentasyonlarda 7,5 g/L asetik asit inhibitör etki göstermiştir. Formik asit ile yapılan fermentasyonlarda 1,5 g/L formik asit inhibitör etki göstermiştir. Elde edilen istatistik sonuçlarında ise miks olarak yapılan fermentasyonlarda furfuralın etkisinin diğer inhibitörlere kıyasla daha etkili olduğu görülmüştür.

Çalışmanın diğer kısmında ise en iyi etanol elde edilen fermentasyonlara 10 farklı matematiksel model uygulanmıştır. Kontrol fermentasyonunda etanol üretimi için MMF uygun model olarak seçilmiştir. HMF ve furfural ilavesi ile gerçekleştirilen fermentasyonlarda etanol üretimi için MGM uygun model olarak seçilmiştir. Fenol ilavesi ile gerçekleştirilen fermentasyonda etanol üretimi için Baranyi uygun model olarak seçilmiştir. Asetik asit ilavesi ile gerçekleştirilen fermentasyonda etanol üretimi için MGM uygun model olarak seçilmiştir. Formik asit ilavesi ile gerçekleştirilen fermentasyonunda etanol üretimi için MMF uygun model olarak seçilmiştir. Miks fermentasyonlarda ise etanol üretimi için Weibull uygun model olarak seçilmiştir.

Etanol üretim proseslerinde hammaddelere ve yapılan ön işlemlere bağlı olarak inhibitör maddeler yan ürün olarak meydana gelmektedir. Bu çalışma ile de immobilize hücrelerin HMF, furfural, fenol, asetik ve formik asit gibi inhibitörlere karşı tolerans aralıkları belirlenmiştir. Ayrıca bu inhibitörlerin karışım olarak kullanıldığı miks fermentasyonlar ile hücrelerin tolerans aralığı farklı bir açıdan da gözlemlenmiştir. Yapılan çalışma literatür ile karşılaştırıldığında immobilizasyon işleminin tolerans aralığını genişlettiği ve hücreleri koruduğu görülmüştür. Aynı zamanda belirlenen tolerans aralıkları ile zaman, maliyet ve enerji açısından çalışmalar için olumlu bir kapı açmaktadır.

ANAHTAR KELİMELEER: Etanol, Fermentasyon, İmmobilizasyon, İnhibitör, Modelleme, *Saccharomyces cerevisie*

JÜRİ: Doç. Dr. İrfan TURHAN

Dr. Öğr. Üyesi Ercan YATMAZ

Dr. Öğr. Üyesi Mert KARAOĞLAN

ABSTRACT

INVESTIGATION OF THE EFFECT OF INHIBITORS ON ETHANOL PRODUCTION WITH IMMOBILIZED *Saccharomyces cerevisiae* CELLS in CALCIUM ALGINATE

Selime Benemir ERKAN

MSc Thesis in Food Engineering

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Irfan TURHAN

June 2020; 119 pages

Today, most of the energy is obtained from fossil fuels. Given the rapidly depleting energy sources, this situation led developed countries to find alternative ways. Ethanol is produced with pure sources or lignocellulosic raw materials. While ethanol production from pure carbon sources consists of fermentation and distillation stages, ethanol production from lignocellulosic materials is generally carried out in four steps, including pre-treatment, hydrolysis, fermentation and distillation. During these processes, inhibitors are formed that may have negative effects on the environment.

In this study, immobilized *Saccharomyces cerevisiae* cells were used for ethanol production. In the study, HMF, furfural, phenol, acetic and formic acid were used as inhibitors in different concentrations. Mix fermentations with 10 different trial patterns were obtained with Plackett-Burman Dizayn. As a result of the fermentations, 8 g/L HMF showed an inhibitory effect. In fermentations with furfural addition, 8 g/L furfural showed inhibitory effect. In fermentations with the addition of phenol, 5 g/L phenol showed an inhibitory effect. In fermentations performed the addition of acetic acid, 7,5 g/L acetic acid showed an inhibitory effect. In the fermentations performed the addition of formic acid, 1,5 g/L formic acid showed an inhibitory effect. In the obtained statistical results, it was seen that the effect of furfural concentration was more effective than other inhibitors in mixed fermentations.

In the other part of the study, 10 different mathematical models were applied to the fermentations with the best ethanol. MMF for ethanol was selected in the control fermentation. MGM for ethanol was selected in the addition of 2 g/L HMF and furfural. Baranyi for ethanol was selected in the addition of 0,5 g/L phenol. MGM for ethanol was selected in the addition of 2,5 g/L acetic acid. MMF for ethanol was selected in the addition of 0,5 g/L formic acid. In mix fermentation numbered 10, Weibull was chosen as suitable model for ethanol.

As a result of the study, tolerance intervals of immobilized cells against inhibitors such as HMF, furfural, phenol, acetic and formic acid were determined. In addition, the tolerance range of the cells was observed in a different way with fermentations where these inhibitors were used as mix. Compared with the literature, it was seen that immobilization process extended the tolerance range and protected the cells. At the same time, it is positive in terms of time, material and energy to predict whether or not to perform pre-treatments with the specified tolerance ranges.

KEYWORDS: Ethanol, Fermentation, Immobilization, Inhibitor, Modelling, *Saccharomyces cerevisiae*

COMMITTEE: Assoc. Prof. Dr. Irfan TURHAN

Asst. Prof. Dr. Ercan YATMAZ

Asst. Prof. Dr. Mert KARAOGLAN



ÖNSÖZ

Yıllar boyunca insanoğlu gıdaya ve enerjiye bağlı olarak yaşamıştır. Günümüzde dünya nüfusunun artması insanları yaşam kalitesi açısından farklı noktalara sevk etmiştir. Bu doğrultuda yenilenebilir ve çevresel olumsuz etkisi az olan enerji kaynaklarına yönelme gerçekleşmiştir. Bunun yanı sıra özellikle de hızla tükenen enerji kaynakları göz önüne alındığında bu durum gelişmiş ülkeleri alternatif yollar bulmaya yönlendirmiştir. Bu amaçla birçok ülkede doğal tarımsal ürünler-atıklar ya da ucuz ve içeriği uygun lignoselülozik hammaddeler ile etanol üretimi gerçekleştirilmektedir. Etanol, yüksek verimlilik ve düşük çevresel etki ile yenilenebilir bir enerji kaynağıdır. Başta gıda ve kimya endüstrisi olmak üzere birçok alanda kullanılan etanol, aynı zamanda araç yakıtı olarak belirli oranlarda fuel-oil ile karıştırılarak kullanılabilir. Bununla birlikte etanol, ülkemizde ve Dünya’da gıda katkı maddesi, içecek üretimi ve bilimsel çalışmalar gibi alanlarda da kullanılmaktadır. Tüm bu avantajlar doğrultusunda alternatif yenilenebilir enerji kaynağı olan etanol, fosil yakıtlara olan bağımlılığı kademeli olarak azaltmaktadır. Fakat etanol üretim sırasında fermentasyon öncesi ve sonrası aşamalarda oluşabilecek inhibitör maddeler hem verimi azaltmakta hem de mikroorganizmaların gelişimini sınırlandırmaktadır. Bu olumsuz etkilerden dolayı kullanılacak mikroorganizmanın fermentasyon ortamında bulunan inhibitör maddelere olan tolerans aralıklarının belirlenmiş olması çalışmalar için önemli bir etkidir. Materyallere uygulanacak bazı ön işlemlerin ve detoksifikasyon işleminin seçimi için bu tolerans aralıklarını bilmesi çalışmada zaman, enerji ve maliyet açısından pozitif bir katkı sağlamaktadır. Aynı zamanda bu çalışmada immobilizasyon işleminin denenmesi ile inhibitör bileşiklere olan tolerans aralığının genişletilmesi sağlanmıştır. Literatüre bakıldığında reaktör kullanılarak immobilize hücreler ile inhibitör bileşiklerin etkilerinin incelendiği bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Bu doğrultuda gerçekleştirilen çalışma ile literatüre önemli bir katkı sağlanmıştır.

Öncelikle bana bu çalışmayı tamamlama fırsatı sunan, engin bilgileriyle yolumu aydınlatan, iyi ya da kötü her anımda desteğini hissettiğim, motivasyonumu hep yüksek tutmamı sağlayan, yanına her gittiğimde beni geri çevirmeyen ve bana güvenerek her şeyin üstesinden gelebileceğime inanmamı sağlayan saygıdeğer danışman hocam Doç. Dr. İrfan TURHAN’a (Akdeniz Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü) sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Zamanımın çoğunu birlikte geçirdiğim, her zaman bana destek olan, birbirimizle sıkıntılarımızı ve mutlu anlarımızı paylaştığımız çok değerli arkadaşlarım Hilal Nur GÜRLER, Duygu Gizem BİLGİN ve Cansu YILMAZER’e çok teşekkür ederim. Bana her türlü yardımda bulunan, her sıkıntıda yardımcı olmaya çalışan, modumu her zaman yükselten saygıdeğer hocam Dr. Öğr. Üyesi Ercan YATMAZ (Akdeniz Üniversitesi Göynük Meslek Yüksek Okulu) ve güler yüzü, iyi kalbiyle içimi ısıtan sevgili eşi Öğr. Gör. Dr. Hanife Aydan YATMAZ’a (Akdeniz Üniversitesi Gıda Güvenliği ve Tarımsal Araştırmalar Merkezi) teşekkür ederim. Lisans ve lisansüstü hayatımda hep yeni şeyler keşfetmemi sağlayan, bildiklerini bana öğreten hocam Mustafa GERMEÇ’e de teşekkür ederim. Aynı zamanda laboratuvarı paylaşmış olduğum diğer ekip arkadaşlarım Ali ÖZCAN’a ve Ercan Karahalil’e, birlikte çalıştığımız lisansüstü ofisi paylaştığım diğer tüm arkadaşlarıma çok teşekkür ederim.

Çalışmamı maddi yönden destekleyen Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'ne (BAP) ve TÜBİTAK 2210-C Öncelikli Alanlar Birimi'ne teşekkür etmeyi bir borç bilirim.

2010 yılından beri hayatımda olan, varlığını her zaman yanımda hissettiğim, her zaman bana güvenen ve inanan, hiçbir zaman pes etmemem gerektiğini bana söyleyerek elimden tutan ve beni dinleyen sevgili arkadaşım Mehmet Orkun ÜNSAL'a çok teşekkür ederim.

Son olarak hayatımın her anında beni destekleyen, her zaman bana güvenen, sevgilerini hep kalbimde hissettiğim ve her zaman iyiliğimi düşünen canım aileme çok teşekkür ederim. Tez çalışmam boyunca gece geç vakitlere denk gelen örnek saatlerimde örnek alabilmem için beni okula getirip götürten dedem Rahmi BALAMAN'a ayrıca çok teşekkür ederim. Beni hiçbir koşulda yalnız bırakmayan, her zaman elimi tutan, hayatımda hiç eksiklik hissetmemem için hep çabalayan ve hep yanımda olmasını istediğim beni bugünlere getiren biricik annem Oya ERKAN'a, 2001 yılında kaybettiğim fakat varlığını hep yanımda hissettiğim canım babam Şeref Murat ERKAN'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT	iii
ÖNSÖZ.....	v
AKADEMİK BEYAN	xi
SİMGELER VE KISALTMALAR	xii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xiv
ÇİZELGELER DİZİNİ	xvi
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK TARAMASI.....	3
2.1. Etanol.....	3
2.2. Etanol Üretici Mikroorganizmalar	4
2.3. İnhibitör Maddeler.....	4
2.4. İmmobilizasyon	6
3. MATERYAL VE METOT.....	11
3.1. Materyal.....	11
3.2. Fermentasyonda Kullanılan Mikroorganizma.....	11
3.3. İmmobilizasyon	11
3.4. Kontrol Fermentasyonu ve İnhibitör Konsantrasyonları.....	12
3.5. Deneme Deseni.....	12
3.6. Analiz Metotları	13
3.6.1. DNSA metodu ile toplam şeker analizi (miller metodu).....	13
3.6.2. Etanol miktarı analizi	14
3.6.3. Biyokütle analizi	15
3.6.4. Kinetik parametrelerin belirlenmesi	15

3.6.5. Matematiksel modellerin belirlenmesi	16
3.6.6. İstatistiksel analiz	18
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	19
4.1. Kontrol Fermentasyonu	19
4.1.1. Kontrol fermentasyonuna ait analiz sonuçları ve kinetik parametreler.....	19
4.1.2. Kontrol fermentasyonuna ait etanol üretimi, biyokütle gelişimi ve şeker tüketimi değerlerinin matematiksel modellenmesi	21
4.2. HMF İlavesi ile Gerçekleştirilen Fermentasyonlar	24
4.2.1. HMF ilavesi ile gerçekleştirilen fermentasyonlarda şeker tüketimi.....	24
4.2.2. HMF ilavesi ile gerçekleştirilen fermentasyonlarda etanol üretimi	24
4.2.3. HMF ilavesi ile gerçekleştirilen fermentasyonlarda biyokütle gelişimi.....	25
4.2.4. Farklı HMF konsantrasyonlarında gerçekleştirilen fermentasyonların kinetik parametrelerinin karşılaştırılması.....	26
4.2.5. HMF ilavesi ile gerçekleştirilen fermentasyonlara ait etanol üretimi, biyokütle gelişimi ve şeker tüketimi değerlerinin farklı matematiksel modellere uygulanması	29
4.3. Furfural İlavesi ile Gerçekleştirilen Fermentasyonlar	31
4.3.1. Furfural ilavesi ile gerçekleştirilen fermentasyonlarda şeker tüketimi.....	31
4.3.2. Furfural ilavesi ile gerçekleştirilen fermentasyonlarda etanol üretimi	31
4.3.3. Furfural İlavesi ile Gerçekleştirilen Fermentasyonlarda Biyokütle Gelişimi	32
4.3.4. Farklı furfural konsantrasyonlarında gerçekleştirilen fermentasyonların kinetik parametrelerinin karşılaştırılması.....	33
4.3.5. Furfural ilavesi ile gerçekleştirilen fermentasyonlara ait etanol üretimi, biyokütle gelişimi ve şeker tüketimi değerlerinin farklı matematiksel modellere uygulanması	36
4.4. Fenol İlavesi ile Gerçekleştirilen Fermentasyonlar	38

4.4.1. Fenol ilavesi ile gerçekleştirilen fermentasyonlarda şeker tüketimi.....	38
4.4.2. Fenol ilavesi ile gerçekleştirilen fermentasyonlarda etanol üretimi	38
4.4.3. Fenol ilavesi ile gerçekleştirilen fermentasyonlarda biyokütle gelişimi	39
4.4.4. Farklı fenol konsantrasyonlarında gerçekleştirilen fermentasyonların kinetik parametrelerinin karşılaştırılması.....	40
4.4.5. Fenol ilavesi ile gerçekleştirilen fermentasyonlara ait etanol üretimi, biyokütle gelişimi ve şeker tüketimi değerlerinin farklı matematiksel modellere uygulanması	43
4.5. Asetik Asit İlavesi ile pH Kontrollü Gerçekleştirilen Fermentasyonlar.....	45
4.6. Asetik Asit İlavesi ile pH Kontrolsüz Gerçekleştirilen Fermentasyonlar.....	45
4.6.1. Asetik asit ilavesi ile pH kontrolsüz gerçekleştirilen fermentasyonlarda şeker tüketimi	45
4.6.2. Asetik asit ilavesi ile pH kontrolsüz gerçekleştirilen fermentasyonlarda etanol üretimi.....	46
4.6.3. Asetik asit ilavesi ile pH kontrolsüz gerçekleştirilen fermentasyonlarda biyokütle gelişimi	47
4.6.4. Farklı konsantrasyonlarda asetik asit ilavesi ile pH kontrolsüz gerçekleştirilen fermentasyonların kinetik parametrelerinin karşılaştırılması	47
4.6.5. Farklı konsantrasyonlarda asetik asit ilavesi ile pH kontrolsüz gerçekleştirilen fermentasyonlara ait etanol üretimi, biyokütle gelişimi ve şeker tüketimi değerlerinin farklı matematiksel modellere uygulanması	50
4.7. Formik Asit İlavesi ile pH Kontrollü Gerçekleştirilen Fermentasyonlar.....	52
4.8. Formik Asit İlavesi ile pH Kontrolsüz Gerçekleştirilen Fermentasyonlar.....	52
4.8.1. Formik asit ilavesi ile pH kontrolsüz gerçekleştirilen fermentasyonlarda şeker tüketimi	52

4.8.2. Formik asit ilavesi ile pH kontrolsüz gerçekleştirilen fermentasyonlarda etanol üretimi	53
4.8.3. Formik asit ilavesi ile pH kontrolsüz gerçekleştirilen fermentasyonlarda biyokütle gelişimi	54
4.8.4. Farklı konsantrasyonlarda formik asit ilavesi ile pH kontrolsüz gerçekleştirilen fermentasyonların kinetik parametrelerinin karşılaştırılması	55
4.8.5. Farklı konsantrasyonlarda formik asit ilavesi ile pH kontrolsüz gerçekleştirilen fermentasyonlara ait etanol üretimi, şeker tüketimi ve biyokütle gelişimi değerlerinin matematiksel modellere uygulanması	58
4.9. Besiyerine İnhibitörlerin Karışım (Miks) Olarak İlave Edilmesiyle Gerçekleştirilen Fermentasyonlar	60
4.9.1. Besiyerinde inhibitörlerin karışım halde bulunması ile gerçekleştirilen fermentasyonlarda şeker tüketimi	60
4.9.2. Besiyerinde inhibitörlerin karışım halde bulunması ile gerçekleştirilen fermentasyonlarda etanol üretimi	61
4.9.3. Besiyerinde inhibitörlerin karışım halinde bulunması ile gerçekleştirilen fermentasyonlarda biyokütle gelişimi	62
4.9.4. Besiyerinde inhibitörlerin karışım halinde bulunmasıyla gerçekleştirilen fermentasyonlara ait kinetik parametrelerin karşılaştırılması	63
4.9.5. Besiyerinde inhibitörlerin karışım halinde bulunmasıyla gerçekleştirilen fermentasyonlara ait etanol üretimi, şeker tüketimi ve biyokütle gelişimi değerlerinin matematiksel modellere uygulanması	67
5. SONUÇLAR	70
6. KAYNAKLAR	74
7. EKLER	78
ÖZGEÇMİŞ	

AKADEMİK BEYAN

Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum “Kalsiyum Aljinatta İmmobilize Edilmiş *Saccharomyces cerevisiae* Hücreleri ile Etanol Üretimi Üzerinde İnhibitör Maddelerin Etkisinin Belirlenmesi” adlı bu çalışmanın, akademik kurallar ve etik değerlere uygun olarak yazıldığını belirtir, bu tez çalışmasında bana ait olmayan tüm bilgilerin kaynağını gösterdiğimi beyan ederim.

25 / 06 / 2020

Selime Benemir ERKAN



SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

%	: Yüzde
ΔP	: Etanol üretimi (g/L)
ΔS	: Şeker tüketimi (g/L)
ΔX	: Biyokütle gelişimi (g/L)
$^{\circ}C$	: Santigrat derece
A_0	: Düşük asimptot (U/mL veya g/L)
A_m	: Yüksek asimptot (U/mL veya g/L)
A_t	: “t” inci zamanda tahmin edilen değerler
B	: Gelişimi kaydırma değeri
B_t	: Geçiş parametresi
d	: Birimsiz bir dizayn parametresi
e	: Euler sayısı, sabit (2.718)
G	: gram
h_0	: Hücrenin başlangıç fizyolojisini hesaplayan birimsiz bir parametre
H_t	: Geçiş parametresi
$k_{1,2,3}$	: Cevap değişkeninin potansiyel yüksek değerine yaklaşma oranı
L	: Litre
M	: Molar
mL	: Mililitre
N	: Normal
pH	: Hidrojen iyonlarının eksi logaritması
Q_p	: Spesifik üretim hızı (g/L/h)
Q_s	: Spesifik tüketim hızı (g/L/h)
Q_x	: Spesifik gelişim hızı (g/L/h)
R^2	: Belirleme katsayısı
Rpm	: devir/dakika
SUY	: Şeker tüketim oranı (%)
t	: Zaman (saat)
T_L	: $A_t = A_m/2$ olduğu nokta
TY	: Teorik etanol verimi (%)
$v_{1,2,3}$	: Şekil parametresi, birimsiz.
$Y_{p/s}$	: Etanol verimi (%)
$Y_{x/s}$	: Biyokütle verimi (%)
λ	: Gecikme süresi

Bu tez kapsamında ondalıklı sayıların ayrımı için “,” kullanılmıştır.

Kısaltmalar

AA	: Asetik asit
AF	: Kesinlik faktörü
ATCC	: Amerikan Tip Kültür Koleksiyonu
ATP	: Adenozintrifosfat
BF	: Ön yargı faktörü
D. KO	: Düzeltilmiş kareler ortalaması
D. KT	: Düzeltilmiş kareler toplamı
DNSA	: 3,5-dinitrosalisilik asit
FA	: Formik asit
HCl	: Hidroklorik asit
HMF	: Hidroksimetilfurfural
HPLC	: Yüksek performanslı sıvı kromatografisi
MAE	: Ortalama mutlak hata
MGM	: Modifiye Gompertz model
MLM	: Modifiye Lojistik model
MMF	: Morgan-Mercer Flodin
MRM	: Modifiye Richards model
NaOH	: Sodyum hidroksit
<i>P</i>	: Olasılık
RMSE	: Ortalama karesel hata
SD	: Serbestlik derecesi
SH	: Standart hata

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Lignoselülozik hücre duvarı bileşenleri ve inhibitör çeşitleri.....	5
Şekil 3.1. DNSA metodu ile şeker analizi yapılan örnekler	14
Şekil 3.2. Etanol analizinde kullanılan HPLC ve analiz edilecek vialler	14
Şekil 4.1. Fermentasyonun başlangıcında ve 48. saatinde elde edilen görüntüler	20
Şekil 4.2. Besiyerine farklı konsantrasyonlarda HMF ilavesinin şeker tüketimine etkisi	24
Şekil 4.3. Besiyerine farklı konsantrasyonlarda HMF ilavesinin etanol üretimine etkisi	25
Şekil 4.4. Besiyerine farklı konsantrasyonlarda HMF ilavesinin biyokütle gelişimine etkisi.....	26
Şekil 4.5. Furfural ilavesinin şeker tüketimine etkisi.....	31
Şekil 4.6. Furfural ilavesinin etanol üretimine etkisi	32
Şekil 4.7. Furfural ilavesinin biyokütle gelişimine etkisi	33
Şekil 4.8. Fenol ilavesinin şeker tüketimine etkisi.....	38
Şekil 4.9. Fenol ilavesinin etanol üretimine etkisi	39
Şekil 4.10. Fenol ilavesinin biyokütle gelişimine etkisi	40
Şekil 4.11. Asetik asit ilavesinin şeker tüketimine etkisi.....	46
Şekil 4.12. Asetik asit ilavesinin etanol üretimine etkisi	46
Şekil 4.13. Asetik asit ilavesinin biyokütle gelişimine etkisi	47
Şekil 4.14. Formik asit ilavesinin şeker tüketimine etkisi	53
Şekil 4.15. Formik asit ilavesinin etanol üretimine etkisi.....	54
Şekil 4.16. Formik asit ilavesinin biyokütle gelişimine etkisi	55
Şekil 4.17. İnhibitörlerin miks olarak ilavesinin şeker tüketimine etkisi.....	60
Şekil 4.18. Miks fermentasyonlarda inhibitörlerin etki düzeyini belirten Pareto Grafiği	61
Şekil 4.19. İnhibitörlerin miks olarak ilavesinin etanol üretimine etkisi	62

Şekil 4.20. İnhibitörlerin miks olarak ilavesinin biyokütle gelişimine etkisi63



ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1. Dünyadaki ilk 10 biyoetanol üretici ülke.....	3
Çizelge 3.1. İnhibitör bileşikler ve konsantrasyonları	12
Çizelge 3.2. Plackett-Burman Dizayn deneme deseni	13
Çizelge 4.1. Kontrol fermentasyonuna ait analiz sonuçları	20
Çizelge 4.2. Kontrol fermentasyonuna ait kinetik parametreler	21
Çizelge 4.3. Kontrol fermentasyonundan elde edilen verilere uygulanan matematiksel modellerin karşılaştırılması.....	23
Çizelge 4.4. HMF ilavesi ile kinetik parametrelerin değişimi	28
Çizelge 4.5. 2 g/L HMF ilavesi ile gerçekleştirilen fermentasyondan elde edilen verilere uygulanan matematiksel modellerin karşılaştırılması	30
Çizelge 4.6. Furfural ilavesi ile kinetik parametrelerin değişimi.....	35
Çizelge 4.7. 2 g/L furfural ilavesi ile gerçekleştirilen fermentasyondan elde edilen verilere uygulanan matematiksel modellerin karşılaştırılması	37
Çizelge 4.8. Fenol ilavesi ile kinetik parametrelerin değişimi.....	42
Çizelge 4.9. 0,5 g/L fenol ilavesi ile gerçekleştirilen fermentasyondan elde edilen verilere uygulanan matematiksel modellerin karşılaştırılması	44
Çizelge 4.10. Asetik asit ilavesi ile kinetik parametrelerin değişimi.....	49
Çizelge 4.11. 2,5 g/L asetik asit ilavesi ile pH kontrolsüz gerçekleştirilen fermentasyondan elde edilen verilere uygulanan matematiksel modellerin karşılaştırılması	51
Çizelge 4.12. Formik asit ilavesi ile kinetik parametrelerin değişimi	57
Çizelge 4.13. 0,5 g/L formik asit ilavesi ile pH kontrolsüz gerçekleştirilen fermentasyondan elde edilen verilere uygulanan matematiksel modellerin karşılaştırılması	59
Çizelge 4.14. Etanol üretimi için etkiler ve katsayılar	64
Çizelge 4.15. Etanol üretimi modelinde elde edilen varyans analizi	65
Çizelge 4.16. İnhibitörlerin mix olarak ilavesi ile kinetik parametrelerin değişimi	66

Çizelge 4.17. 10 no'lu deneme fermentasyonundan elde edilen verilere uygulanan matematiksel modellerin karşılaştırılması	69
---	----



1. GİRİŞ

Günümüzde, enerjinin büyük bir bölümü petrol, kömür ve doğal gaz gibi fosil yakıtlardan elde edilmektedir. Bu fosil yakıtlar dünya çapında enerji ve organik kimyasal gereksinimlerini karşılamak için kullanılmaktadır (Germec vd., 2016). Fakat dünya nüfusu ve ihtiyaçlarına paralel olarak artan enerji tüketiminden dolayı fosil yakıt miktarı giderek azalmaktadır. Ayrıca, fosil yakıtlardan salınan gazlar asit yağmurları, iklim değişikliği, sera gazı emisyonunda artış gibi çevresel problemlere de sebep olmaktadır (Adıgüzel, 2013). Bunun yanı sıra özellikle de hızla tükenen enerji kaynakları göz önüne alındığında bu durum gelişmiş ülkeleri alternatif yollar bulmaya yönlendirmiştir. Bu doğrultuda yönelen ülkelerde doğal kaynaklarla ya da ucuz ve içeriği uygun lignoselülozik hammaddeler ile etanol üretimi gerçekleştirilmektedir.

Etanol, yüksek verimlilik ve düşük çevresel etki ile yenilenebilir bir enerji kaynağıdır (Turhan vd., 2010). Başta gıda ve kimya endüstrisi olmak üzere birçok alanda kullanılan etanol, aynı zamanda araç yakıtı olarak belirli oranlarda fuel-oil ile karıştırılarak kullanılabilir. Bununla birlikte etanol, ülkemizde ve Dünya’da gıda katkı maddesi, içecek üretimi ve bilimsel çalışmalar gibi alanlarda da kullanılmaktadır (Adıgüzel, 2013). Tüm bu avantajlar doğrultusunda alternatif yenilenebilir enerji kaynağı olan etanol, fosil yakıtlara olan bağımlılığı kademeli olarak azaltmaktadır (Yatmaz vd., 2013).

Etanol üretimi için mikroorganizmaların fermente edebileceği karbon kaynağı besiyeri ortamında bulunmalıdır. Bu karbon kaynakları hem glukoz ve sakkaroz gibi saf olabilmekte hem de mısır, buğday, saman, otsu atıklar gibi lignoselülozik hammaddeler olabilmektedir. Kullanılan karbon kaynağına göre etanol üretim prosesinde değişiklik görülmektedir. Saf karbon kaynakları ile etanol üretiminde hazırlanan fermentasyon ortamı steril edildikten sonra fermentasyon başlar. Lignoselülozik karbon kaynakları ile etanol üretiminde öncelikle lignoselülozik materyallere boyult küçültme ve hidroliz gibi ön işlemler uygulanır. Burada yapılan asidik veya enzimatik hidrolizin amacı materyaldeki şekeri mikroorganizmanın fermente edebileceği forma dönüştürmektir. Hem sterilizasyon hem de hidroliz aşamalarında olumsuz şartlardan, yüksek sıcaklıktan ya da yüksek asitlikten dolayı inhibe edici yan ürünler oluşmaktadır. Bu inhibitör maddeler hem mikroorganizmaların gelişimini kısıtlamakta hem de elde edilecek etanolü azaltmaktadır. Bu olumsuz sebeplerden dolayı fermentasyon ortamında olmaları istenmemektedir. Uygun detoksifikasyon yöntemleri ile bu maddeler fermentasyon ortamından uzaklaştırılmaktadır. Bunun yanı sıra hücreleri koruyarak biyokütle gelişimini sağlayabilecek immobilizasyon metotları ile inhibitör etkilerin azaltılabileceği düşünülmektedir.

Biyoteknolojik çalışmalarda kullanılan hücrelerin yeniden kullanılabilir hale getirilmesi veya sürekli sistemlerde daha kolay kullanılabilirliğin sağlanması ve ortam inhibisyonundan az etkilenmesi için immobilizasyon tekniğine başvurulmaktadır. Immobilizasyon işlemi hücrelerin aktivitesini kaybetmeden belirlenmiş olan tutuklama materyalinde hedeflenen boşluğa tutturulması veya hapsedilmesidir (Uygun, 2006).

Bu çalışmada, kalsiyum aljinat ile immobilize edilmiş *Saccharomyces cerevisiae* hücreleri ile etanol üretimi üzerine farklı konsantrasyonlardaki inhibitör maddelerin

etkileri incelenmiştir. Lignoselülozik bileşiklerin hidrolizi esnasında açığa çıkan (lignin, selüloz ve hemiselüloz kaynaklı); hidroksimetil furfural (HMF), furfural, fenol, asetik asit ve formik asit gibi inhibitörlerin farklı konsantrasyonları ve karışımları kullanılmıştır. Fermentasyondan elde edilen veriler, şeker tüketimi, etanol üretimi ve biyokütle gelişimi açısından değerlendirilmiştir. Bunun yanında fermentasyonlar şeker tüketimi, etanol üretimi ve biyokütle gelişimi açısından farklı matematiksel modellerle analiz edilerek en uygun model seçilmiştir.



2. KAYNAK TARAMASI

2.1. Etanol

Etanol, C_2H_5OH kapalı formülüne sahip, moleküler ağırlığı 46,47 g ve kaynama noktası $78,3^{\circ}C$ olan bir üründür. Birçok olumlu etkisi sayesinde yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır. Kullanım alanlarından en önemlisi ise enerji kaynağı olabilmesidir (Yatmaz, 2012). Günümüzde, enerjinin büyük bir bölümü petrol, kömür ve doğal gaz gibi fosil yakıtlardan elde edilmektedir. Kullanılan bu fosil yakıtlar dünya çapında hem enerji hem de organik kimyasal gereksinimleri karşılamak için kullanılmaktadır (Germec vd., 2016). Fakat dünya nüfusu ve ihtiyaçlarına paralel olarak artan enerji tüketiminden dolayı fosil yakıt miktarı giderek azalmaktadır. Ayrıca, fosil yakıtlardan salınan gazlar asit yağmurları iklim değişikliği ve sera gazı emisyonunda artış gibi çevresel problemlere de sebep olmaktadır (Adıgüzel, 2013). Bu olumsuz etkilerden dolayı fosil yakıtların kullanımından olabildiğince kaçınılmalıdır. Bununla birlikte hızla tükenen enerji kaynakları göz önüne alındığında bu durum gelişmiş ülkeleri alternatif yollar bulmaya yönlendirmiştir. Bu doğrultuda yönelen ülkelerde saf kaynaklarla ya da ucuz ve içeriği uygun lignoselülozik hammaddeler ile etanol üretimi gerçekleştirilmektedir.

Etanol, yüksek verimlilik ve düşük çevresel etki ile yenilenebilir bir enerji kaynağıdır (Turhan vd., 2010). Başta gıda ve kimya endüstrisi olmak üzere birçok alanda kullanılan etanol, aynı zamanda araç yakıtı olarak belirli oranlarda fuel-oil ile karıştırılarak kullanılabilir. Bununla birlikte etanol, ülkemizde ve Dünya’da gıda katkı maddesi, içecek üretimi ve bilimsel çalışmalar gibi alanlarda da kullanılmaktadır (Adıgüzel, 2013). Tüm bu avantajlar doğrultusunda alternatif yenilenebilir enerji kaynağı olan etanol, fosil yakıtlara olan bağımlılığı kademeli olarak azaltmaktadır (Yatmaz vd., 2013). Dünyadaki etanol üretimi 1975’ten günümüze kadar bir artış halindedir (Melikoğlu ve Albostan, 2011). Dünyadaki ilk 10 biyoetanol üretici ülkelerin üretim kapasiteleri Çizelge 2.1’de gösterilmektedir (Melikoğlu ve Albostan, 2011).

Çizelge 2.1. Dünyadaki ilk 10 biyoetanol üretici ülke

Ülke	Yıllık Biyoetanol Üretimi, Milyon litre	Dünyadaki Üretim İçerisindeki %
ABD	24600	49,6
Brezilya	19000	38,3
Avrupa Birliği	2159	4,4
Çin	1840	3,7
Kanada	800	1,6
Tayland	300	0,6
Kolombiya	284	0,6
Hindistan	200	0,4
Avusturalya	100	0,2
Türkiye	60	0,1
Dünya Geneli	49595	100

2.2. Etanol Üretici Mikroorganizmalar

Etanol üretiminde maya grupları başta olmak üzere birçok mikroorganizma türü bulunmaktadır. Bu mikroorganizmaların fermente edebildikleri karbon kaynakları ve çalışabildikleri fermentasyon şartları farklılık göstermektedir. Örneğin, *Schizosaccharomyces pombe* şusu 30-35°C'de çalışmaktadır. Bu suş ortamda bulunan glukozu, fruktozu, maltozu ve sakkarozu fermente ederek etanol üretmektedir (Bullock, 2002; Goye ve Bolanos, 2005). Başka bir suş olan *Kluyveromyces marxianus* türü 40-45°C'de ortamda bulunan glukozu kullanarak etanol üretmektedir (Kadar vd., 2004). *Candida shehatae* şusu ise 20-31°C'de ortamdaki glukoz ve ksilozu kullanarak etanol üretebilmektedir (Olsson ve Hahn-Hagerdal, 1996). Yaygın olarak kullanılan *Pichia stipitis* suşu ise 26-35°C'de glukoz ve ksilozu fermente ederek etanol üretmektedir (Olsson ve Hahn-Hagerdal, 1996). Yaygın olarak kullanılan bir diğer tür *Zymomonas mobilis* ise 30°C'de aktif olarak çalışabilmekte ve ortamdaki glukozu, fruktozu, sakkarozu fermente edebilmektedir (Claassen vd., 1999). *Saccharomyces cerevisiae* suşları ise 30-37°C aralığında çalışıp ortamdaki glukozu, fruktozu, maltozu, sakkarozu kullanabilen bir türdür. Diğer türler içinde en çok tercih edilen mikroorganizmadır. Çünkü *Saccharomyces cerevisiae* kullanılarak gerçekleştirilen etanol üretiminde elde edilen ürün verimi daha fazla olmaktadır. Bunun yanı sıra hem 6 karbonlu basit şekerlerden olan glukozu hem de bir disakkarit olan sakkarozu etanole dönüştürebilmektedir. Aynı zamanda GRAS (The Generally Recognized as Safe, Genel Olarak Güvenli Kabul Edilir) statüsünde olup U.S. FDA (Birleşmiş Milletler Gıda ve İlaç İdaresi) tarafından desteklendiği için güvenle kullanılabilir (Claassen vd., 1999).

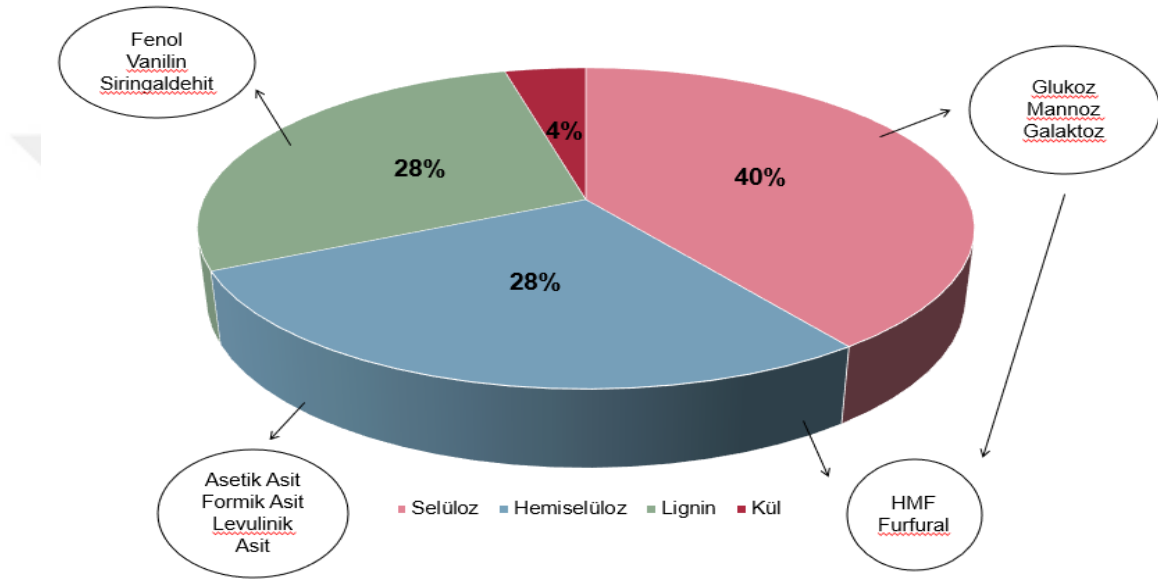
2.3. İnhibitör Maddeler

Etanol üretimi hem glukoz, sakkaroz gibi saf karbon kaynakları kullanılarak hem de içeriği uygun mısır, buğday, saman, otsu atıklar gibi lignoselülozik hammaddeler kullanılarak gerçekleştirilebilmektedir. Bunun yanı sıra peynir altı suyu ve diğer süt ürünleri atıkları deproteinasyon işleminden sonra fermentasyon ortamında kullanılabilir. Nişasta içeren tahıllar, kökler, yumrular gibi ürünler jelatinizasyon ve sakkarifikasyon işlemlerinden sonra, şeker kamışı ve şeker pancarı gibi şekerli ürünler ise ekstraksiyon işleminden sonra karbon kaynağı olarak kullanılabilir (Higton vd., 2015). Saf karbon kaynaklarından etanol üretimi fermentasyon ve distilasyon aşamalarından oluşurken lignoselülozik materyallerden etanol üretimi mekanik boyut küçültme ve delignifikasyon gibi ön-işlemler, asidik veya enzimatik hidroliz, fermentasyon ve distilasyon veya azeotropik distilasyon olmak üzere genellikle dört basamakta gerçekleştirilir. Distilasyon ile %95,6 (v/v) oranında, azeotropik distilasyon ile %99,8 (v/v) oranında etanol elde edilir (Higton vd., 2005). Her bir basamakta uygulanacak yöntemler hammaddenin ve öncesi ile sonrasında uygulanacak yöntemlerin ihtiyaçlarına göre değişkenlik göstermektedir (Adıgüzel, 2013). Bu işlemler sırasında ortam için olumsuz etki gösterebilecek inhibitör maddeler oluşmaktadır. İnhibitör maddeler substrat kaynaklı, hidroliz kaynaklı ve fermentasyon kaynaklı olmak üzere 3 farklı şekilde oluşabilmektedir.

Substrat kaynaklı inhibitör maddelere yüksek alkoller, furfural, HMF, aldehit, karboksilik asitler, organik ve mineral asit tuzları örnek verilebilmektedir. Bu maddelerin oluşumu substrat çeşidine göre farklılık göstermektedir. Örneğin; substrat olarak

keçiboynuzu kullanılarak gerçekleştirilen bir fermentasyonda substrat kaynaklı olarak yüksek alkoller, furfural ve HMF oluşumu gözlenmektedir (Jönsson vd., 2016).

Hidroliz kaynaklı inhibitör maddelerin oluşumunu; olumsuz hidroliz şartları, ortamdaki asitlik ve yüksek sıcaklık gibi 3 ana unsur etkilemektedir. Lignoselülozik hidrolizatlardan oluşan inhibitörler lignin, hemiselüloz ve selüloz kaynaklı oluşmaktadır. Bir lignoselülozik hammadde içerisinde %28 oranında lignin, %28 oranında hemiselüloz ve %40 oranında selüloz bulunmaktadır (Şekil 2.1). Oluşan inhibitör maddeler yaygın olarak hemiselülozdan oluşan zayıf asitler (asetik asit, formik asit, levulinik asit), furanlar (furfural, HMF) ve ligninden oluşan fenoller (vanilin, fenol, siringaldehit) olmak üzere 3 başlık altında incelenmektedir (Jönsson vd., 2016).



Şekil 2.1. Lignoselülozik hücre duvarı bileşenleri ve inhibitör çeşitleri

Fermentasyon ortamında oluşan inhibitör maddeler yan ürün ve ürün olarak ortamda serbest hale gelmektedir. Yan ürün olarak ortamda oluşabilecek asetik asit ve ürün olarak elde edilen etanol, laktik asit gibi maddeler ortamda inhibe edici özellik gösterebilmektedirler. Bu maddeler ayrıca ortamdaki hücrelerin biyokütle gelişimini de sınırlamaktadır. Aynı zamanda etanol üretimini azaltarak elde edilecek verimi olumsuz yönde etkilemektedir. Asetik asit, formik asit ve levulinik asit hidrolizatlar içerisinde en bol bulunan asitlerdendir. Asetik asit, hemiselülozların de-asetilasyonu ile oluşur ve sadece hidrolizde değil aynı zamanda fermentasyon prosesinde de oluşabilecek bir yan üründür. Formik ve levulinik asitler ise HMF yıkımının ürünleridir. Formik asit ek olarak yükseltilmiş sıcaklıklarda asidik koşullar altında furfuraldan oluşabilmektedir. Furan bileşikler olan HMF ve furfural, sırasıyla heksoz ve pentozların dehidrasyonu ile oluşmaktadır. Furanların seviyeleri hammadde ve ön işlem türüne göre değişmektedir. Furfural genellikle HMF'den daha düşük seviyelerde bulunmasına rağmen çoğu zaman daha etkili bir inhibitördür. Fenolik bileşiklerin birçoğu seyreltik asit hidrolizatları arasında bulunmaktadır. Bunlar, hidroliz esnasında ligninin parçalanmasıyla ya da şeker yıkımının sonucunda oluşan ürünlerdir (Jönsson vd., 2016).

Furanların etkileri kullanılan furan konsantrasyonuna ve mikroorganizmaya bağlı olarak farklılık gösterebilmektedir. Yapılan ölçümlerde HMF ve furfuralın doğrudan alkol dehidrogenazı, pirüvat dehidrogenazı ve aldehit dehidrogenazı inhibe ettiği görülmüştür. Furfural varlığında gelişmiş hücrelerden elde edilen hücre özlerinde alkol dehidrogenaz ve glikolitik aktivitenin azaldığı gözlemlenmiştir (Almeida vd., 2007). Ortamda furfural varlığı vakuol, mitokondriyal membran, kromatin ve aktin hasarına neden olmaktadır. HMF ve furfural, verimi ve üretkenliği azaltıp hücre gelişimini engellerken aynı zamanda daha uzun bir gecikme fazı da oluşturabilmektedir (Klinke vd., 2004).

Zayıf asitlerin hücreleri engelleyici etkisi, ayrılma ve hücre içi anyon birikiminden kaynaklanmaktadır. Zayıf asitlerin ayrışmamış formu plazma membranı boyunca fermentasyon ortamından yayılabilir ve hücre içi yüksek pH'ya bağlı olarak ayrışabilir. Böylece ortam pH'ında azalma meydana gelir. Hücre içi pH'daki azalma, ATP hidrolizi ile hücrenin protonlarını pompalayan plazma membranı ATPaz ile dengelenir. Bunun sonucunda biyokütle oluşumu için gerekli ATP miktarı azalır ve gelişim yavaşlar (Almeida vd., 2007). Aynı zamanda hücre duvarında iyon yükünü değiştirirler, hücre zarının zarar görmesine neden olurlar ve hücredeki enzimleri denatüre ederler (Almeida vd., 2007).

Fenolik bileşikler, hücre zarı üzerinde etki göstererek bütünlük kaybına neden olurlar. Bu durum hücre zarının seçici bariyerler ve enzim matrisleri olarak görev yapma kabiliyetini olumsuz etkilemektedir (Klinke vd., 2004). Zayıf asidik fenolik bileşikler, protonları mitokondriyal membranlara geri taşıyarak elektrokimyasal gradyanı tahrip edebilirler (Almeida vd., 2007). Tüm bunların yanı sıra, mikroorganizmalar üzerinde fenolik bileşiklerin inhibisyon mekanizmaları, büyük ölçüde grubun heterojenliğinden ve doğru niteliksel-niceliksel analizlerin olmayışından dolayı henüz tam olarak açıklanamamaktadır (Klinke vd., 2004).

Tüm bu nedenlerle de fermentasyon besiyerindeki substrat kaynaklı inhibitör bileşiklerin konsantrasyonları gelişimi engelleyecek düzeyde ise ortamdan uzaklaştırılmaları gerekmektedir. Bundan dolayı uygun detoksifikasyon yöntemleri ile inhibitör maddelerin ortamdan uzaklaştırılması gerekmektedir. Aynı şekilde uygun immobilizasyon yöntemleri ile de hücreler üzerindeki inhibisyonun azaltılması amaçlanarak da fermentasyonların daha verimli gerçekleşeceği düşünülmektedir. Yine bunun yanında ortamda hücre konsantrasyonunun artırılması, biyofilm biyoreaktör vb. fermentasyon stratejileri uygulanarak inhibisyon etkisinin azaltılmasına yönelik çalışmaların yapılabilmesi düşünülmektedir.

2.4. İmmobilizasyon

Biyoteknolojik çalışmalarda kullanılan hücrelerin yeniden kullanılabilir hale getirilmesi veya sürekli sistemde daha kolay kullanılabilirliğinin sağlanması ve ortam inhibisyonundan az etkilenmesi için immobilizasyon tekniğine başvurulmaktadır. İmmobilizasyon işlemi hücrelerin aktivitesini kaybetmeden belirlenmiş olan tutuklama materyalinde hedeflenen boşluğa tutturulması veya hapsedilmesidir (Uygun, 2006). Bu işlem enzimlere, hücresel organellere, mikrobiyel hücrelere ve diğer tüm biyokatalizörlere uygulanabilmektedir. Bazı durumlarda, biyokatalizörler çözünmeyen

destek (taşıyıcı) materyaline fiziksel veya kimyasal bağlarla bağlanırken, diğer durumlarda ise destek materyalindeki boşluklarda serbest halde hapsedilmektedir. İmmobilizasyon işleminin avantajları;

- Biyolojik dayanıklılığını arttırmak,
- Yüksek hücre konsantrasyonunda çalışma imkânı sağlamak,
- Kütle transferini geliştirmek,
- Ürün verimini yükseltmek,
- Ürün dayanımını arttırmak,
- Ürünün ortamdan ayrılmasını kolaylaştırmak,
- Reaksiyon seçiciliğini arttırmak,
- Hücre yakınlığı sağlamak,
- Biyoreaktör seçiminde alternatifler sağlamak olarak sıralanabilmektedir (Yatmaz, 2012).

Gill vd. (2006) tarafından yapılan çalışmada *Aspergillus niger* SIIM M276 ile mısır kütlesi kullanılarak glukonik asit fermentasyonu gerçekleştirilmiştir. *Aspergillus niger* SIIM M276'nın hücre büyümesi, glukonik asit üretkenliği ve glukonik oksidaz aktivitesi üzerine inhibitör toleransı belirlenmiştir. Bu çalışmada inhibitör bileşik olarak seyreltik asit ön muamelesinden elde edilen dokuz inhibitör bileşen (furfural, HMF, formik asit, asetik asit, levulinik asit, vanilin, siringaldehit, 4-hidroksibenzaldehit ve koniferilaldehit) kullanılmıştır. Furfural, *A. niger* SIIM M276'nın glikozik asit fermentasyonu üzerindeki en toksik inhibisyonu göstermiştir. Diğer taraftan, bir başka furan türevi HMF, *A. niger* SIIM M276 üzerinde daha az toksik inhibisyon göstermiştir. Formik asit düşük konsantrasyon aralığında komplike bir etki gösterirken artan konsantrasyonlarda inhibe edici etki göstermiştir. *A. niger* SIIM M276'nın fermentasyonu, artan asetik asit ve levulinik asit konsantrasyonları ile azalmış, ancak 10 g/L asetik asit ve levulinik aside kadar hücre büyümesi, glikonik asit üretkenliği ve glukoz oksidaz aktivitesini korumuştur. Fenolik inhibitörler için, koniferaldehit, *A. niger* SIIM M276'nın fermentasyonu üzerinde en güçlü inhibisyonu göstermiştir.

Singh vd. (2007) tarafından yapılan çalışmada *Kluyveromyces marxianus* YS-1'den immobilize ekzoinülinaz kullanılarak yüksek fruktoz şurubu üretimi üzerinde çalışılmıştır. Bu çalışmada ek olarak metal iyonlarının immobilize enzim sistemi üzerindeki etkisi farklı konsantrasyonlarda farklı iyonlar (Mg^{+2} , Fe^{+2} , Ca^{+2} , Mn^{+2} , Zn^{+2} , Cu^{+2} , Co^{+2} , Ba^{+2} , Hg^{+2} , Ag^{+2}) kullanılarak incelenmiştir. Enzim aktivitesindeki maksimum artış metal iyonlarının eklenmediği kontrole kıyasla Mn^{+2} (5,0mM) ve Co^{+2} (2,5mM) ilavesi ile gözlemlenmiştir. Bu metal iyonlarını, aktiviteyi 1,3 kat arttıran Ca^{+2} (10mM) izlemiştir. Hg^{+2} ve Ag^{+2} kullanılan en düşük 1mM konsantrasyonda bile immobilize inülinazın güçlü inhibitörleri olarak bulunmuştur. Zn^{+2} , Fe^{+2} ve EDTA immobilize enzimin başlangıç aktivitesini sırasıyla %35, %20 ve %49'una inhibe ettiği görülmüştür.

Alriksson vd. (2009) tarafından yapılan çalışmada rekombinant *Aspergillus* D15 ile endoglukanaz üretimi için fermentasyon denemeleri yapılmıştır. Bu denemelerden biri mikroorganizmanın lignoselülozik hidrolizatta şeker olmayan bileşikleri metabolize edip edemeyeceğini görmek için tasarlanmıştır. Fermentasyon ortamına inhibitör bileşikler eklenerek aktivite üzerine etkileri incelenmiştir. İnhibitör bileşik olarak asetik asit (5 g/L),

furfural (1 g/L), HMF (2 g/L), vanilin (0,5 g/L), koniferil aldehit (0,2 g/L) kullanılmıştır. Bir erlenmayerde standart bileşim ile hazırlanıp kontrol olarak kullanılmıştır. Standart besiyeri bileşimi ile yapılan fermentasyonda 590 ± 4 nkat/mL aktivite gözlemlenmiştir. İnhibitör maddeler eklenerek gerçekleştirilen fermentasyon denemelerinde ise aktivite sırasıyla 1200 nkat/mL, 340 ± 33 nkat/mL, 500 ± 20 nkat/mL, 840 ± 79 nkat/mL ve 670 ± 2 nkat/mL olarak bulunmuştur. Sonuçlara bakıldığında asetik asit, vanilin ve koniferil aldehitin endoglukanaz aktivitesini arttırdığı görülürken furfural ve HMF'nin fermentasyonu inhibe edici etkisi olduğu gözlemlenmiştir.

Chen vd. (2009) tarafından yayımlanan makalede Ag^+ , Mn^{+2} , Zn^{+2} , K^+ , Cu^{+2} , Li^{+2} , Ca^{+2} , Fe^{+2} , Al^{+3} gibi metal iyonların *Aspergillus ficuum* JNSP5-06 ile üretilen inulinaz enzimi üzerine etkisi araştırılmıştır. Bahsedilen çalışmada Ag^2 , Fe^{+2} , Al^{+3} nin inulinaz aktivitesini yüksek oranda inhibe ettiği görülmüştür. Cu^{+2} iyonunun inulinaz aktivitesi üzerine kısmen bir etkisi olduğu, Mn^{+2} ve Zn^{+2} nin düşük oranda etkisi gözlemlenmiştir. Bunun yanı sıra K^+ , Ca^{+2} , Li^{+2} ve EDTA'nın inulinaz aktivitesi üzerinde önemli bir etki yapmadığı belirlenmiştir.

Landaeta vd. (2013) tarafından yapılan bir çalışmada suspended *Saccharomyces cerevisiae* suşunun ortama adaptasyonu ile inhibitör maddelere olan direnci araştırılmıştır. Çalışmada inhibitör madde olarak asetik asit, furfural, HMF, vanilin siringaldehit ve hidroksibenzoik asit kullanılmıştır. Asetik asit 0,9-4,5 g/L, furfural 0,2-1 g/L, HMF 0,04-0,2 g/L, vanilin 0,08-0,4 g/L, siringaldehit 0,02-0,1 g/L ve hidroksibenzoik asit 0,02-0,1 g/L arası konsantrasyonlarda fermentasyon ortamına eklenmiştir. Bu inhibitör maddelerin, farklı inhibisyon mekanizmalarına bağlı olarak hücrel metabolizma üzerinde farklı etkiler gösterdiği saptanmıştır. Çalışma sonucunda adapte edilmiş suşun normale göre etanol üretkenliğinin ve büyüme oranının daha fazla olduğu görülmüştür. Aynı zamanda adapte edilmiş suşun furfural, HMF ve siringaldehit tarafından gösterilen inhibe edici etkiye daha dayanıklı olduğu gözlemlenmiştir.

Jönsson vd. (2016) tarafından gerçekleştirilen bir araştırmada Larsson vd. (1999)'nin karbon kaynağı olarak Norveç ladini kullanarak *Saccharomyces cerevisiae* ile gerçekleştirdikleri fermentasyonda asetik asit, formik asit ve levulinik asidin inhibe edici etkilerini inceledikleri belirtilmiştir. Elde edilen veriler doğrultusunda inhibe edici etkileri gözlemlmek için inhibitör maddelerin yaklaşık 100 mM'lık konsantrasyonlarda fermentasyon ortamına eklenmesi gerektiğini belirtmişlerdir. Yine aynı makalede Larsson vd. (2000)'nin yaptığı başka bir çalışmada inhibitör madde olarak ferulik asit, asetik asit, formik asit ve levulinik asidin kullanıldığı belirtilmiştir. Çalışma sonucunda ferulik asidin 0.20 g/L (1 mM)'de inhibe edici etkisinin diğer asitlerin etkisine kıyasla 2 derece daha düşük konsantrasyonlarda etkili olduğu belirtilmiştir.

Abud vd. (2017) tarafından yapılan çalışmada şeker kamışı hammaddesi kullanılarak *Pichia stipitis* ile gerçekleştirilen fermentasyonda inhibitör maddelerin etkileri araştırılmıştır. Çalışmada inhibitör olarak asetik asit, furfural, HMF kullanılıp farklı konsantrasyonlarda fermentasyon ortamına eklenmiş olup 11 farklı deneme gerçekleştirilmiştir. Deneysel sonuçlarda asetik asit konsantrasyonunun en düşük seviyede bile (0.25 g/L) önemli bir inhibitör etki gösterdiği, bu etkinin HMF ve furfuralın gösterdiği inhibe edici etkiden daha fazla olduğu belirtilmiştir. Buna ek olarak HMF ve furfural etkisinin 0,750 ve 2,250 g/L ye kadar önemsiz olduğu görülmüştür.

Li vd. (2017) tarafından yapılan bir çalışmada saf karbon kaynağı glukoz ile *Saccharomyces cerevisiae* kullanılarak yapılan fermentasyonda inhibitör madde olarak formik asit, asetik asit, levulinik asit, furfural, HMF, siringaldehit, vanilin ve fenol seçilmiştir. Fermentasyon ortamına eklenecek konsantrasyonlar formik asit, asetik asit ve levulinik asit için 40, 80, 120, 160 mM, furfural, HMF, siringaldehit, vanilin ve fenol için 5, 10, 20, 30 mM olarak belirlenmiştir. Etanol fermentasyonu üzerine inhibitör etkiyi belirlemek için 23,31 mM asetik asit, 8,69 mM formik asit, 5,21 mM levulinik asit, 6,24 mM furfural, 4,76 mM HMF, 0,22 mM siringaldehit, 0,26 mM vanilin ve 0,07 mM fenol karıştırılıp fermentasyon ortamına eklenmiştir. Bu çalışma sonucunda inhibitör maddelerin fermentasyon üzerindeki etkisi en güçlüden en zayıfa doğru vanilin>fenol>siringaldehit>HMF>furfural>levulinik asit>asetik asit>formik asit şeklinde bulunmuştur.

Narayanan vd. (2017) tarafından gerçekleştirilen çalışmada farklı fizyolojik durumlardaki maya hücresi popülasyonlarının, düşük pH da asetik asit, vanilin ve furfural kombinasyonlarına tepkileri incelenmiştir. Bu çalışmada asetik asit, vanilin ve furfuralın farklı konsantrasyonlarda 15 durumda denemeleri gerçekleştirilmiştir. Asetik asit miktarı 1 g/L ile 7,70 g/L, furfural (g/L) 0,50 ile 1,84, vanilin (g/L) 0,50 ile 1,84 arasında değişen konsantrasyonlar kullanılmıştır. Bu inhibitör maddelerin etanol verimi üzerinde etkisinin oldukça önemli olduğu gözlemlenmiştir.

Rawat vd. (2017) tarafından yapılan çalışmada yeni izole edilmiş bir *Aspergillus niger* NFCCI 3879 ile karahindiba kökü kullanılarak serbest ve immobilize inülinaz üretimi gerçekleştirilmiş ve optimizasyon yapılmıştır. Çalışmada ek olarak metal iyonlarının ve bazı inhibitör bileşiklerin enzim aktivitesi üzerine etkisi incelenmiştir. 2mM'lık $MgSO_4$, $ZnSO_4$, $BaCl_2$, $MnCl_2$, $CaCl_2$, $CuCl_2$, $FeCl_3$ ve $HgCl_2$ solüsyonları fermentasyon ortamına eklenmiştir. İnhibitör bileşik olarak (2mM) fenilmetilsülfonil florür (PMSF), etilen diamin tetra asetik asit (EDTA) ve para kloramercuribenzoik asit (pCMB) kullanılmıştır. Bu çalışmada EDTA, PMSF, pCMB ve Hg^{+2} nin serbest ve immobilize inülinazın inülinaz aktivitesi üzerinde güçlü bir şekilde inhibe edici etkisi olduğu görülmüştür. Bunun yanı sıra Mn^{+2} nin enzim aktivitesini arttırdığı bildirilmiştir.

Hou vd. (2018) yapılan çalışmada pirinç kavuzu hammaddesi kullanılarak *Saccharomyces cerevisiae* ile gerçekleştirilen fermentasyonda fenolik inhibitörlerin etkileri ve toksisiteleri araştırılmıştır. Çalışmada fenolik inhibitör olarak ferulik asit, asetovanil, vanilin, 4-hidroksiasetofenon, sinapik asit, 4-sinamik asit, 4-hidroksibenzoik asit ve salisilik asit seçilmiştir. Seçilen inhibitörlerden 0,3, 0,6, 0,9, 1,2, 1,5, 1,8, 2,1 ve 2,4 mM konsantrasyonlarda fermentasyon ortamına eklenmiştir. Çalışma sonunda; ferulik asit, sinapik asit ve 4-sinamik asitin en güçlü toksisiteye neden olduğu ve bununla birlikte vanililalkol ve koniferil alkolün çok az düzeylerde toksik etki yarattığı görülmüştür. Aynı zamanda bu çalışmada inhibitörlerin moleküler yapısının toksisite etkisinde önemli bir rol oynadığı ve bileşiklerdeki orto pozisyonunun para ve meta pozisyonuna göre daha fazla toksik etki gösterdiği saptanmıştır.

Gıda mikrobiyolojisinde modeller matematiksel ifadeler olup gıda kaynaklı bir mikroorganizmanın üremesi, hayatta kalması ve inaktivasyonunu tanımlamaktadır. Matematiksel modeller birincil ve ikincil modeller olmak üzere 2 sınıfa ayrılmaktadır. Birincil modeller (Gompertz, Lojistik, Richards, Schunte, Stannard,

Baranyi vb.) normal olarak ortam parametrelerini içermezler. Esas olarak zamana bağlı mikroorganizma sayısında değişim gösterirler. İkinci modeller (Arrhenius, Karekök, Tepki yüzey modeli vb.) ise esas olarak birincil modellerden elde edilen çoğalma veya inaktivasyon parametreleri (k , D , μ vb.) üzerine ortam faktörlerinin (sıcaklık, pH, a_w , atmosfer bileşenleri, inhibitörler vb.) etkisinin ortaya konduğu veya ifade edildiği modellerdir (Oğuzhan ve Yangılar, 2013).

Literatürde farklı mikroorganizmaların gelişimi ve ürettikleri ürünler üzerine farklı inhibitör bileşiklerin etkisini gösteren çalışmalar bulunmaktadır. Bu çalışmalarda fermentasyon ortamında serbest hücreler kullanılmıştır. Ancak hücrelerin immobilizasyonu ile inhibitör bileşiklere dayanıklılığının artırılmaya çalışıldığı bir araştırma literatürde bulunmamaktadır. Bu nedenle söz konusu alanda eksikler olduğundan, bu çalışmada *Saccharomyces cerevisiae* hücreleri kalsiyum aljinat ile immobilize edilmiştir. Sonrasında inhibitör maddelerin çeşitlerinin ve konsantrasyonlarının, hücrelerin gelişimi ve etanol üretimi üzerine etkileri belirlenmiştir. Ayrıca elde edilen veriler ile şeker tüketimi (g/L), biyokütle gelişimi (g/L), etanol miktarı (g/L), verim (%), maksimum tüketim oranı (g/L/saat), maksimum üretim oranı (g/L/saat) ve spesifik gelişim oranı (1/saat) gibi kinetik parametreler hesaplanmıştır. Tüm sonuçlar farklı matematiksel modellerle tanımlanarak en iyi hücre gelişimi, en yüksek etanol üretimi ve şeker tüketimi açısından en uygun model belirlenmiştir.

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Materyal

Çalışmada saf karbon kaynağı olarak glukoz (Sigma-Aldrich, France, Lot.SZBF0140V) kullanılmıştır. Fermentasyon ortamına HMF (abcr GmbH, Germany, Lot.1222814), furfural (Sigma-Aldrich, St. Louis, USA, Lot.SHBJ4422), fenol (Sigma-Aldrich, St. Louis, USA, Lot.SZBA1870V), asetik asit (Sigma-Aldrich, St. Louis, USA, Lot.SZBF1200V) ve formik asit (Merck KGaA, Darmstadt, Germany, Lot.1.00264.2500) bileşikleri inhibitör madde olarak farklı konsantrasyonlarda eklenmiştir.

3.2. Fermentasyonda Kullanılan Mikroorganizma

Fermentasyon işlemlerinde Amerikan Tip Kültür Koleksiyonu'ndan (Monnos, VA) temin edilen *Saccharomyces cerevisiae* (ATCC 36858) mikroorganizması kullanılmıştır. Mikroorganizma, 50 g/L glukoz, 6 g/L yeast ekstrakt, 4 g/L $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 1,5 KH_2PO_4 , 1 g/L $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ve 0,3 g/L $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ içeren besiyeri ortamında geliştirilmiştir (Turhan vd., 2010). Mikroorganizma, etüvde 30 °C'de 48 saat inkübe edildikten sonra +4 °C'de stok kültür formunda muhafaza edilmiştir. Fermentasyon ortamı için ise mikroorganizmanın 30 °C ve 150 rpm'de 24 saat boyunca çalkalamalı inkübatörde ön kültür formunda gelişimi sağlanmıştır. Stok kültürler her ay yenilenerek muhafaza edilmiştir. Uzun süreli kullanılmama durumunda ise %20'lik gliserol içerisinde -80 °C'de saklanmıştır (Turhan vd., 2010).

3.3. İmmobilizasyon

İmmobilizasyon işlemi öncesinde kullanılacak olan %2'lik kalsiyum aljinat çözeltisi, %0,85'lik NaCl çözeltisi, 0,1 M ve 0,05 M'lık $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ çözeltileri hazırlanıp, 121 °C'de 15 dk sterilize edildikten sonra soğutulmuştur. Kullanıma hazır hale gelen çözeltiler ile immobilizasyon işlemi gerçekleştirilmiştir. Öncelikle 150 mL'lik erlenlerde geliştirilmiş olan ön kültür formu 50 mL'lik santrifüj tüplerine eşit miktarda doldurularak 3800 x g ve 4 °C'de 20 dk santrifüj (VWR Mega Star 3.0R, Almanya) edilmiştir. Santrifüj sonrası üstte kalan süpernatant olarak adlandırılan berrak sıvı kısım süzölmüştür. Tüplerin dibinde kalan mikroorganizmalara steril kabinde 20 mL kalsiyum aljinat çözeltisi eklenmiş ve homojen hale gelene kadar karıştırma işlemi gerçekleştirilmiştir. Aynı zamanda 0,1 M'lık $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ çözeltisi 1 L'lik behere boşaltılmıştır. Homojen hale gelen kalsiyum aljinat-mikroorganizma karışımı şırınga (3P 21G 0,80-38 mm) yardımı ile behere alınmış olan 0,1 M'lık $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ çözeltisine damlatılıp immobilize hücrelerin oluşumu sağlanmıştır. Hücrelerin oluşum aşamasından sonra çözelti süzölmüş ve behere 0,05 M'lık $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ilave edilerek 12 saat bekletilmiştir. Son aşama olarak çözeltisi süzölen hücreler 3 defa %0,85'lik NaCl çözeltisi ile yıkanarak fermentasyona hazır hale getirilmiştir. Ardından yıkanmış hücreler, fermentasyon ortamı hazır olan biyoreaktöre aktarılmıştır (Yatmaz vd., 2013; Lee vd., 2011; Razmovski ve Vucurovic, 2011).

3.4. Kontrol Fermentasyonu ve İnhibitör Konsantrasyonları

Etanol üretiminde tüm fermentasyon denemeleri 2 L'lik biyoreaktörlerde (Sartorius Biostat B Plus Biyoreaktör, Almanya) 1.5 L hacminde gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla laboratuvar tipi; pH, sıcaklık, oksijen ve köpük kontrolü yapabilen, karıştırma özelliğine sahip biyoreaktör kullanılmıştır. Biyoreaktör, uygun besiyeri ile doldurulduktan sonra (3.2'deki besiyeri bileşimi) 121 °C'de 15 dk boyunca otoklavda sterilize edilmiştir. pH ayarlaması 4 N NaOH ile gerçekleştirilmiştir. Fermentasyonlarda, sıcaklık 30°C ve karıştırma hızı 150 rpm'de sabit tutulmuştur. Tüm kontrol fermentasyonları herhangi bir inhibitör eklenmeden iki tekerrürlü olarak 50 g/L glukoz, 6 g/L yeast ekstrakt, 4 g/L (NH₄)₂SO₄, 1,5 KH₂PO₄, 1 g/L MgSO₄.7H₂O ve 0,3 g/L CaCl₂.2H₂O içeren besiyeri ortamında gerçekleştirilmiştir. İnhibitör maddeler katı veya sıvı formda olmak üzere konsantrasyonları literatür taraması ile belirlenip fermentasyon ortamına direkt eklenip diğer bileşenler ile homojen karışımı sağlanmıştır (Alriksson vd., 2009; Li vd., 2017; Abud vd., 2017; Lin vd., 2015). Belirlenen inhibitör maddelerin konsantrasyonları Çizelge 3.1'de verilmiştir.

Tüm fermentasyon denemeleri en az 2 tekerrürlü olarak 48 saat sürmüş olup, bu denemelerden başlangıç ve 0. saat örneklerine ek olarak 2, 4, 8, 11, 14, 24, 30, 36 ve 48. saatlerde örnekler alınmıştır. Örnekler analiz edilene kadar +4 °C'de muhafaza edilmiştir.

Çizelge 3.1. İnhibitör bileşikler ve konsantrasyonları

İnhibitör Madde	İnhibitör Konsantrasyonu (g/L)
HMF	2-4-6-8-10
Furfural	0,1-0,5-2-4-6-8-10
Fenol	0,5-1-5-7-9
Asetik Asit	2,5-5-7,5-10-12,5
Formik Asit	0,5-1-1,5-2-2,5

3.5. Deneme Deseni

Çalışmada öncelikli olarak inhibitör eklenmeden yapılan kontrol fermentasyonları gerçekleştirilmiştir. Kontrol fermentasyonlarını takiben seçilen 5 farklı inhibitör fermentasyon ortamına ayrı ayrı eklenmiştir. Gerçekleştirilen fermentasyonlar sonrasında maya hücrelerinin her bir inhibitöre karşı maksimum tolerans miktarı belirlenmiştir. Bu tolerans aralıkları ile Plackett-Burman Dizayn tasarımında kullanılacak minimum ve maksimum noktalar belirlenmiştir. Bu noktalar ile bir deneme deseni oluşturulmuş ve tüm inhibitörlerin bir arada kullanıldığı miks fermentasyonlar gerçekleştirilmiştir. Burada temel amaç ligneselülozik vb. bileşiklerin ekstraksiyon-hidroliz gibi ön işlemlerden geçtikten sonra birden fazla inhibitör içereceğinin göz önünde bulundurulmasıdır. Elde edilen deneme deseni Çizelge 3.2'de verilmiştir.

Çizelge 3.2. Plackett-Burman Dizayn deneme deseni

Deneme No.	HMF (g/L)	Furfural (g/L)	Fenol (g/L)	Asetik Asit (g/L)	Formik Asit (g/L)
1	2	4	0,500	1,250	0,500
2	4	2	0,250	1,250	0,500
3	3	3	0,375	1,875	0,375
4	3	3	0,375	1,875	0,375
5	4	4	0,250	2,500	0,500
6	4	2	0,500	2,500	0,250
7	2	2	0,250	1,250	0,250
8	2	4	0,250	2,500	0,250
9	4	4	0,500	1,250	0,250
10	2	2	0,500	2,500	0,500

3.6. Analiz Metotları

3.6.1. DNSA metodu ile toplam şeker analizi (miller metodu)

Alınan fermentasyon örneklerinde 3,5-dinitrosalisilik asit (DNSA) kullanılarak şeker miktarı belirlenmiştir (Miller, 1959).

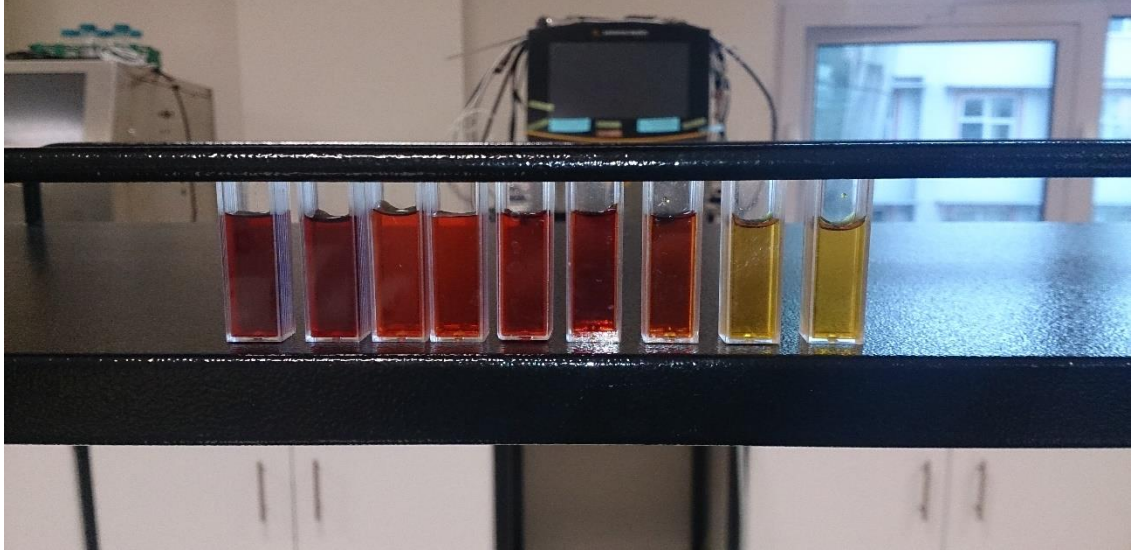
Şeker analizi için kimyasalların hazırlanması:

- DNSA: 10 g Dinitrosalisilik asit, 0,5 g Sodyum sülfid ve 10 g Sodyum hidroksit üzerine 1 L DI su,
- %40'lık Potasyum sodyum tartarat çözeltisi (PST),
- 5 N KOH,
- Konsantre HCl (12 M),
- DI su.

Not: PST ve DNSA çözeltileri amber şişelerde muhafaza edilmiştir.

50 µL örnek, 1,95 mL DI su ve 0,04 mL HCl test tüpünün içine eklenmiştir. Test tüpleri 90 °C'ye ayarlanan su banyosunda 10 dk bekletilmiştir. Üzerlerine 0,1 mL 5 N KOH eklenip karıştırılmış ve test tüplerinden 0,64 mL çözelti dışarı alınmıştır. Kalan karışımın üzerine 1,5 mL DNSA eklenip karıştırılmıştır. Aynı zamanda boş olan iki test tüpüne 1,5 mL DNSA ve 1,5 mL DI su eklenerek kör olarak kullanıma hazır hale getirilmiştir. Hazırlanan bütün tüpler 90 °C'ye ayarlanan su banyosunda 15 dk bekletilmiştir. 0,5 mL PST çözeltisinden köre ve diğer tüplere eklenmiştir. Tüpler oda sıcaklığına kadar soğutulup, son olarak da karıştırılıp 575 nm dalga boyunda spektrofotometrede (ThermoScientific, Evolution 201, UV Visible Spectrophotometer, Çin) ölçülen değerler kaydedilmiştir. Elde edilen değerler hesaplanmış olan Denklem 1'de yerine yazılarak analiz sonuçları elde edilmiştir. Şeker analizi yapılan örneklerin kuvvetlerdeki görüntüsü Şekil 3.1'de gösterilmiştir.

$$y=59.9826*x+0.7817 \quad (1)$$



Şekil 3.1. DNSA metodu ile şeker analizi yapılan örnekler

3.6.2. Etanol miktarı analizi

Alınan örneklerde etanol üretimini gözlemlemek amacıyla etanol miktarının belirlenmesinde RefractoMax 520 kırılma indisi dedektörü, otomatik örnekleyici, kolon fırını ve bilgisayar kontrolü ile donatılmış bir HPLC (Thermo Scientific UltiMate 3000, Dreieich, Almanya) cihazı kullanılmıştır. Analiz edilecek örnekler ultra saf su ile 20 kat seyreltilip katı partikülleri uzaklaştırmak için filtreden (Chromafil PET-45/25) geçirilmiştir. Filtreden geçirilen örnekler analiz için amber viallere aktarılmıştır (Şekil 3.2). Analiz, 0,5 mL/dk akış hızında, 20 µL enjeksiyon hacmine sahip, 0,01 N H₂SO₄ mobil faz ve 70°C’de Transgenomic ICSep ORH-801 (Apple Valley, MN) kolonu ile gerçekleştirilmiştir (Germeç vd., 2017). Elde edilen kromatogramlardaki değerler ppm’den g/L cinsine çevrilip kaydedilmiştir.



Şekil 3.2. Etanol analizinde kullanılan HPLC ve analiz edilecek vialler

3.6.3. Biyokütle analizi

Fermentasyon ortamında biyokütle değişimini belirlemek amacıyla örneklerden 0,1 mL alınarak üzerine 0,9 mL saf su eklenip 10 kat seyreltilmiştir. Sonra kör olarak saf su kullanılarak spektrofotometrede (ThermoScientific, Evolution 201, UV Visible Spectrophotometer) 620 nm’de elde edilen absorbans değerlerine göre *Saccharomyces cerevisiae* canlı miktarı daha önceden elde edilen Denklem 2 kullanılarak hesaplanmıştır (Demirci ve Pometto 1995, Demirci vd., 1997).

$$y=0.666019*x+0.10634 \quad (2)$$

3.6.4. Kinetik parametrelerin belirlenmesi

Biyoreaktörden alınan örneklerde toplam şeker, etanol ve biyokütle analizleri yapıldıktan sonra elde edilen veriler ile;

- Şeker tüketimi (g/L),
- Etanol üretimi (g/L),
- Biyokütle gelişimi (g/L),
- Verim (%),
- Şeker kullanım oranı (%),
- Teorik etanol verimi (%)
- Maksimum tüketim oranı (g/L/saat),
- Maksimum üretim oranı (g/L/saat),
- Maksimum gelişim oranı (g/L/saat) kinetik parametreleri belirlenmiştir (Turhan vd., 2010).

Hesaplamalar substrat (S) ve ürün (P) üzerinden aşağıdaki denklemler kullanılarak hesaplanmıştır:

$$\text{Şeker Tüketimi (g/L): } S=S_{\max}-S_{\min} \quad (3)$$

$$\text{Etanol Üretimi (g/L): } P= P_{\max}-P_{\min} \quad (4)$$

$$\text{Biyokütle Gelişimi (g/L): } X=X_{\max}-X_{\min} \quad (5)$$

$$\text{Etanol Verimi (%): } Y_{P/S}=(P/S)*100 \quad (6)$$

$$\text{Biyokütle Verimi (%): } Y_{X/S}=(X/S)*100 \quad (7)$$

$$\text{Şeker Kullanım Oranı (%): } SUY=(S/S_{\max})*100 \quad (8)$$

$$\text{Teorik Etanol Verimi (%): } TY=((Y_{P/S})/51,5)*100 \quad (9)$$

$$\text{Maksimum Tüketim Oranı (g/L/saat): Şeker kurvesinin en dik kısmının eğimi (10)}$$

$$\text{Maksimum Üretim Oranı (g/L/saat): Etanol kurvesinin en dik kısmının eğimi (11)}$$

Maksimum Gelişim Oranı (g/L/saat): Biyokütle kurvesinin en dik eğimi (12)

3.6.5. Matematiksel modellerin belirlenmesi

Kontrol fermentasyonundan ve seçilen 5 farklı inhibitör bileşiğin ilavesi ile gerçekleştirilen fermentasyonlardan etanol üretimi en fazla olan denemelere matematiksel modellemeler yapılmıştır. Çalışma için seçilen modeller etanol üretiminin yanı sıra şeker tüketimi ve biyokütle gelişimi için de kullanılmıştır. Bu analiz sonuçları 10 farklı modele uygulanıp en iyi model belirlenmiştir. Modellemelerde, Microsoft Excel Office 365 programı kullanılmıştır. Aşağıda, bu çalışmada kullanılan modellerin matematiksel ifadesi verilmiştir.

- Modifiye Gompertz model (4 parametrelili) (Zwietering vd., 1990)

$$A_t = A_o + (A_m - A_o) \times \exp \left[-\exp \left\{ \frac{Q \times e \times (\lambda - t)}{A_m} + 1 \right\} \right] \quad (13)$$

- Modifiye lojistik model (4 parametrelili) (Zwietering vd., 1990)

$$A_t = A_o + \frac{A_m - A_o}{1 + \exp \left(\frac{4 \times Q \times (\lambda - t)}{A_m} + 2 \right)} \quad (14)$$

- Modifiye Richards model (5 parametrelili) (Zwietering vd., 1990)

$$A_t = A_o + \frac{A_m - A_o}{\left\{ 1 + v_1 \times \exp \left(1 + v_1 \right) \times \exp \left(\frac{Q \times (1 + v_1)^{(1+\frac{1}{v_1})} \times (\lambda - t)}{A_m} \right) \right\}^{\frac{1}{v_1}}} \quad (15)$$

- Stannard model (5 parametrelili) (Stannard vd., 1985)

$$A_t = A_o + \frac{A_m - A_o}{\left[1 + \exp \left(-\frac{\beta + Q \times t}{v_2} \right) \right]^{v_2}} \quad (16)$$

- Weibull model (4 parametrelili) (Weibull, 1951)

$$A_t = A_m - (A_m - A_o) \times \exp \left[-(k_1 \times t)^{\delta_1} \right] \quad (17)$$

- Morgan-Mercer-Flodin model (4 parametrelili) (Morgan vd., 1975)

$$A_t = A_m - \frac{(A_m - A_o)}{1 + (k_2 \times t)^{\delta_2}} \quad (18)$$

- Asimetrik model (4 parametrelili) (Dantigny vd., 2011)

$$A_t = A_o + (A_m - A_o) \times \left[1 - \frac{1}{1 + \left(\frac{t}{T_t}\right)^d} \right] \quad (19)$$

- Baranyi model (5 parametreli) (Baranyi & Roberts, 1994)

$$A_t = A_o + Q \times B_t - \ln \left[1 + \frac{\exp(Q \times B_t) - 1}{\exp(A_m - A_o)} \right] \quad (20)$$

Burada,

$$B_t = t + \frac{1}{Q} \times \ln[\exp(-Q \times t) + \exp(-h_o) - \exp(-Q \times t - h_o)] \quad (21)$$

Burada,

$$h_o = Q \times \lambda \quad (22)$$

- Huang model (4 parametreli) (Huang, 2013)

$$A_t = A_o + A_m - \ln[\exp(A_o) + [\exp(A_m) - \exp(A_o)] \times \exp(-Q \times H_t)] \quad (23)$$

Burada,

$$H_t = t + \frac{1}{a} \times \ln \left[\frac{1 + \exp(-a \times (t - \lambda))}{1 + \exp(a \times \lambda)} \right] \quad (24)$$

- Fitzhugh model (4 parametreli) (Pitt vd., 1999)

$$A_t = A_o + (A_m - A_o) \times [1 - \exp(-k_3 \times t)]^{v_3} \quad (25)$$

Bu çalışmada kullanılan matematiksel modellerin karşılaştırılmasında ve en iyi modelin seçilmesinde ortalama karesel hata (RMSE), ortalama mutlak hata (MAE), regresyon katsayısı (R^2), ön yargı faktörü (BF) ve kesinlik faktörü (AF) değerleri kullanılmıştır. RMSE, proseslerin model performansını değerlendirmek için standart bir istatistiksel metrik olarak kullanılıp hesaplanmıştır (Chai ve Draxler, 2014). RMSE'nin en düşük değere sahip olduğu modeller uyumlu olarak kabul edilmiştir (Germeç vd., 2019).

$$RMSE = \sqrt{\left[\sum_{i=1}^n (x_i - y_i)^2 \right] / n}, \quad i = 1, 2, \dots, n \quad (26)$$

MAE de model değerlendirmelerinde yaygın olarak kullanılan bir ölçüt olarak hesaplanmıştır (Chai ve Draxler, 2014). MAE'nin en düşük değere sahip olduğu modeller uyumlu olarak kabul edilmiştir (Germeç vd., 2019).

$$MAE = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n |x_i - y_i|, \quad i = 1, 2, \dots, n \quad (27)$$

Matematiksel modeller kullanılarak tahmin edilen veriler elde edildikten sonra, tahmin edilen değerler, deneysel verilere karşı grafike edilmiş ve R^2 değeri, çizilen doğru denklemine göre belirlenmiştir. R^2 'nin 1'e yakın olması modelin uyumlu olduğunu belirtmektedir (Germeç vd., 2019).

İlaveten, BF değeri, deneysel ve tahmin edilen değerler arasındaki ortalama fark için bir tahmin değeri olarak hesaplanmıştır (Cayré vd., 2003; Ross, 1996). BF değeri $0,95 \leq BF \leq 1,11$ ise değer model ile uyumludur. BF değeri $0,87 \leq BF < 0,95$ veya $1,11 < BF \leq 1,43$ ise model kabul edilebilirdir. BF değeri $BF < 0,87$ veya $BF > 1,43$ ise model kabul edilemezdir (Germeç vd., 2019).

$$BF = 10^{\frac{\sum_{i=1}^n \log(x_i/y_i)}{n}}, \quad i = 1, 2, \dots, n \quad (28)$$

AF değeri, deneysel ve tahmin edilen değerler arasındaki ortalama mutlak fark için bir tahmin değeri olarak hesaplanmıştır. Daha büyük değer, daha az kesin tahmin demektir (Cayré vd., 2003; Ross, 1996). AF değeri $1 \leq AF < 1,2$ ise değer model ile uyumludur. AF değeri $1,2 \leq AF \leq 1,3$ ise model kabul edilebilirdir. AF değeri $AF > 1,3$ ise model kabul edilemezdir (Germeç vd., 2019).

$$AF = 10^{\frac{\sum_{i=1}^n |\log(y_i/x_i)|}{n}}, \quad i = 1, 2, \dots, n \quad (29)$$

3.6.6. İstatistiksel analiz

Fermentasyonların analiz sonuçlarından elde edilen kinetik parametre değerleri değerleri SAS istatistiksel programı (Version 9; SAS Institute Inc.) kullanılarak Duncan çoklu karşılaştırma testi ile %95 güven seviyesinde analiz edilmiştir. İnhibitör bileşiklerin miks olarak kullanıldığı deneme deseni ise Minitab İstatistiksel yazılımı (Version 13.3; Minitab Inc., State College, PA, USA) ile yapılmıştır. Her faktörün cevap üzerindeki istatistiksel önemi %95 güven seviyesinde belirlenmiştir. Tüm parametrelerin değerleri, iki tekrarlanmanın ortalaması olarak verilmiştir ve tablolarda ortalama±standart hata olarak ifade edilmiştir.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

Kontrol fermentasyonuna ve HMF, furfural, fenol, asetik asit, formik asit inhibitörleri ile gerçekleştirilen fermentasyonlara ait bulgular aşağıda verilerek sonuçlar değerlendirilmiştir.

4.1. Kontrol Fermentasyonu

İnhibitör ilavesi olmadan gerçekleştirilen kontrol fermentasyonuna ait bulgular aşağıda verilmiştir. İnhibitör ilaveli fermentasyonların sonuçları kontrol fermentasyonu ile karşılaştırılarak elde edilen verilen değerlendirilmiştir.

4.1.1. Kontrol fermentasyonuna ait analiz sonuçları ve kinetik parametreler

Gerçekleştirilen çalışmada inhibitör bileşiklerin immobilize *Saccharomyces cerevisiae* hücreleri ile yapılan etanol fermentasyonu üzerine etkileri incelenmiştir. Bu etkileri incelemek amacı ile 2 tekerrürlü olmak üzere kontrol fermentasyonları gerçekleştirilmiştir. Çalışmada besiyeri saf karbon kaynağı glukoz olarak seçilmiş olup fermentasyonlar 2 L'lik biyoreaktörde 1,5 L hacminde çalışılmıştır. Bu fermentasyonlar herhangi bir inhibitör bileşik eklenmeden tamamlanmıştır.

Fermentasyon, immobilize hücrelerin yapılarının bozulmadan steril edilmiş biyoreaktöre aktarılmasıyla başlamıştır. Başlangıçtan 48. saate kadar fermentasyon ortamı ve immobilize hücrelerin durumu gözlenmiştir. Bu süreçte fermentasyon başında besiyeri ortamının berrak ve immobilize hücrelerin yapı bütünlüğünün düzgün olduğu görülmüştür. Fermentasyonun 48. saatinde ise besiyeri ortamının hücre gelişimi ve etanol üretimi ile bulanıklaştığı, gelişen hücrelerin ise yapılarının dağıldığı görülmüştür. Fermentasyon süresince oluşan bu değişim Şekil 4.1'de verilmiştir.



Şekil 4.1. Fermentasyonun başlangıcında ve 48. saatinde elde edilen görüntüler

Kontrol olarak gerçekleştirilen fermentasyona ait analiz sonuçları Çizelge 4.1’de verilmiştir. Verilen değerler 2 tekerrürün ortalamasından elde edilmiş olup $\pm$ standart hata ile gösterilmiştir. Yapılan kontrol fermentasyonunda maksimum etanol üretiminin 24. saatte 35,716 g/L olduğu, bu saatten sonra etanol miktarının azaldığı ve 48. saat sonunda 35,200 g/L olduğu görülmüştür. Fermentasyon başlangıcında 76,593 g/L olan ortamdaki şeker içeriğinin fermentasyon sonunda 3,239 g/L olduğu saptanmıştır. Fermentasyon boyunca gerçekleşen biyokütle gelişimi ise en yüksek 48. saatte 7,164 g/L olarak elde edilmiştir.

Çizelge 4.1. Kontrol fermentasyonuna ait analiz sonuçları

Zaman (saat)	Etanol Üretimi (g/L)	Şeker Tüketimi (g/L)	Biyokütle Gelişimi (g/L)
0 (Bşl.)	0,000 $\pm$ 0,000	76,593 $\pm$ 0,508	1,063 $\pm$ 0,000
0	0,263 $\pm$ 0,021	76,261 $\pm$ 1,675	1,107 $\pm$ 0,014
2	0,534 $\pm$ 0,000	74,436 $\pm$ 0,045	1,165 $\pm$ 0,018
4	1,868 $\pm$ 0,050	65,987 $\pm$ 0,064	1,336 $\pm$ 0,012
8	6,486 $\pm$ 0,402	62,661 $\pm$ 2,542	1,778 $\pm$ 0,159
11	13,150 $\pm$ 0,256	46,930 $\pm$ 0,953	2,988 $\pm$ 0,038
14	21,369 $\pm$ 0,326	28,233 $\pm$ 0,064	4,082 $\pm$ 0,133
24	35,716 $\pm$ 0,148	3,778 $\pm$ 0,169	5,994 $\pm$ 0,055
30	35,431 $\pm$ 0,269	3,718 $\pm$ 0,212	6,350 $\pm$ 0,015
36	35,299 $\pm$ 0,071	3,359 $\pm$ 0,138	6,735 $\pm$ 0,000
48	35,200 $\pm$ 0,071	3,239 $\pm$ 0,127	7,164 $\pm$ 0,000

Fermentasyon boyunca hücrelerin şekeri kullandığı ve şeker tüketim oranının %96,100 olduğu hesaplanmıştır. Buna ek olarak elde edilen etanol veriminin %49,234 biyokütle veriminin ise %8,410 olduğu görülmüştür. Fermentasyon sonunda hesaplanan etanol veriminin teorik etanol verimi olan %51,100 değerine yakın olması fermentasyonun uygun bir şekilde tamamlandığını göstermektedir. Kontrol fermentasyonuna ait tüm kinetik parametreler Çizelge 4.2’de verilmiştir.

Çizelge 4.2. Kontrol fermentasyonuna ait kinetik parametreler

Kinetik Parametreler	
Şeker Tüketimi, ΔS (g/L)	72,543±2,548
Etanol Üretimi, ΔP (g/L)	35,716±0,057
Biyokütle Artışı, ΔX (g/L)	6,101±0,000
Etanol Verimi, $Y_{P/S}$ (%)	49,234±1,527
Biyokütle Verimi, $Y_{X/S}$ (%)	8,410±0,273
Teorik Etanol Verimi, TY (%)	92,980±2,989
Spesifik Gelişim Hızı, Q_X (g/L/h)	0,310±0,077
Spesifik Üretim Hızı, Q_P (g/L/h)	1,800±0,159
Spesifik Tüketim Hızı, Q_S (g/L/h)	3,380±0,170
Şeker Tüketim Oranı, SUY (%)	96,100±0,346

4.1.2. Kontrol fermentasyonuna ait etanol üretimi, biyokütle gelişimi ve şeker tüketimi değerlerinin matematiksel modellenmesi

İnhibitör ilavesi olmadan yapılan kontrol fermentasyonundan elde edilen etanol üretimi, biyokütle gelişimi ve şeker tüketimi değerlerine 10 farklı model uygulanmış olup elde edilen veriler Çizelge 4.3’te verilmiştir.

Etanol üretimi için en düşük RMSE değeri (0,948 g/L) ve MAE değeri (0,661 g/L) Fitzhugh modelden elde edilmiştir. Etanol üretimi için en yüksek RMSE değeri (11,205 g/L) ve MAE değeri (10,705 g/L) Stannard modelden elde edilmiştir. Elde edilen verilerde en düşük R^2 değeri (0,9095) Stannard modelden, en yüksek R^2 değeri (0,9981) MMF modelden elde edilmiştir. Bu değerlerin yanı sıra modellerin uyumluluğuna karar vermek için BF ve AF değerleri dikkate alınmıştır. BF değeri $0,95 \leq BF \leq 1,11$ ise değer model ile uyumludur. BF değeri $0,87 \leq BF < 0,95$ veya $1,11 < BF \leq 1,43$ ise model kabul edilebilirdir. BF değeri $BF < 0,87$ veya $BF > 1,43$ ise model kabul edilemezdir. Weibull (1,094) ve MMF (1,111) modelden elde edilen BF değerleri model için uyumlu olan aralıktadır. AF değeri $1 \leq AF < 1,2$ ise değer model ile uyumludur. AF değeri $1,2 \leq AF \leq 1,3$ ise model kabul edilebilirdir. AF değeri $AF > 1,3$ ise model kabul edilemezdir. Weibull (1,290) ve MMF (1,228) modelden elde edilen AF değerleri model için kabul edilebilir aralıktadır. Tüm bu değerler incelendiğinde etanol üretimi için en uygun model MMF model olarak seçilmiştir.

Biyokütle gelişimi için en düşük RMSE değeri (0,176 g/L) ve MAE değeri (0,146 g/L) MMF modelden elde edilmiştir. Biyokütle gelişimi için en yüksek RMSE değeri (2,385 g/L) Baranyi modelden ve en yüksek MAE değeri (2,024 g/L) Stannard modelden elde edilmiştir. Elde edilen verilerde en düşük R^2 değeri (0,7444) Asimetrik modelden,

en yüksek R^2 değeri (0,9958) MMF modelden elde edilmiştir. Bu değerlerin yanı sıra modellerin uyumluluğuna karar vermek için BF ve AF değerleri dikkate alınmıştır. BF değeri $0,95 \leq BF \leq 1,11$ ise değer model ile uyumludur. BF değeri $0,87 \leq BF < 0,95$ veya $1,11 < BF \leq 1,43$ ise model kabul edilebilir. BF değeri $BF < 0,87$ veya $BF > 1,43$ ise model kabul edilemezdir. MGM (0,960) ve MMF (0,990) modelden elde edilen BF değerleri model için uyumlu olan aralıktadır. AF değeri $1 \leq AF < 1,2$ ise değer model ile uyumludur. AF değeri $1,2 \leq AF \leq 1,3$ ise model kabul edilebilir. AF değeri $AF > 1,3$ ise model kabul edilemezdir. MGM (1,062) ve MMF (1,054) modelden elde edilen AF değerleri model için uyumlu olan aralıktadır. Tüm bu değerler incelendiğinde biyokütle gelişimi için en uygun model MMF model olarak seçilmiştir.

şeker tüketimi için en düşük RMSE değeri (2,729 g/L) ve MAE değeri (1,256 g/L) Weibull modelden elde edilmiştir. şeker tüketimi için en yüksek RMSE değeri (33,717 g/L) Huang modelden ve en yüksek MAE değeri (25,649 g/L) Asimetrik modelden elde edilmiştir. Elde edilen verilerde en düşük R^2 değeri (0,4127) Huang modelden, en yüksek R^2 değeri (0,9943) Weibull modelden elde edilmiştir. Bu değerlerin yanı sıra modellerin uyumluluğuna karar vermek için BF ve AF değerleri dikkate alınmıştır. BF değeri $0,95 \leq BF \leq 1,11$ ise değer model ile uyumludur. BF değeri $0,87 \leq BF < 0,95$ veya $1,11 < BF \leq 1,43$ ise model kabul edilebilir. BF değeri $BF < 0,87$ veya $BF > 1,43$ ise model kabul edilemezdir. Weibull (1,014) modelden elde edilen BF değeri model için uyumlu olan aralıktadır. MMF (0,879) modelden elde edilen BF değerleri model için kabul edilebilir aralıktadır. AF değeri $1 \leq AF < 1,2$ ise değer model ile uyumludur. AF değeri $1,2 \leq AF \leq 1,3$ ise model kabul edilebilir. AF değeri $AF > 1,3$ ise model kabul edilemezdir. Weibull (1,044) ve MMF (1,152) modelden elde edilen AF değerleri model için uyumlu olan aralıktadır. Tüm bu değerler incelendiğinde şeker tüketimi için en uygun model Weibull model olarak seçilmiştir.

Kontrol fermentasyonundan elde edilen etanol üretimi, biyokütle gelişimi ve şeker tüketimi verilerine uygulanan modellerin kıyaslandığı grafikler EK-1, EK-2 ve EK-3'te verilmiştir. Bu veriler için hesaplanan model parametreleri EK-4, EK-5 ve EK-6'da verilmiştir.

Çizelge 4.3. Kontrol fermentasyonundan elde edilen verilere uygulanan matematiksel modellerin karşılaştırılması

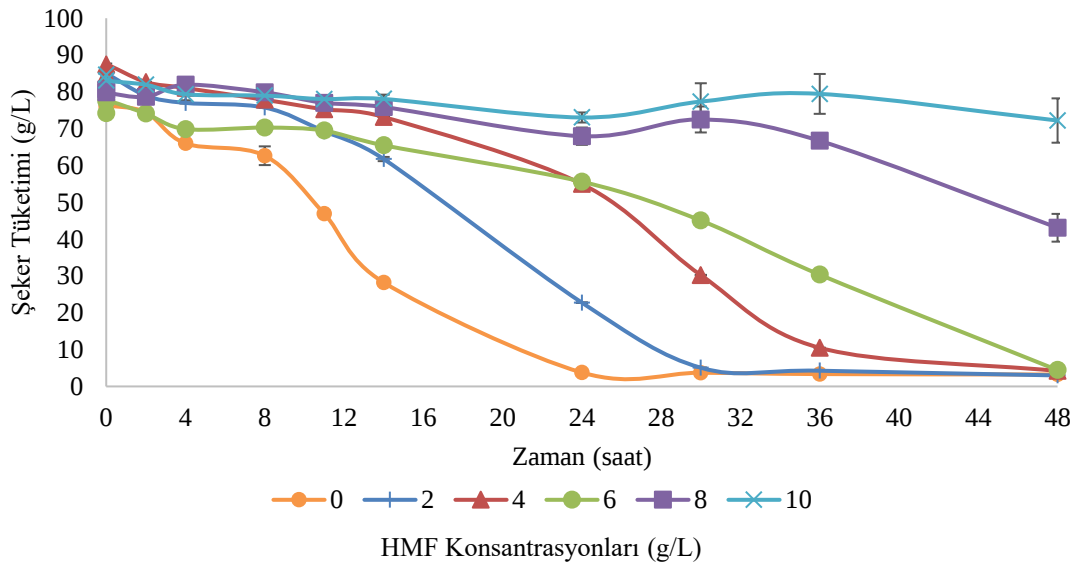
Model/Kontrol	Etanol Üretimi					Biyokütle Gelişimi					Şeker Tüketimi				
	RMSE (g/L)	MAE (g/L)	R ²	BF	AF	RMSE (g/L)	MAE (g/L)	R ²	BF	AF	RMSE (g/L)	MAE (g/L)	R ²	BF	AF
MGM	2,843	2,591	0,9875	0,571	1,853	0,179	0,150	0,9952	0,960	1,062	27,610	16,240	0,5590	0,591	1,695
MLM	3,838	3,115	0,9799	0,529	2,045	0,510	0,465	0,9922	0,830	1,205	32,065	23,404	0,4981	0,358	2,796
MRM	3,174	3,044	0,9818	0,508	2,019	0,390	0,330	0,9924	1,315	1,331	23,002	16,826	0,6394	0,465	2,238
Stannard	11,205	10,705	0,9095	0,574	3,235	2,172	2,024	0,9267	0,784	1,978	17,093	15,616	0,9161	0,512	2,322
Weibull	2,367	1,428	0,9794	1,094	1,290	0,413	0,288	0,9875	1,016	1,080	2,729	1,256	0,9943	1,014	1,044
MMF	1,287	1,016	0,9981	1,111	1,228	0,176	0,146	0,9958	0,990	1,054	3,265	1,942	0,9915	0,879	1,152
Asimetrik	0,799	0,645	0,9969	1,425	1,471	1,268	1,089	0,7444	0,781	1,357	25,959	25,649	0,5422	0,404	2,934
Baranyi	3,241	2,160	0,9585	0,760	1,379	2,385	1,197	0,8061	1,128	1,366	33,703	23,740	0,4132	0,391	2,557
Huang	1,890	1,270	0,9833	0,786	1,336	0,640	0,485	0,9730	0,916	1,144	33,717	23,746	0,4127	0,391	2,558
Fitzhugh	0,948	0,661	0,9970	3,705	3,754	0,539	0,454	0,9688	0,921	1,177	3,854	2,262	0,9895	0,986	1,069

4.2. HMF İlavesi ile Gerçekleştirilen Fermentasyonlar

Saf karbon kaynağı olarak glukozun kullanıldığı kontrol besiyeri ortamına 2 g/L, 4 g/L, 6 g/L, 8 g/L ve 10 g/L olmak üzere 5 farklı konsantrasyonda HMF eklenmiş olup bu fermentasyonlar 2 tekerrürlü olarak gerçekleştirilmiştir. Her fermentasyondan 48 saat boyunca belirli aralıklar ile örnekler alınmıştır. Bu örnekler ile şeker, etanol ve biyokütle analizleri yapılmıştır. Elde edilen analiz sonuçları zamana bağlı olarak ayrı ayrı grafik edilmiş olup aşağıda verilmiştir.

4.2.1. HMF ilavesi ile gerçekleştirilen fermentasyonlarda şeker tüketimi

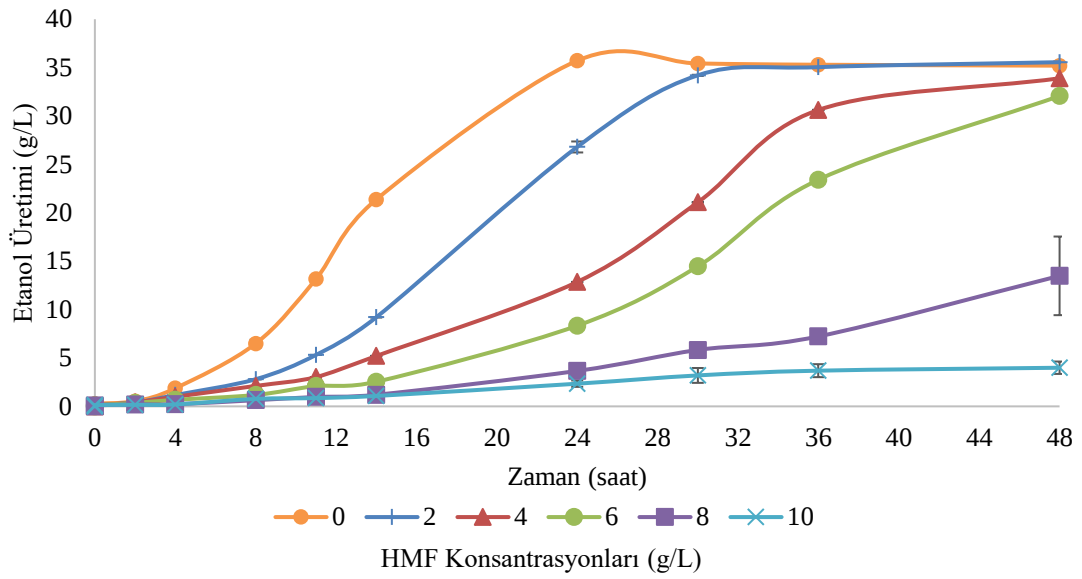
2, 4 ve 6 g/L HMF ilavesi ile gerçekleştirilen fermentasyonlarda ortamda bulunan şekerin immobilize hücreler tarafından tüketilebildiği Şekil 4.2’de görülmektedir. 8 g/L HMF ilavesi ile başlangıçta 80,638 g/L olarak ölçülen şeker miktarı fermentasyon sonunda 43,092 g/L’ye düşmüştür. Immobilize hücrelerin şekeri kullanmasının sınırlanmasıyla gelişim ve üretim büyük ölçüde azalmıştır. 10 g/L HMF ilavesi ile başlangıçta 84,638 g/L olarak ölçülen şeker miktarı 72,216 g/L’ye düşmüştür (Şekil 4.2).



Şekil 4.2. Besiyerine farklı konsantrasyonlarda HMF ilavesinin şeker tüketimine etkisi

4.2.2. HMF ilavesi ile gerçekleştirilen fermentasyonlarda etanol üretimi

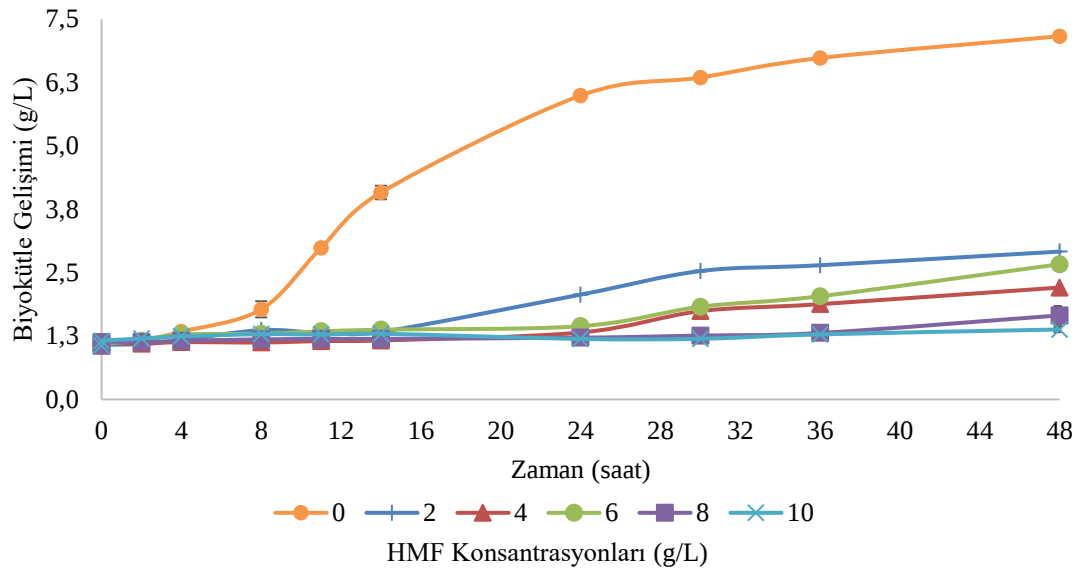
2, 4 ve 6 g/L HMF ilaveli fermentasyonlarda şeker tüketiminin iyi olması nedeniyle etanol üretimi de gerçekleşmiştir. Bu fermentasyonlar sonucunda ortamda bulunan etanol miktarının kontrol fermentasyonunda elde edilen en yüksek etanol miktarı (35,716 g/L) ile yakınlık gösterdiği görülmüştür. Bu sonuçlar ile besiyerinde 6 g/L HMF bulunmasının etanol üretiminde inhibe edici bir etkinin olmadığını göstermiştir. 8 g/L HMF ilavesi ile gerçekleştirilen fermentasyonda 48 saatin sonunda ortamda 13,485 g/L, 10 g/L HMF ilavesi ile gerçekleştirilen fermentasyonda ise 48 saat sonunda ortamda 3,993 g/L etanol belirlenmiştir. Bu veriler doğrultusunda 8 ve 10 g/L HMF konsantrasyonu ile etanol üretimlerinin azaldığı görülmüştür. Besiyerinde farklı HMF konsantrasyonlarına göre değişen etanol miktarları Şekil 4.3’te verilmiştir.



Şekil 4.3. Besiyerine farklı konsantrasyonlarda HMF ilavesinin etanol üretimine etkisi

4.2.3. HMF ilavesi ile gerçekleştirilen fermentasyonlarda biyokütle gelişimi

2, 4 ve 6 g/L HMF ilavesi ile gerçekleştirilen fermentasyonlarda biyokütle gelişimi sırasıyla 2,917, 2,207, 2,667 g/L olarak elde edilmiştir. Bu konsantrasyonlarda immobilize hücreler şekeri kullanmıştır fakat gelişim kontrol fermentasyonunda elde edilen değerden daha az olmuştur. Buna rağmen etanol üretimi gerçekleşmiştir. 8 ve 10 g/L HMF ilavesi ile gerçekleştirilen fermentasyonlarda biyokütle gelişimi sırasıyla 1,658 ve 1,380 g/L olarak elde edilmiştir. 8 g/L ve üzeri HMF konsantrasyonlarında biyokütlenin daha çok inhibe olduğu görülmüştür. Bu inhibisyon ile immobilize hücreler ortamdaki şekeri kullanamamış ve etanol üretememişlerdir. Biyokütle gelişiminde zamana bağlı değişim Şekil 4.4'te verilmiştir.



Şekil 4.4. Besiyerine farklı konsantrasyonlarda HMF ilavesinin biyokütle gelişimine etkisi

4.2.4. Farklı HMF konsantrasyonlarında gerçekleştirilen fermentasyonların kinetik parametrelerinin karşılaştırılması

HMF ilavesi ile gerçekleştirilen fermentasyonlardan hesaplanan kinetik parametreler Çizelge 4.4'te verilmiştir. Kontrol fermentasyonu ve HMF ilavesi ile gerçekleştirilen fermentasyonlarda en yüksek etanol verimi %49,234 ile kontrol fermentasyonundan elde edilmiştir. HMF ilavesiyle gerçekleştirilen fermentasyonlar arasında ise kontrol fermentasyonuna yakın ve en yüksek etanol verimi %43,867 ile 6 g/L HMF ilave edilen fermentasyondan elde edilmiştir. Buna ek olarak inhibisyonun olmadığı 2 ve 4 g/L HMF ilavesi ile gerçekleştirilen fermentasyonlarda etanol verimi sırasıyla %43,434 ve %40,747 olarak hesaplanmıştır. Hesaplanan değerlerde 2 ve 6 g/L HMF ilavesi ile yapılan fermentasyonlarda istatistiksel olarak önemli bir fark bulunmamıştır ($P>0,05$). 8 ve 10 g/L HMF ilavesi ile inhibisyonun başladığı, en düşük etanol veriminin 10 g/L HMF ilavesi ile gerçekleştirilen fermentasyonda %32,140 olarak hesaplandığı görülmüştür. Kontrol fermentasyonundan elde edilen maksimum etanol verimi ile 10 g/L HMF ilavesi ile gerçekleştirilen fermentasyondan elde edilen minimum etanol verimi arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olduğu görülmüştür ($P<0,05$).

Kontrol fermentasyonu ve HMF ilavesi ile gerçekleştirilen fermentasyonlar arasında en yüksek biyokütle verimi %8,410 ile kontrol fermentasyonundan elde edilmiştir. Ortama HMF ilavesi ile gerçekleştirilen tüm fermentasyonlarda biyokütle gelişimi sınırlandırılmıştır fakat immobilize hücreler tarafından şeker tüketimi ve etanol üretimi devam etmiştir. Kontrol fermentasyonu ve HMF ilavesi ile gerçekleştirilen diğer fermentasyonlar arasındaki biyokütle verim farkının istatistiksel olarak önemli olduğu görülmüştür ($P<0,05$). 2, 4 ve 8 g/L HMF ilavesi ile gerçekleştirilen fermentasyonlarda, 4 ve 6 g/L HMF ilavesiyle gerçekleştirilen fermentasyonlarda biyokütle gelişimi açısından istatistiksel olarak önemli fark görülmemiştir ($P>0,05$).

Kontrol, 2, 4 ve 6 g/L HMF ilavesi ile gerçekleştirilen fermentasyonlarda ortamda bulunan şeker immobilize hücreler tarafından kullanılmıştır. Bu fermentasyonlar arasında şeker kullanım oranı bakımından istatistiksel olarak önemli bir fark görülmemiştir ($P>0,05$). 8 ve 10 g/L HMF ilavesi ile gerçekleştirilen fermentasyonlarda inhibisyon gerçekleşmiş olup şeker kullanım oranı azalmıştır. Maksimum şeker kullanımı %96,484 ile 2 g/L HMF ilavesi ile gerçekleştirilen fermentasyondan, minimum şeker kullanımı ise %14,677 ile 10 g/L HMF ilavesi ile gerçekleştirilen fermentasyondan elde edilmiştir. Bu iki fermentasyon arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmiştir ($P<0,05$).

Spesifik üretim hızı (Q_p) değerleri incelendiğinden en yüksek Q_p değeri 1,800 g/L/h olarak kontrol fermentasyonundan elde edilmiştir. En düşük Q_p değeri ise 0,132 g/L/h olarak 10 g/L HMF ilave edilmiş fermentasyondan elde edilmiştir. HMF konsantrasyonunun artması ile Q_p değerinde sürekli bir azalış gözlenmiştir. Elde edilen maksimum ve minimum Q_p değerleri arasında istatistiksel açıdan önemli bir fark görülmüştür ($P<0,05$). Spesifik gelişim hızı (Q_x) değerleri incelendiğinde en yüksek Q_x değeri 0,310 g/L/h olarak kontrol fermentasyonundan elde edilmiştir. Fermentasyon ortamına ilave edilen HMF konsantrasyonunun artması ile Q_x değerlerinde azalış gözlenmiştir. Kontrol fermentasyonunda elde edilen Q_x değeri ile HMF ilavesi ile gerçekleşmiş tüm fermentasyonlardan elde edilen Q_x değerleri arasında istatistiksel açıdan önemli bir fark görülmüştür ($P<0,05$).

Yukarıda verilen değerlere ek olarak hesaplanan tüm kinetik parametreler Çizelge 4.4'te verilmiştir.

Çizelge 4.4. HMF ilavesi ile kinetik parametrelerin değişimi

HMF Konsantrasyonu (g/L)	ΔS (g/L)	ΔP (g/L)	ΔX (g/L)	$Y_{P/S}$ (%)	$Y_{X/S}$ (%)	TY (%)	SUY (%)	Q_x (g/L/h)	Q_p (g/L/h)	Q_s (g/L/h)
0	72,543 ^b ±2,548	35,716 ^a ±0,057	6,101 ^a ±0,000	49,234 ^a ±1,527	8,41 ^a ±0,273	92,984 ^a ±2,989	96,099 ^a ±0,346	0,310 ^a ±0,077	1,800 ^a ±0,159	3,380 ^{ba} ±0,170
2	81,879 ^{ba} ±0,095	35,563 ^a ±0,091	1,853 ^b ±0,011	43,434 ^{ba} ±0,162	2,263 ^b ±0,016	84,998 ^{ba} ±0,317	96,484 ^a ±0,032	0,075 ^b ±0,003	1,583 ^a ±0,047	3,579 ^{ba} ±0,082
4	83,183 ^a ±0,318	33,894 ^a ±0,056	1,144 ^c ±0,019	40,747 ^{bac} ±0,088	1,375 ^c ±0,017	79,739 ^{bac} ±0,172	95,196 ^a ±0,017	0,034 ^b ±0,001	0,969 ^b ±0,002	3,707 ^a ±0,768
6	73,100 ^b ±0,138	32,067 ^a ±0,067	1,603 ^b ±0,024	43,867 ^{ba} ±0,175	2,193 ^b ±0,036	85,845 ^{ba} ±0,342	94,277 ^a ±0,294	0,049 ^b ±0,002	0,729 ^b ±0,001	2,243 ^b ±0,443
8	38,850 ^c ±4,437	13,485 ^b ±4,020	0,594 ^d ±0,185	34,711 ^{bc} ±6,585	1,530 ^c ±0,329	67,928 ^{bc} ±12,886	47,411 ^b ±5,201	0,005 ^b ±0,001	0,285 ^c ±0,040	0,696 ^c ±0,121
10	12,422 ^d ±3,953	3,993 ^c ±0,706	0,316 ^d ±0,071	32,140 ^c ±1,075	2,547 ^b ±0,191	62,896 ^c ±2,103	14,677 ^c ±4,423	0,014 ^b ±0,005	0,132 ^c ±0,050	0,437 ^c ±0,003

4.2.5. HMF ilavesi ile gerçekleştirilen fermentasyonlara ait etanol üretimi, biyokütle gelişimi ve şeker tüketimi değerlerinin farklı matematiksel modellere uygulanması

2 g/L HMF ilavesi ile gerçekleştirilen fermentasyondan elde edilen etanol üretimi, biyokütle gelişimi ve şeker tüketimi değerlerine 10 farklı model uygulanmış olup elde edilen veriler Çizelge 4.5'te verilmiştir. *RMSE*, *MAE* ve R^2 değerlerinin yanı sıra modellerin uyumluluğuna karar vermek için *BF* ve *AF* değerleri dikkate alınmıştır. *BF* değeri $0,95 \leq BF \leq 1,11$ ise değer model ile uyumludur. *BF* değeri $0,87 \leq BF < 0,95$ veya $1,11 < BF \leq 1,43$ ise model kabul edilebilirdir. *BF* değeri $BF < 0,87$ veya $BF > 1,43$ ise model kabul edilemezdir. *AF* değeri $1 \leq AF < 1,2$ ise değer model ile uyumludur. *AF* değeri $1,2 \leq AF \leq 1,3$ ise model kabul edilebilirdir. *AF* değeri $AF > 1,3$ ise model kabul edilemezdir.

Etanol üretimi için en düşük *RMSE* değeri (0,460 g/L) ve *MAE* değeri (0,330 g/L) Baranyi en yüksek *RMSE* değeri (11,105 g/L) ve *MAE* değeri (9,935 g/L) ise Stannard modelden elde edilmiştir. Elde edilen verilerde en düşük R^2 değeri (0,8419) Asimetrik modelden, en yüksek R^2 değeri (0,9993) ise Baranyi modelden elde edilmiştir. MGM (0,899) modelden elde edilen *BF* değeri model için kabul edilebilir aralıktadır. MGM (1,182) modelden elde edilen *AF* değer, model için uyumlu olan aralıktadır. Tüm bu değerler incelendiğinde etanol üretimi için en uygun model MGM model olarak seçilmiştir.

Biyokütle gelişimi için en düşük *RMSE* değeri (0,1 g/L) ve *MAE* değeri (0,073 g/L) MGM modelden en yüksek *RMSE* değeri (0,843 g/L) ve *MAE* değeri (0,811 g/L) ise Baranyi modelden elde edilmiştir. Elde edilen verilerde en düşük R^2 değeri (0,4200) Asimetrik modelden, en yüksek R^2 değeri (0,9923) MRM modelden elde edilmiştir. MGM (0,976), MLM (0,969), Weibull (1,039), MMF (1,058), Huang (1,019) ve Fitzhugh (0,985) modelden elde edilen *BF* değerleri model için uyumlu olan aralıktadır. MGM (1,046), MLM (1,098), Weibull (1,048), MMF (1,058), Huang (1,063) ve Fitzhugh (1,070) modelden elde edilen *AF* değerleri model için uyumlu olan aralıktadır. Tüm bu değerler incelendiğinde biyokütle gelişimi için en uygun model MMF model olarak seçilmiştir.

Şeker tüketimi için en düşük *RMSE* değeri (3,612 g/L) ve *MAE* değeri (2,765 g/L) Weibull modelden en yüksek *RMSE* değeri (37,616 g/L) ve *MAE* değeri (26,372 g/L) ise Huang modelden elde edilmiştir. Elde edilen verilerde en düşük R^2 değeri (0,3179) Asimetrik modelden, en yüksek R^2 değeri (0,9954) Weibull modelden elde edilmiştir. Weibull (0,992) modelden elde edilen *BF* değeri model için uyumlu olan aralıktadır. Fitzhugh (1,128) modelden elde edilen *BF* değerleri model için kabul edilebilir aralıktadır. Weibull (1,093) modelden elde edilen *AF* değeri model için uyumlu olan aralıktadır. Tüm bu değerler incelendiğinde şeker tüketimi için en uygun model Weibull model olarak seçilmiştir.

2 g/L HMF ilavesi ile gerçekleştirilen fermentasyondan elde edilen etanol üretimi, biyokütle gelişimi ve şeker tüketimi verilerine uygulanan modellerin kıyaslandığı grafikler EK-7, EK-8 ve EK-9'da verilmiştir. Bu veriler için hesaplanan model parametreleri EK-10, EK-11 ve EK-12'de verilmiştir.

Çizelge 4.5. 2 g/L HMF ilavesi ile gerçekleştirilen fermentasyondan elde edilen verilere uygulanan matematiksel modellerin karşılaştırılması

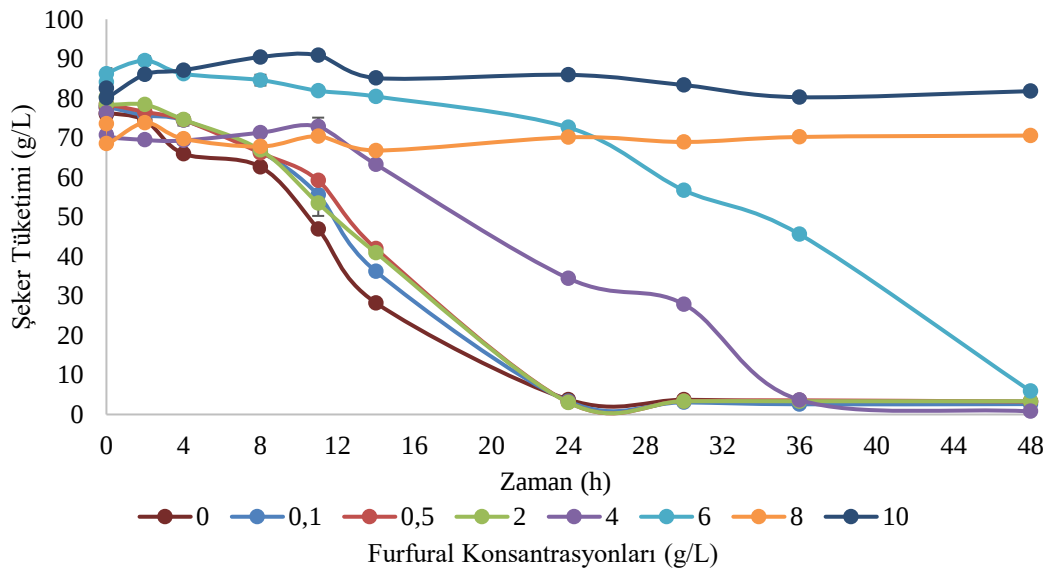
Model/HMF	Etanol Üretimi					Biyokütle Gelişimi					Şeker Tüketimi				
	RMSE (g/L)	MAE (g/L)	R ²	BF	AF	RMSE (g/L)	MAE (g/L)	R ²	BF	AF	RMSE (g/L)	MAE (g/L)	R ²	BF	AF
MGM	2,147	1,421	0,9832	0,899	1,182	0,100	0,073	0,9829	0,976	1,046	31,854	19,155	0,4645	0,584	1,711
MLM	2,109	1,900	0,9966	0,516	2,009	0,161	0,147	0,9874	0,969	1,098	35,406	25,317	0,4732	0,399	2,508
MRM	1,707	1,632	0,9969	0,518	1,946	0,690	0,628	0,9923	2,417	2,512	24,934	16,999	0,7519	0,472	2,189
Stannard	11,105	9,935	0,9672	0,478	4,013	0,661	0,600	0,9650	0,938	1,445	16,740	15,325	0,9485	0,598	2,004
Weibull	1,673	1,198	0,9908	2,029	2,064	0,090	0,065	0,9908	1,039	1,048	3,612	2,765	0,9954	0,992	1,093
MMF	1,272	0,932	0,9924	1,639	1,685	0,105	0,083	0,9910	1,058	1,058	4,225	3,671	0,9902	0,849	1,223
Asimetrik	9,748	6,559	0,8419	0,768	2,045	0,629	0,508	0,4200	0,904	1,240	28,677	28,729	0,3179	0,523	2,547
Baranyi	0,460	0,330	0,9993	1,904	1,922	0,843	0,811	0,9125	2,094	2,134	37,614	26,371	0,3445	0,396	2,523
Huang	0,513	0,363	0,9991	13,988	14,118	0,137	0,105	0,9735	1,019	1,063	37,616	26,372	0,3444	0,396	2,523
Fitzhugh	2,883	1,771	0,9751	279,677	296,019	0,166	0,122	0,9857	0,985	1,070	7,077	5,094	0,9769	1,128	1,226

4.3. Furfural İlavesi ile Gerçekleştirilen Fermentasyonlar

Saf karbon kaynağı olarak glukozun kullanıldığı kontrol besiyeri ortamına 0,1 g/L, 0,5 g/L, 2 g/L, 4 g/L, 6 g/L, 8 g/L ve 10 g/L olmak üzere 7 farklı konsantrasyonda furfural eklenmiş olup bu fermentasyonlar 2 tekerrürlü olarak gerçekleştirilmiştir. Her fermentasyondan 48 saat boyunca belirli aralıklar ile örnekler alınmıştır. Bu örneklerde şeker, etanol ve biyokütle analizleri yapılmıştır.

4.3.1. Furfural ilavesi ile gerçekleştirilen fermentasyonlarda şeker tüketimi

Şekil 4.5'te besiyerine 0,1 g/L'den 6 g/L'ye kadar furfural ilavesi ile gerçekleştirilen fermentasyonlarda ortamda bulunan şekerin tamamına yakınının tüketildiği görülmektedir. Fermentasyon ortamına 6 g/L'nin üzerinde ilave edilen 8 ve 10 g/L furfural konsantrasyonlarında ise şeker tüketiminin oldukça az olduğu belirlenmiştir. 8 g/L furfural eklenerek gerçekleştirilen fermentasyonda 73,537 g/L olan başlangıç şeker içeriği 48 saatin sonunda 70,571 g/L'ye düşmüştür. Aynı şekilde 10 g/L furfural eklenerek gerçekleştirilen fermentasyonda 82,526 g/L olan başlangıç şeker içeriği 48 saatin sonunda 81,807 g/L'ye düşmüştür. Besiyerine furfural ilavesinde immobilize hücrelerin maksimum tolerans sınırının 6 g/L olduğu görülmektedir. Bu konsantrasyonun üzerindeki furfural içeriğinde hücreler yeterince gelişmemekte ve şeker tüketimi de oldukça düşük kalmaktadır. Besiyerine farklı konsantrasyonlarda furfural ilavesinin şeker tüketiminde neden olduğu değişiklikler Şekil 4.5'te verilmiştir.

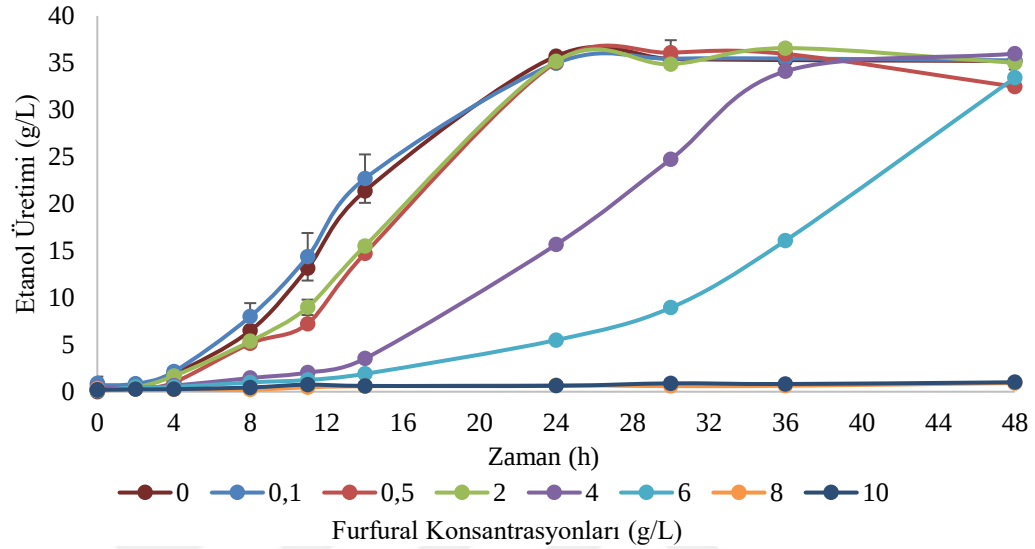


Şekil 4.5. Furfural ilavesinin şeker tüketimine etkisi

4.3.2. Furfural ilavesi ile gerçekleştirilen fermentasyonlarda etanol üretimi

Besiyerine 0,1 g/L'den 6 g/L'ye kadar furfural ilavesi ile gerçekleştirilen fermentasyonlarda ortamdaki şekerin kullanılması ile etanol üretimi başarılı bir şekilde gerçekleşmiştir. 6 g/L furfural konsantrasyonuna kadar tamamlanan fermentasyonlardan elde edilen etanol miktarı kontrol fermentasyonundan elde edilen üretim ile yakınlık

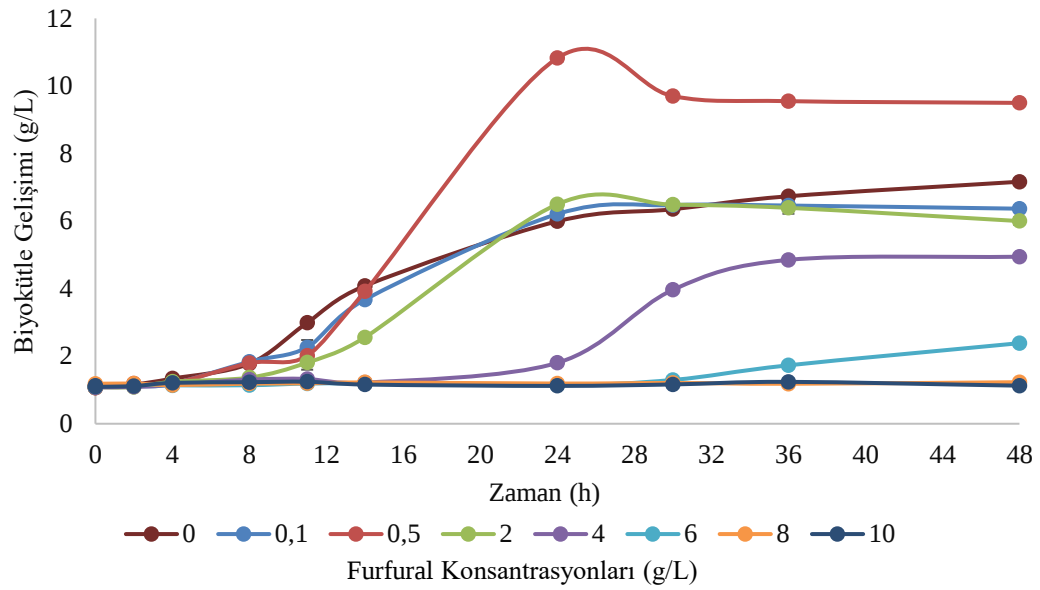
göstermektedir. 8 ve 10 g/L konsantrasyonlarda furfuralın eklenmesiyle gerçekleştirilen fermentasyonlarda ise sırasıyla 0,921 ve 1,005 g/L etanol üretilmiştir. Elde edilen tüm bu değer ile ortamda furfuralın 6 g/L konsantrasyonun üzerinde bulunmasının etanol üretimini tamamen inhibe ettiği görülmüştür. Etanol üretimindeki zamana karşı olan değişiklikler Şekil 4.6'da verilmiştir.



Şekil 4.6. Furfural ilavesinin etanol üretimine etkisi

4.3.3. Furfural İlavesi ile Gerçekleştirilen Fermentasyonlarda Biyokütle Gelişimi

Fermentasyon ortamına 0,1 g/L'den 6 g/L'ye kadar furfural ilave edilerek yapılan fermentasyonlarda ortamdaki şekerin kullanımına bağlı olarak biyokütle gelişimi gerçekleşmiş olup bu sayede etanol üretimleri gerçekleşmiştir. En yüksek biyokütle miktarı 10,828 g/L olup 0,5 g/L furfural ilavesi ile yapılan fermentasyondan elde edilmiştir. Ortama 6 g/L furfural ilavesi ile biyokütle gelişimi 2,385 g/L'ye düşmesine rağmen bu durum etanol üretimini ve verimini düşürmemiştir. 8 ve 10 g/L furfural konsantrasyonunda ise mikrobiyal gelişim daha da azalmış olup sırasıyla biyokütle miktarı sırasıyla 1,230 ve 1,127 g/L olarak elde edilmiştir. Şeker tüketimi ve etanol üretiminde 8 ve 10 g/L furfural konsantrasyonlarında inhibisyon gerçekleşmiştir. Buna ek olarak biyokütle gelişiminde 6 g/L furfural konsantrasyonundan itibaren gelişim sınırlandırılmıştır. Fakat 6 g/L konsantrasyonda görülen bu etki etanol üretimini olumsuz yönde etkilememiştir. Biyokütle gelişiminde oluşan bu değişimler Şekil 4.7'de verilmiştir.



Şekil 4.7. Furfural ilavesinin biyokütle gelişimine etkisi

4.3.4. Farklı furfural konsantrasyonlarında gerçekleştirilen fermentasyonların kinetik parametrelerinin karşılaştırılması

Besiyerine farklı konsantrasyonlarda furfural ilavesi ile gerçekleştirilen fermentasyonlardan hesaplanan kinetik parametreler Çizelge 4.6'da verilmiştir. Kontrol fermentasyonu ve furfural ilavesi ile gerçekleştirilen fermentasyonlarda en yüksek etanol verimi %49,234 ile kontrol fermentasyonundan elde edilmiştir. Furfural ilavesiyle gerçekleştirilen fermentasyonlar arasında ise kontrol fermentasyonu verimine yakın ve en yüksek etanol verimi %47,626 ile 0,5 g/L furfural ilave edilen fermentasyondan elde edilmiştir. Buna ek olarak inhibisyonun olmadığı 0,1 g/L, 2 g/L, 4 g/L ve 6 g/L furfural ilavesi ile gerçekleştirilen fermentasyonlarda etanol verimi sırasıyla %46,179, %47,067, %47,466 ve %39,854 olarak belirlenmiştir. 0,1 g/L, 0,5 g/L, 2 g/L ve 4 g/L furfural ilavesi ile yapılan fermentasyonların etanol verimi açısından aralarındaki farkın istatistiksel olarak önemli olmadığı görülmüştür ($P>0,05$). 8 ve 10 g/L furfural ilavesi ile inhibisyonun başladığı, en düşük etanol veriminin 10 g/L furfural ilavesi ile gerçekleştirilen fermentasyonda %5,402 olarak hesaplandığı görülmüştür. Kontrol fermentasyonundan elde edilen maksimum etanol verimi ile 10 g/L furfural ilavesi ile gerçekleştirilen fermentasyondan elde edilen minimum etanol verimi arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olduğu görülmüştür ($P<0,05$).

Kontrol fermentasyonu ve furfural ilavesi ile gerçekleştirilen fermentasyonlar arasında en yüksek biyokütle verimi %13,145 ile 0,5 g/L furfural ilavesi ile yapılan fermentasyondan elde edilmiştir. Kontrol fermentasyonu ile 0,1 ve 2 g/L furfural eklenerek yapılan fermentasyonlar arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olmadığı görülmüştür ($P>0,05$). Buna ek olarak biyokütle gelişiminin sınırlandığı 6, 8 ve 10 g/L furfural ilavesi olan fermentasyonlar arasında değerlerin yakınlık gösterdiği ve bu fermentasyonlardaki biyokütle gelişimlerinin farklılığının istatistiksel olarak önemli olmadığı belirlenmiştir ($P>0,05$). Yapılan fermentasyonlarda birim substrat başına minimum biyokütle verimi 10 g/L furfural ilavesi ile %1,381 olarak bulunmuştur.

Yapılan fermentasyonlar şeker kullanım oranı bakımından incelendiğinde ortamdaki şeker en çok 4 g/L furfural ilavesi ile gerçekleştirilen fermentasyonda kullanılmıştır. Kontrol fermentasyonundaki ve 0,5 g/L furfural ilavesi ile yapılan fermentasyonlarda şeker kullanım oranları yakınlık göstermektedir ve bu fermentasyonlar arasındaki şeker tüketim oranı farkı istatistiksel açıdan önemli bulunmamıştır ($P>0,05$). Bu değerlere ek olarak en düşük şeker kullanım oranları 8 ve 10 g/L furfural ilavesi ile gerçekleştirilen fermentasyonlardan sırasıyla %6,820 ve %11,671 olarak elde edilmiştir. Şeker kullanımı açısından inhibisyonun olduğu bu iki konsantrasyon arasında istatistiksel olarak bir farklılık görülmemiştir ($P>0,05$).

Spesifik üretim hızı (Q_p) değerleri incelendiğinden en yüksek Q_p değeri 2,444 g/L/h olarak 0,1 g/L furfural ilavesi ile gerçekleştirilmiş fermentasyondan elde edilmiştir. En düşük Q_p değeri ise 0,038 g/L/h olarak 10 g/L furfural ilave edilmiş fermentasyondan elde edilmiştir. 0,1 g/L furfural konsantrasyonunun üzerinde gerçekleşen fermentasyonlarda Q_p değerinde sürekli bir azalış gözlenmiştir. Elde edilen maksimum ve minimum Q_p değerleri arasında istatistiksel açıdan önemli bir fark görülmüştür ($P<0,05$). Spesifik gelişim hızı (Q_x) değerleri incelendiğinde en yüksek Q_x değeri 0,355 g/L/h olarak 0,5 g/L furfural ilavesi ile gerçekleştirilen fermentasyondan elde edilmiştir. En düşük Q_x değeri ise 6 ve 8 g/L furfural ilavesi ile gerçekleştirilmiş fermentasyonlardan 0,008 g/L/h olarak hesaplanmıştır. Elde edilen maksimum ve minimum Q_x değerleri arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir ($P<0,05$).

Yukarıda verilen değerlere ek olarak hesaplanan tüm kinetik parametreler Çizelge 4.6' da verilmiştir.

Çizelge 4.6. Furfural ilavesi ile kinetik parametrelerin değişimi

Furfural Konsantrasyonu (g/L)	ΔS (g/L)	ΔP (g/L)	ΔX (g/L)	$Y_{P/S}$ (%)	$Y_{X/S}$ (%)	TY (%)	SUY (%)	Q_X (g/L/h)	Q_P (g/L/h)	Q_S (g/L/h)
0	72,543 ^c ±2,548	35,716 ^a ±0,057	6,101 ^b ±0,000	49,234 ^a ±1,527	8,410 ^b ±0,273	92,984 ^a ±2,989	96,099 ^c ±0,346	0,310 ^{ba} ±0,077	1,800 ^b ±0,159	3,380 ^c ±0,170
0,1	75,272 ^{bc} ±0,265	34,760 ^a ±0,388	5,396 ^b ±0,045	46,179 ^a ±0,352	7,169 ^b ±0,034	90,369 ^a ±0,689	96,687 ^b ±0,134	0,306 ^{ba} ±0,010	2,447 ^a ±0,168	5,049 ^a ±0,085
0,5	75,422 ^{bc} ±1,028	35,921 ^a ±1,075	9,914 ^a ±0,042	47,626 ^a ±0,771	13,145 ^a ±0,127	93,202 ^a ±1,509	96,102 ^c ±0,152	0,355 ^a ±0,019	1,598 ^b ±0,016	4,045 ^{bc} ±0,018
2	77,355 ^{bc} ±2,130	36,408 ^a ±0,054	5,423 ^b ±0,106	47,067 ^a ±1,326	7,011 ^b ±0,333	92,107 ^a ±2,595	96,250 ^d ±2,954	0,198 ^{bc} ±0,014	1,690 ^b ±0,152	4,337 ^{ba} ±0,123
4	75,542 ^{bc} ±0,890	35,857 ^a ±0,080	3,774 ^c ±0,016	47,466 ^a ±0,439	4,996 ^c ±0,036	92,889 ^a ±0,859	98,976 ^a ±0,012	0,157 ^c ±0,045	1,090 ^c ±0,004	2,320 ^d ±0,204
6	83,632 ^a ±0,538	33,331 ^a ±0,046	1,282 ^d ±0,016	39,854 ^b ±0,218	1,533 ^d ±0,009	77,992 ^b ±0,427	93,405 ^e ±1,877	0,008 ^d ±0,000	0,881 ^c ±0,207	1,304 ^e ±0,615
8	5,034 ^d ±0,604	0,797 ^b ±0,062	0,097 ^e ±0,025	15,823 ^c ±0,636	1,918 ^d ±0,195	30,965 ^c ±1,244	6,820 ^a ±0,818	0,008 ^d ±0,000	0,055 ^d ±0,004	0,931 ^{fe} ±0,000
10	10,607 ^d ±0,064	0,573 ^b ±0,157	0,147 ^e ±0,044	5,402 ^d ±1,420	1,381 ^d ±0,396	10,572 ^d ±2,779	11,671 ^f ±0,070	0,011 ^d ±0,004	0,038 ^d ±0,020	0,472 ^f ±0,000

4.3.5. Furfural ilavesi ile gerçekleştirilen fermentasyonlara ait etanol üretimi, biyokütle gelişimi ve şeker tüketimi değerlerinin farklı matematiksel modellere uygulanması

2 g/L furfural ilavesi ile yapılan fermentasyondan elde edilen etanol üretimi, biyokütle gelişimi ve şeker tüketimi değerlerine 10 farklı model uygulanmış olup elde edilen veriler Çizelge 4.7’de verilmiştir. *RMSE*, *MAE* ve R^2 değerlerinin yanı sıra modellerin uyumluluğuna karar vermek için *BF* ve *AF* değerleri dikkate alınmıştır. *BF* değeri $0,95 \leq BF \leq 1,11$ ise değer model ile uyumludur. *BF* değeri $0,87 \leq BF < 0,95$ veya $1,11 < BF \leq 1,43$ ise model kabul edilebilirdir. *BF* değeri $BF < 0,87$ veya $BF > 1,43$ ise model kabul edilemezdir. *AF* değeri $1 \leq AF < 1,2$ ise değer model ile uyumludur. *AF* değeri $1,2 \leq AF \leq 1,3$ ise model kabul edilebilirdir. *AF* değeri $AF > 1,3$ ise model kabul edilemezdir.

Etanol üretimi için en düşük *RMSE* değeri (1,624 g/L) Fitzhugh modelden ve en düşük *MAE* değeri (0,8 g/L) ise MMF modelden elde edilmiştir. Etanol üretimi için en yüksek *RMSE* değeri (11,148 g/L) ve *MAE* değeri (10,421 g/L) Stannard modelden elde edilmiştir. Elde edilen verilerde en düşük R^2 değeri (0,9401) Stannard modelden, en yüksek R^2 değeri (0,9950) MMF modelden elde edilmiştir. Ayrıca Weibull (1,148) ve MGM (1,198) modelden elde edilen *BF* değerleri model için kabul edilebilir aralıktadır. MGM (1,198) modelden elde edilen *AF* değerleri model için uyumlu olan aralıktadır. Tüm bu değerler incelendiğinde etanol üretimi için en uygun model MGM model olarak seçilmiştir.

Biyokütle gelişimi için en düşük *RMSE* değeri (0,399 g/L) ve *MAE* değeri (0,234 g/L) Weibull modelden en yüksek *RMSE* değeri (2,326 g/L) ise Asimetrik modelden ve en yüksek *MAE* değeri (2,155 g/L) Stannard modelden elde edilmiştir. Elde edilen verilerde en düşük R^2 değeri (0,2280) Asimetrik modelden, en yüksek R^2 değeri (0,9946) MMF modelden elde edilmiştir. Ayrıca MGM (0,967) ve MMF (1,072) modelden elde edilen *BF* değerleri model için uyumlu olan aralıktadır. MGM (1,099), MLM (1,172), Weibull (1,097), MMF (1,075) ve Huang (1,116) modelden elde edilen *AF* değerleri model için uyumlu olan aralıktadır. Tüm bu değerler incelendiğinde biyokütle gelişimi için en uygun model MMF model olarak seçilmiştir.

Şeker tüketimi için en düşük *RMSE* değeri (3,468 g/L) ve *MAE* değeri (1,940 g/L) Weibull modelden en yüksek *RMSE* değeri (34,235 g/L) ve *MAE* değeri (23,467 g/L) ise Huang modelden elde edilmiştir. Elde edilen verilerde en düşük R^2 değeri (0,4301) Huang modelden, en yüksek R^2 değeri (0,9935) Asimetrik modelden elde edilmiştir. Fitzhugh (1,000), MMF (1,003) ve Weibull (1,022) modelden elde edilen *BF* değeri model için uyumlu olan aralıktadır. Weibull (1,052) ve Fitzhugh (1,101) modelden elde edilen *AF* değerleri model için uyumlu olan aralıktadır. Tüm bu değerler incelendiğinde şeker tüketimi için en uygun model Weibull model olarak seçilmiştir.

2 g/L furfural ilavesi ile gerçekleştirilen fermentasyondan elde edilen etanol üretimi, biyokütle gelişimi ve şeker tüketimi verilerine uygulanan modellerin kıyaslandığı grafikler EK-13, EK-14 ve EK-15’te verilmiştir. Bu veriler için hesaplanan model parametreleri EK-16, EK-17 ve EK-18’de verilmiştir.

Çizelge 4.7. 2 g/L furfural ilavesi ile gerçekleştirilen fermentasyondan elde edilen verilere uygulanan matematiksel modellerin karşılaştırılması

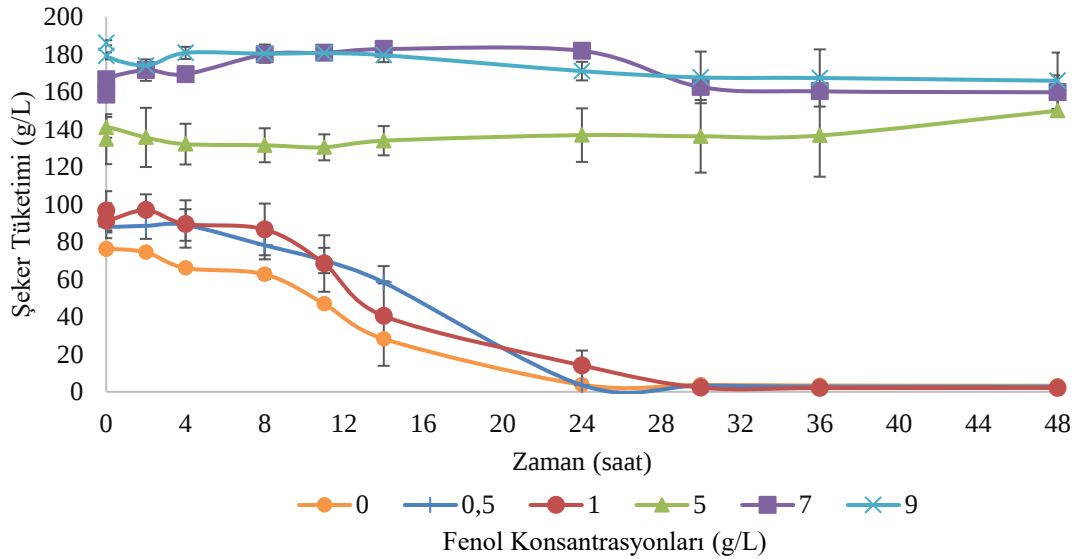
Model/ Furfural	Etanol Üretimi					Biyokütle Gelişimi					Şeker Tüketimi				
	RMSE (g/L)	MAE (g/L)	R ²	BF	AF	RMSE (g/L)	MAE (g/L)	R ²	BF	AF	RMSE (g/L)	MAE (g/L)	R ²	BF	AF
MGM	2,435	1,714	0,9905	1,198	1,198	0,444	0,292	0,9737	0,967	1,099	33,020	23,300	0,4930	0,374	2,675
MLM	2,755	2,279	0,9784	0,676	1,752	0,441	0,344	0,9812	0,872	1,172	32,555	23,162	0,5167	0,373	2,682
MRM	3,031	2,539	0,9784	0,675	1,780	0,559	0,452	0,9820	1,729	1,777	29,461	20,250	0,5688	0,406	2,466
Stannard	11,148	10,421	0,9401	0,535	3,472	2,278	2,155	0,8690	0,746	2,106	17,234	15,585	0,9325	0,529	2,256
Weibull	2,524	1,539	0,9779	1,148	1,379	0,399	0,234	0,9790	0,931	1,097	3,468	1,940	0,9900	1,022	1,052
MMF	1,118	0,800	0,9950	2,021	2,077	0,227	0,159	0,9946	1,072	1,075	7,545	4,545	0,9542	1,003	1,199
Asimetrik	1,808	1,245	0,9860	1,699	1,898	2,326	1,881	0,2280	0,673	1,835	4,362	19,841	0,9935	0,780	1,282
Baranyi	2,575	2,062	0,9793	2,875	2,918	1,790	0,999	0,8246	1,406	1,599	34,233	23,467	0,4302	0,408	2,448
Huang	2,500	1,862	0,9833	22,398	22,466	0,472	0,274	0,9689	0,934	1,116	34,235	23,467	0,4301	0,408	2,448
Fitzhugh	1,624	1,180	0,9909	13,346	13,898	1,042	0,881	0,8675	0,841	1,354	5,168	3,200	0,9783	1,000	1,101

4.4. Fenol İlavesi ile Gerçekleştirilen Fermentasyonlar

Saf karbon kaynağı olarak glukozun kullanıldığı kontrol besiyeri ortamına 0,5 g/L, 1 g/L, 5 g/L, 7 g/L, 9 g/L olmak üzere 5 farklı konsantrasyonda fenol eklenmiş olup bu fermentasyonlar 2 tekerrürlü olarak gerçekleştirilmiştir. Her fermentasyondan 48 saat boyunca belirli aralıklar ile örnekler alınmıştır. Bu örnekler ile şeker, etanol ve biyokütle analizleri yapılmıştır.

4.4.1. Fenol ilavesi ile gerçekleştirilen fermentasyonlarda şeker tüketimi

Kontrol fermentasyonuna ek olarak 0,5 ve 1 g/L fenol ilavesi ile gerçekleştirilen fermentasyonlarda ortamda bulunan şeker hücreler tarafından kullanılmıştır. Bu üç fermentasyonda belirlenen şeker tüketimi birbirleriyle yakınlık göstermektedir. Ancak besiyerine 5 g/L fenol eklenmesi ile ortamda inhibisyon başlamıştır. Fenolün inhibe edici etkisi nedeniyle immobilize *Saccharomyces cerevisiae* hücreleri ortamdaki şekeri kullanamamıştır. Bundan dolayı mikrobiyal gelişim inhibe olmuş ve şeker tüketimi gözlemlenmemiştir. Benzer şekilde 5 g/L fenol konsantrasyonunun üzerinde yapılan 7 ve 9 g/L fenol ilavesi ile gerçekleşen fermentasyonlarda da aynı inhibisyon meydana gelmiştir. Tüm bunlara ek olarak ortama ilave edilen fenol konsantrasyonuna bağlı olarak analiz sonuçlarından elde edilen şeker miktarlarında artış saptanmıştır. Bunun nedeni DNSA ile şeker analizi metodunda fenol ile DNSA bileşiğinin tepkimeye girip analiz edilecek örneğin rengini koyulaştırmasıdır (Miller, 1959). Şeker tüketiminde ve miktarında zamana karşı oluşan bu değişiklikler Şekil 4.8’de verilmiştir.

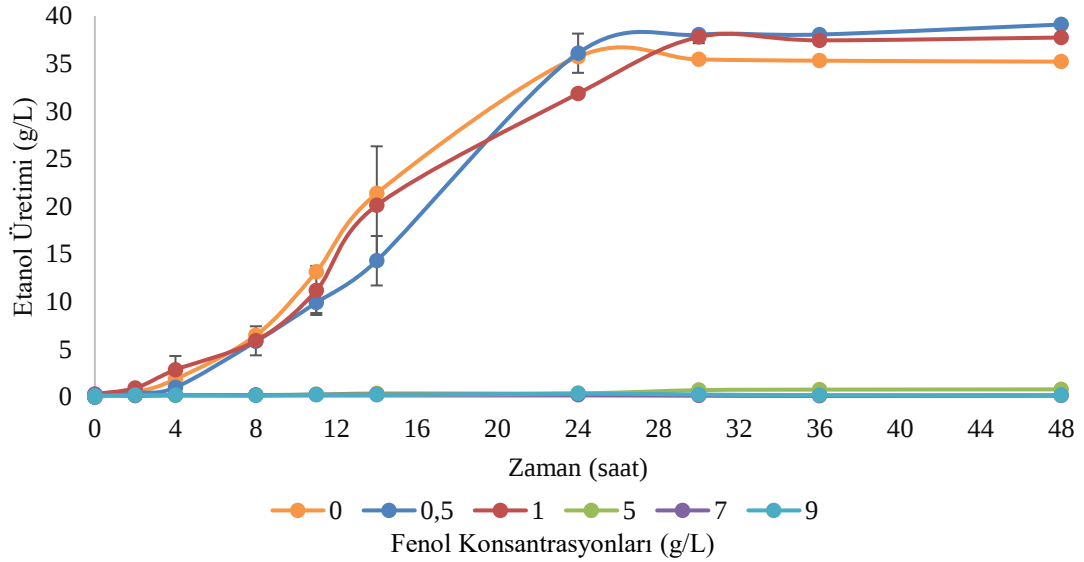


Şekil 4.8. Fenol ilavesinin şeker tüketimine etkisi

4.4.2. Fenol ilavesi ile gerçekleştirilen fermentasyonlarda etanol üretimi

Kontrol fermentasyonu ile 0,5 ve 1 g/L fenol ilavesi ile gerçekleştirilen fermentasyonlarda etanol üretimi sırasıyla 35,200 g/L, 39,039 g/L ve 37,731 g/L olarak belirlenmiştir. Bu fermentasyonlarda mikrobiyal gelişim inhibe olmadığı için etanol

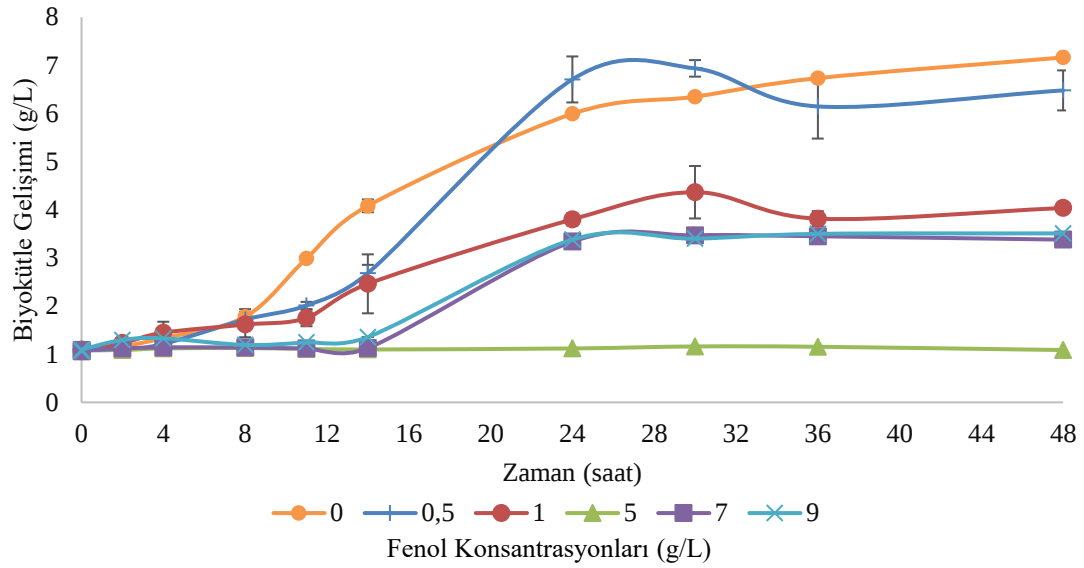
üretimleri gerçekleşmiştir. 5, 7 ve 9 g/L fenol ilavesi ile gerçekleştirilen fermentasyonlarda elde edilen etanol miktarı sırasıyla 0,805 g/L, 0,160 g/L ve 0,207 g/L olmuştur. Bu fermentasyonda ortamdaki fenolün inhibe edici etkisi ile etanol üretimi tamamen sınırlandırılmıştır. Etanol üretimi üzerinde fenolün 5 g/L ve üzeri konsantrasyonlarda inhibe edici etkisinin maksimum olduğu görülmüştür. Etanol üretimi üzerinde oluşan bu değişiklik Şekil 4.9'da verilmiştir.



Şekil 4.9. Fenol ilavesinin etanol üretimine etkisi

4.4.3. Fenol ilavesi ile gerçekleştirilen fermentasyonlarda biyokütle gelişimi

Kontrol fermentasyonunda 48. saat sonunda 7,164 g/L biyokütle gelişimi elde edilmiştir. Bunun yanında besiyerine 0,5 g/L fenol ilavesi ile gerçekleştirilen fermentasyonda 6,480 g/L biyokütle gelişimi elde edilmiştir. İnhibisyonun olmadığı diğer bir konsantrasyon olan 1 g/L fenol ilavesinde biyokütle gelişimi nispeten azalarak 4,037 g/L olarak elde edilmiştir. 5 g/L fenol ilavesi ile gerçekleştirilen fermentasyonda 1,162 g/L, 7 g/L fenol ilavesi ile gerçekleştirilen fermentasyonda 3,470 g/L ve 9 g/L fenol ilavesi ile gerçekleştirilen fermentasyondan 3,510 g/L biyokütle gelişimi elde edilmiştir. 1 g/L'nin üzerindeki fenol konsantrasyonlarında ise immobilize *Saccharomyces cerevisiae* hücrelerinin gelişimi sınırlanmış olup gelişim azalmıştır. Biyokütle gelişiminde gözlenen bu değişimler Şekil 4.10'da verilmiştir.



Şekil 4.10. Fenol ilavesinin biyokütle gelişimine etkisi

4.4.4. Farklı fenol konsantrasyonlarında gerçekleştirilen fermentasyonların kinetik parametrelerinin karşılaştırılması

Besiyerine farklı konsantrasyonlarda fenol ilavesi ile gerçekleştirilen fermentasyonlardan hesaplanan kinetik parametreler Çizelge 4.8’de verilmiştir. En yüksek etanol verimi %49,234 ile kontrol fermentasyonundan elde edilmiştir. Fenol ilavesiyle gerçekleştirilen fermentasyonlar arasında ise kontrol fermentasyonu verimine yakın olan en yüksek etanol verimi %44,461 ile 0,5 g/L fenol ilave edilen fermentasyondan elde edilmiştir. Buna ek olarak inhibisyonun olmadığı 1 g/L fenol ilavesi ile gerçekleştirilen fermentasyonda etanol verimi %39,809 olarak hesaplanmıştır. Besiyerine 0,5 g/L ve 1 g/L fenol ilavesi ile yapılan fermentasyonlara ait etanol verimleri arasındaki farkın istatistiksel olarak önemsiz olduğu belirlenmiştir ($P>0,05$). Ortama 5 g/L fenol ilavesi ile inhibisyonun başlamış ve en düşük etanol verimi ise 7 g/L fenol ilavesi ile gerçekleştirilen fermentasyonda %1,052 olarak bulunmuştur. Kontrol fermentasyonundan elde edilen maksimum etanol verimi ile 7 g/L fenol ilavesi ile gerçekleştirilen fermentasyondan elde edilen minimum etanol verimi arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olduğu görülmüştür ($P<0,05$).

Kontrol fermentasyonu ve fenol ilavesi ile gerçekleştirilen fermentasyonlar arasında birim substrat başına en yüksek biyokütle verimi %12,071 ile 9 g/L fenol ilavesi ile yapılan fermentasyondan elde edilmiştir. Ancak daha önce belirtildiği gibi yüksek fenol konsantrasyonları şeker analiz sonuçlarının da yüksek çıkmasına neden olmaktadır. Bu nedenle bu kısımda maksimum mikrobiyal gelişme hızlarını değerlendirmek daha doğru olacaktır. Yapılan fermentasyonlara bakılacak olursa en yüksek Q_x değeri 0,327 g/L/h olarak 0,5 g/L fenol ilavesi ile elde edilmiştir. En düşük Q_x değeri ise 0,004 g/L/h olarak 5 g/L fenol ilavesi ile elde edilmiştir. Kontrol fermentasyonundan ve 0,5 g/L fenol ilavesi ile yapılan fermentasyondan elde edilen Q_x değerleri ile fenol eklenerek yapılan diğer fermentasyonlardan elde edilen Q_x değerleri arasında istatistiksel açıdan önemli bir fark görülmüştür ($P<0,05$).

Yapılan fermentasyonlar diğ er bir parametre olan spesifik üretim hızı (Q_P) tarafından da incelenmiştir. Maksimum Q_P 2,369 g/L/h olarak 1 g/L fenol ilavesi ile elde edilmiştir. 5, 7 ve 9 g/L fenol ilavesi ile elde edilen Q_P değerleri fermentasyonun inhibisyona uğraması ile azalmıştır. 5, 7 ve 9 g/L fenol ilavesi ile gerçekleştirilen fermentasyonlardan sırasıyla 0,014 g/L/h, 0,011 g/L/g ve 0,009 g/L/h Q_P değerleri elde edilmiştir. İnhibisyonun gerçekleştiği bu 3 fermentasyondan elde edilen Q_P değerleri arasında farkın istatistiksel olarak önemsiz olduğu belirlenmiştir ($P>0,05$). 1 g/L fenol ilaveli fermentasyondan elde edilen maksimum Q_P değeri (2,369 g/L/h) ile 9 g/L fenol ilaveli fermentasyondan elde edilen minimum Q_P değeri (0,009 g/L/h) arasında istatistiksel açıdan önemli bir fark görülmüştür ($P<0,05$).

Yukarıda verilen değerlere ek olarak hesaplanan tüm kinetik parametreler  izelge 4.8’de verilmiştir.

Çizelge 4.8. Fenol ilavesi ile kinetik parametrelerin değişimi

Fenol Konsantrasyonu (g/L)	ΔS (g/L)	ΔP (g/L)	ΔX (g/L)	$Y_{P/S}$ (%)	$Y_{X/S}$ (%)	TY (%)	SUY (%)	Q_X (g/L/h)	Q_P (g/L/h)	Q_S (g/L/h)
0	72,543 ^c ±2,548	35,716 ^a ±0,057	6,101 ^a ±0,000	49,234 ^a ±1,527	8,410 ^{ba} ±0,273	92,984 ^a ±2,989	96,099 ^a ±0,346	0,310 ^{ba} ±0,077	1,800 ^b ±0,159	3,380 ^a ±0,170
0,5	87,887 ^b ±6,144	39,075 ^a ±0,012	5,874 ^a ±0,248	44,461 ^{ba} ±3,017	6,684 ^{ba} ±0,738	87,007 ^{ba} ±5,904	96,988 ^a ±0,294	0,372 ^a ±0,098	0,163 ^c ±0,019	0,069 ^b ±0,191
1	94,908 ^a ±9,209	37,782 ^a ±0,285	3,302 ^b ±0,405	39,809 ^{ba} ±3,575	3,479 ^{bc} ±0,074	77,904 ^b ±6,997	97,934 ^a ±0,124	0,152 ^{bc} ±0,032	2,369 ^a ±0,137	2,411 ^{ba} ±0,048
5	19,498 ^e ±0,019	0,805 ^b ±0,000	0,098 ^d ±0,029	4,129 ^c ±0,002	0,504 ^c ±0,107	8,080 ^c ±0,004	13,011 ^b ±1,498	0,004 ^c ±0,001	0,014 ^c ±0,004	2,233 ^{ba} ±0,050
7	24,270 ^d ±0,345	0,255 ^b ±0,035	2,407 ^c ±0,008	1,052 ^c ±0,160	9,916 ^a ±0,104	2,058 ^c ±0,314	15,196 ^b ±0,445	0,154 ^{bc} ±0,011	0,011 ^c ±0,000	1,143 ^{ba} ±1,182
9	20,268 ^d ±8,929	0,354 ^b ±0,006	2,446 ^c ±0,000	1,748 ^c ±0,526	12,071 ^a ±3,789	3,420 ^c ±1,030	10,891 ^b ±4,916	0,135 ^{bc} ±0,025	0,009 ^c ±0,012	0,752 ^{ba} ±1,281

4.4.5. Fenol ilavesi ile gerçekleştirilen fermentasyonlara ait etanol üretimi, biyokütle gelişimi ve şeker tüketimi değerlerinin farklı matematiksel modellere uygulanması

Besiyerine 0,5 g/L fenol ilavesi ile yapılan fermentasyondan elde edilen etanol üretimi, biyokütle gelişimi ve şeker tüketimi değerlerine 10 farklı model uygulanmış olup elde edilen veriler Çizelge 4.9’da verilmiştir. *RMSE*, *MAE* ve R^2 değerlerinin yanı sıra modellerin uyumluluğuna karar vermek için *BF* ve *AF* değerleri dikkate alınmıştır. *BF* değeri $0,95 \leq BF \leq 1,11$ ise değer model ile uyumludur. *BF* değeri $0,87 \leq BF < 0,95$ veya $1,11 < BF \leq 1,43$ ise model kabul edilebilirdir. *BF* değeri $BF < 0,87$ veya $BF > 1,43$ ise model kabul edilemezdir. *AF* değeri $1 \leq AF < 1,2$ ise değer model ile uyumludur. *AF* değeri $1,2 \leq AF \leq 1,3$ ise model kabul edilebilirdir. *AF* değeri $AF > 1,3$ ise model kabul edilemezdir.

Etanol üretimi için en düşük *RMSE* değeri (0,394 g/L) ve *MAE* değeri (0,240 g/L) Huang modelden en yüksek *RMSE* değeri (12,079 g/L) ve *MAE* değeri (10,639 g/L) ise Stannard modelden elde edilmiştir. Elde edilen verilerde en düşük R^2 değeri (0,9550) Stannard modelden, en yüksek R^2 değeri (0,9996) Huang modelden elde edilmiştir. Ayrıca Baranyi (1,160) modelden elde edilen *BF* değeri model için uyumlu olan aralıktadır. Baranyi (1,203) modelden elde edilen *AF* değeri de model için kabul edilebilir aralıktadır. Tüm bu değerler incelendiğinde etanol üretimi için en uygun model Baranyi model olarak seçilmiştir.

Biyokütle gelişimi için en düşük *RMSE* değeri (0,343 g/L) ve *MAE* değeri (0,246 g/L) Weibull modelden en yüksek *RMSE* değeri (2,277 g/L) ve *MAE* değeri (2,115 g/L) ise Stannard modelden elde edilmiştir. Elde edilen verilerde en düşük R^2 değeri (0,3193) Asimetrik modelden, en yüksek R^2 değeri (0,9840) Weibull modelden elde edilmiştir. Ayrıca MGM (0,968), Weibull (0,990) ve MMF (1,033) modelden elde edilen *BF* değerleri model için uyumlu olan aralıktadır. MGM (1,092), MLM (1,192), Weibull (1,071) ve MMF (1,098) modelden elde edilen *AF* değerleri de model için uyumlu olan aralıktadır. Tüm bu değerler incelendiğinde biyokütle gelişimi için en uygun model Weibull model olarak seçilmiştir.

Şeker tüketimi için en düşük *RMSE* değeri (2,545 g/L) ve *MAE* değeri (1,736 g/L) Weibull modelden en yüksek *RMSE* değeri (35,286 g/L) ve *MAE* değeri (22,573 g/L) ise Baranyi modelden elde edilmiştir. Elde edilen verilerde en düşük R^2 değeri (0,4498) Baranyi modelden, en yüksek R^2 değeri (0,9962) Weibull modelden elde edilmiştir. Ayrıca Weibull (0,923) ve Fitzhugh (0,936) modelden elde edilen *BF* değeri model için kabul edilebilir aralıktadır. Weibull (1,109) ve Fitzhugh (1,1) modelden elde edilen *AF* değerleri de model için uyumlu olan aralıktadır. Tüm bu değerler incelendiğinde şeker tüketimi için en uygun model Weibull model olarak seçilmiştir.

0,5 g/L fenol ilavesi ile gerçekleştirilen fermentasyondan elde edilen etanol üretimi, biyokütle gelişimi ve şeker tüketimi verilerine uygulanan modellerin kıyaslandığı grafikler EK-19, EK-20 ve EK-21’de verilmiştir. Bu veriler için hesaplanan model parametreleri EK-22, EK-23 ve EK-24’te verilmiştir.

Çizelge 4.9. 0,5 g/L fenol ilavesi ile gerçekleştirilen fermentasyondan elde edilen verilere uygulanan matematiksel modellerin karşılaştırılması

Model/Fenol	Etanol Üretimi					Biyokütle Gelişimi					Şeker Tüketimi				
	RMSE (g/L)	MAE (g/L)	R ²	BF	AF	RMSE (g/L)	MAE (g/L)	R ²	BF	AF	RMSE (g/L)	MAE (g/L)	R ²	BF	AF
MGM	1,612	1,436	0,9970	0,599	1,731	0,481	0,350	0,9633	0,968	1,092	28,758	15,061	0,6287	0,599	1,670
MLM	2,451	2,118	0,9961	0,449	2,295	0,497	0,444	0,9744	0,859	1,192	33,390	22,050	0,5720	0,379	1,638
MRM	2,462	2,306	0,9971	0,444	2,252	0,602	0,548	0,9735	1,621	1,687	24,083	16,074	0,7282	0,470	2,219
Stannard	12,079	10,639	0,9550	0,456	4,076	2,277	2,115	0,8471	0,765	2,100	16,595	14,306	0,9383	0,498	2,321
Weibull	1,335	0,969	0,9958	1,385	1,437	0,343	0,246	0,9840	0,990	1,071	2,545	1,736	0,9962	0,923	1,109
MMF	1,208	0,753	0,9944	1,509	1,568	0,351	0,275	0,9822	1,033	1,098	4,074	3,096	0,9914	0,835	1,224
Asimetrik	2,308	1,262	0,9822	1,339	1,524	2,090	1,814	0,3193	0,717	1,764	26,263	21,045	0,9066	0,364	2,861
Baranyi	1,995	0,716	0,9905	1,160	1,203	1,934	1,112	0,8040	1,391	1,633	35,286	22,573	0,4998	0,406	2,466
Huang	0,394	0,240	0,9996	2,131	2,155	0,540	0,346	0,9670	0,932	1,116	35,277	22,569	0,5001	0,406	2,466
Fitzhugh	2,279	1,597	0,9850	16,951	18,104	0,882	0,669	0,8958	0,864	1,266	5,115	3,338	0,9867	0,936	1,100

4.5. Asetik Asit İlavesi ile pH Kontrollü Gerçekleştirilen Fermentasyonlar

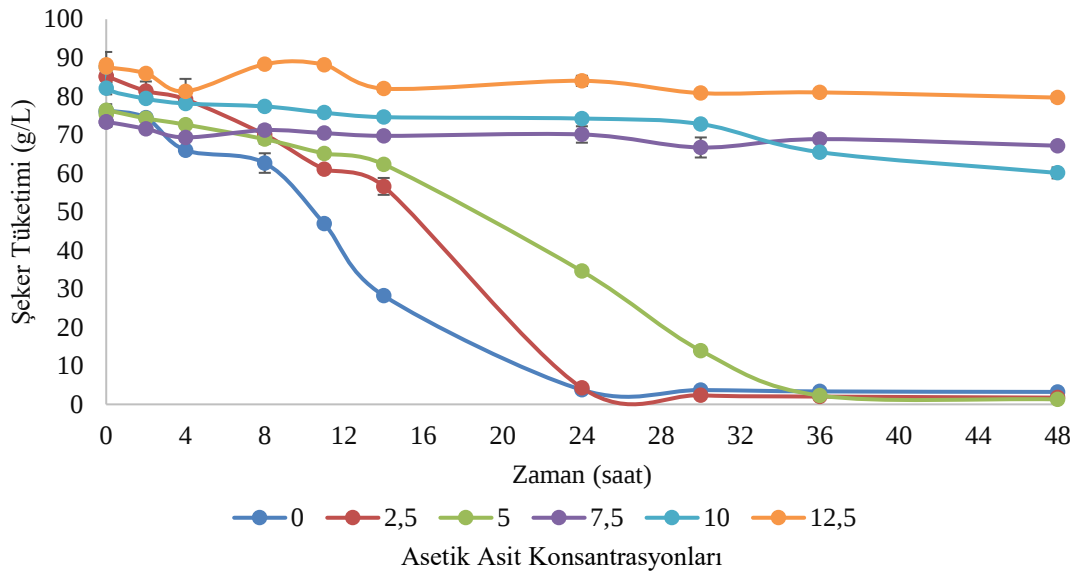
Besiyerinde inhibitör olarak asetik asit kullanılarak gerçekleştirilen fermentasyonlarda 2,5 g/L, 5 g/L, 7,5 g/L, 10 g/L ve 12,5 g/L konsantrasyonlarda asetik asit fermentasyon ortamına ilave edilmiştir. Kontrol fermentasyonuna asetik asit ilavesi yapılmamış olup immobilize *Saccharomyces cerevisiae* hücreleri tarafından ortamdaki şeker sorunsuzca tüketilmiş olup etanol üretimi de gerçekleşmiştir. Minimum konsantrasyon olan 2,5 g/L asetik asit ilavesi ile pH kontrollü gerçekleştirilen fermentasyonda ortamda bulunan şekerin %96,803'ü kullanılarak 35,251 g/L etanol üretimi ve 4,393 g/L biyokütle gelişimi elde edilmiştir. Maksimum konsantrasyon olan 12,5 g/L asetik asit ilavesi ile pH kontrollü gerçekleştirilen fermentasyonda ortamda bulunan şekerin %95,666'sı kullanılarak 35,110 g/L etanol üretimi ve 3,311 g/L biyokütle gelişimi elde edilmiştir. Görüldüğü gibi asetik asit eklenerek gerçekleştirilen fermentasyonlarda da aynı kontrol fermentasyonunda olduğu gibi etanol üretimi gözlemlenmiştir. Fermentasyon boyunca pH'nın sabit tutulması için ilave edilen baz asetik asitin ortamdaki inhibe edici etkisini ortadan kaldırmıştır. Asit ile baz nötrleştiği için asetik asit ile yapılan pH kontrollü fermentasyonlarda inhibisyon görülmemiştir. Bundan dolayı çalışma kapsamında kullanılan asetik asidin inhibe edici etkisi araştırılırken pH kontrolsüz olarak da fermentasyonlar gerçekleştirilmiştir.

4.6. Asetik Asit İlavesi ile pH Kontrolsüz Gerçekleştirilen Fermentasyonlar

Saf karbon kaynağı olarak glukozun kullanıldığı kontrol besiyeri ortamına 2,5 g/L, 5 g/L, 7,5 g/L, 10 g/L ve 12,5 g/L olmak üzere 5 farklı konsantrasyonda asetik asit eklenmiş olup bu fermentasyonlar pH kontrolsüz olmak üzere 2 tekerrürlü olarak gerçekleştirilmiştir. Her fermentasyondan 48 saat boyunca belirli aralıklar ile örnekler alınmıştır. Bu örnekler ile şeker, etanol ve biyokütle analizleri yapılmıştır. Elde edilen analiz sonuçları zamana bağlı olarak ayrı ayrı grafik edilmiş olup aşağıda verilmiştir.

4.6.1. Asetik asit ilavesi ile pH kontrolsüz gerçekleştirilen fermentasyonlarda şeker tüketimi

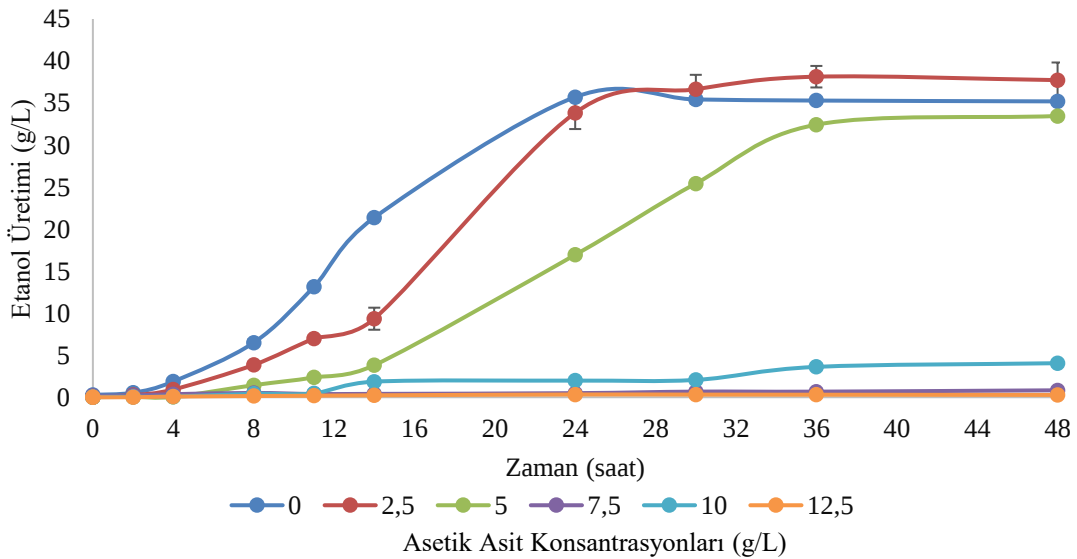
Asetik asit ilavesi olmadan yapılan kontrol fermentasyonunda ortamdaki şeker hücreler tarafından sorunsuzca kullanılmıştır. 2,5 ve 5 g/L asetik asit ilavesi ile yapılan fermentasyonlarda kontrol fermentasyonunda olduğu gibi şeker tüketimi gözlemlenmiştir. Bu iki fermentasyonda başlangıç şeker içerikleri 84,953 g/L ve 75,272 g/L'den sırasıyla 1,755 ve 1,306 g/L'ye düşmüştür. Besiyerine 7,5 g/L asetik asidin ilave edilmesi ile ortamda inhibisyon başlamıştır. Konsantrasyonun 10 ve 12,5 g/L asetik asit ilavesi ile artmasıyla da inhibisyon tamamen gözlenmiş ve şeker tüketimi oldukça düşmüştür. Bundan dolayı maksimum konsantrasyon olan 12,5 g/L asetik asit ilavesiyle 88,189 g/L olan şeker içeriği 48. saat sonunda 79,650 g/L'ye düşmüştür. Şeker tüketiminde gözlenen bu değişimler Şekil 4.11'de verilmiştir.



Şekil 4.11. Asetik asit ilavesinin şeker tüketimine etkisi

4.6.2. Asetik asit ilavesi ile pH kontrolsüz gerçekleştirilen fermentasyonlarda etanol üretimi

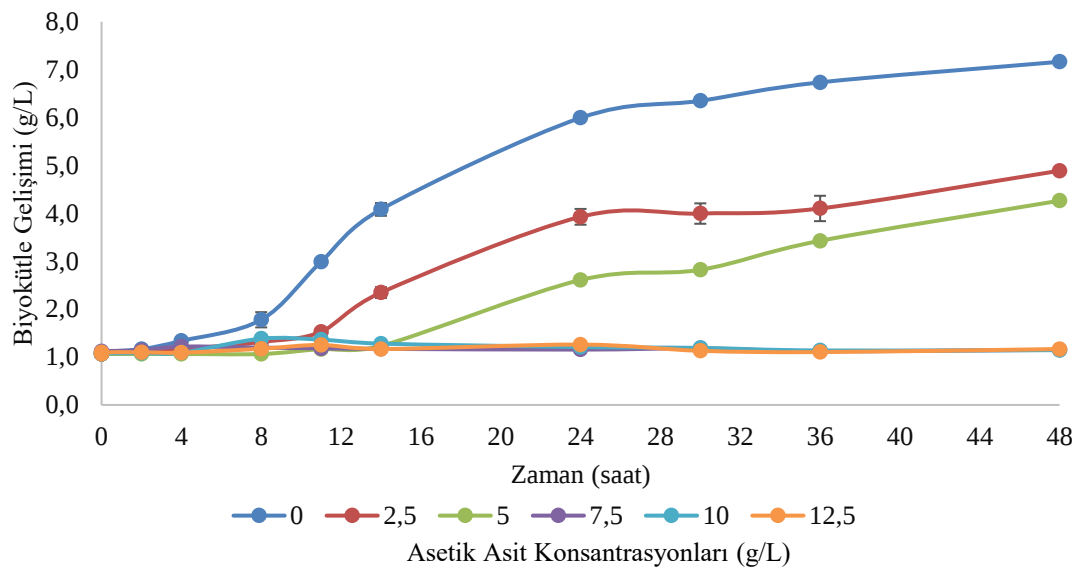
Asetik asit ilavesi olmadan yapılan kontrol fermentasyonunda ortamdaki şeker hücreler tarafından sorunsuzca kullanıldığından etanol üretimi de gerçekleşmiştir. Besiyesine 2,5 ve 5 g/L asetik asit ilavesi ile yapılan fermentasyonlarda sırasıyla 37,730 g/L ve 33,460 g/L, kontrol fermentasyonunda ise 35,2 g/L etanol üretilmiştir. 7,5 g/L asetik asidin ilave edilmesi ile ortamda inhibisyonun başlamış ve etanol üretimi 0,825 g/L'ye düşmüştür. Maksimum konsantrasyon olan 12,5 g/L asetik asit ilavesiyle 48. saat sonunda 0,272 g/L etanol elde edilmiştir. Etanol üretiminde gözlenen bu değişimler Şekil 4.12'de verilmiştir.



Şekil 4.12. Asetik asit ilavesinin etanol üretimine etkisi

4.6.3. Asetik asit ilavesi ile pH kontrolsüz gerçekleştirilen fermentasyonlarda biyokütle gelişimi

Kontrol fermentasyonunda 48. saatin sonunda biyokütle gelişimi 7,164 g/L olarak elde edilmiştir. Şeker tüketimi ve etanol üretimi açısından inhibisyonun olmadığı 2,5 ve 5 g/L asetik asit ilavesi ile gerçekleştirilen fermentasyonlarda sırasıyla 4,890 ve 4,264 g/L biyokütle gelişimi meydana gelmiştir. Ortama 7,5 g/L asetik asit ilavesi ile başlayan inhibisyon nedeniyle immobilize *Saccharomyces cerevisiae* hücrelerinin gelişimini sınırlandırmıştır. Biyokütle gelişimindeki bu sınırlandırma ile 7,5 g/L, 10 g/L ve 12,5 g/L asetik asit ilavesi ile gerçekleştirilen fermentasyonlarda sırasıyla 1,150 g/L, 1,143 g/L ve 1,167 g/L biyokütle gelişimi meydana gelmiştir. Biyokütle gelişiminde meydana gelen bu değişimler Şekil 4.13'te verilmiştir.



Şekil 4.13. Asetik asit ilavesinin biyokütle gelişimine etkisi

4.6.4. Farklı konsantrasyonlarda asetik asit ilavesi ile pH kontrolsüz gerçekleştirilen fermentasyonların kinetik parametrelerinin karşılaştırılması

Asetik asit ilavesi ile pH kontrolsüz gerçekleştirilen fermentasyonlardan hesaplanan kinetik parametreler Çizelge 4.10'da verilmiştir. Kontrol fermentasyonunda en yüksek etanol verimi %49,234 olarak belirlenmiştir. Asetik asit ilavesiyle gerçekleştirilen fermentasyonlar arasında ise kontrol fermentasyonu verimine yakın ve en yüksek etanol verimi %45,648 ile 2,5 g/L asetik asit ilave edilen fermentasyondan elde edilmiştir. Ayrıca inhibisyonun olmadığı 5 g/L asetik asit ilavesi ile gerçekleştirilen fermentasyonda etanol verimi %44,604 olarak hesaplanmıştır. Kontrol fermentasyonu, 2,5 g/L ve 5 g/L asetik asit ilavesi ile yapılan fermentasyonların etanol verimleri arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olmadığı belirlenmiştir ($P > 0,05$). Ortama 7,5 g/L asetik asit ilavesi ile inhibisyonun başladığı, en düşük etanol veriminin 12,5 g/L asetik asit ilavesi ile gerçekleştirilen fermentasyonda %7,443 olarak hesaplandığı görülmüştür. Kontrol fermentasyonundan elde edilen maksimum etanol verimi ile 12,5 g/L asetik asit

ilavesi ile gerçekleştirilen fermentasyondan elde edilen minimum etanol verimi arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olduğu görülmüştür ($P<0,05$).

Kontrol fermentasyonunda birim substrat üzerinden en yüksek biyokütle verimi %8,410 ile kontrol fermentasyonundan elde edilmiştir. Yapılan fermentasyonlarda maksimum biyokütle verimi 2,5 g/L asetik asit ilavesi ile %4,580 olarak elde edilirken minimum biyokütle verimi 10 g/L asetik asit ilavesi ile %1,026 olarak bulunmuştur. 2,5 g/L, 5 g/L ve 12,5 g/L asetik asit ilavesi ile gerçekleştirilen fermentasyonlardan elde edilen biyokütle verimleri birbirlerine yakın olarak elde edilmiş olup bu fermentasyonlar arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olmadığı belirlenmiştir ($P>0,05$). Kontrol fermentasyonundan elde edilen maksimum biyokütle verimi ile 10 g/L asetik asit ilavesi ile gerçekleştirilen fermentasyondan elde edilen minimum biyokütle verimi arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olduğu görülmüştür ($P<0,05$).

Yapılan fermentasyonlar şeker kullanım oranı bakımından incelendiğinde ortamdaki şeker en çok 5 g/L asetik asit ilavesi ile gerçekleştirilen fermentasyonda kullanılmıştır. Kontrol fermentasyonundaki ve 2,5 g/L, 5 g/L asetik asit ilavesi ile yapılan fermentasyonlarda şeker kullanım oranları yakınlık göstermektedir ve bu fermentasyonlar arasındaki fark istatistiksel açıdan önemli bulunmamıştır ($P>0,05$). Bu değerlere ek olarak en düşük şeker kullanım oranları 5, 7 ve 9 g/L asetik asit ilavesi ile gerçekleştirilen fermentasyonlardan sırasıyla %9,068, %16,118 ve %4,943 olarak elde edilmiştir. Ortama 5 g/L asetik asit ilavesi ile gerçekleştirilen fermentasyondan elde edilen maksimum şeker tüketimi ile 12,5 g/L asetik asit ilavesi ile gerçekleştirilen fermentasyondan elde edilen minimum şeker tüketimi arasındaki fark istatistiksel olarak önemli olmuştur ($P<0,05$).

Spesifik üretim hızı (Q_p) değerleri incelendiğinden en yüksek Q_p değeri 1,800 g/L/h olarak kontrol fermentasyonundan elde edilmiştir. En düşük Q_p değeri ise 0,011 g/L/h olarak 12,5 g/L asetik asit ilave edilmiş fermentasyondan elde edilmiştir. Asetik asit konsantrasyonunun artması ile Q_p değerinde sürekli bir azalış gözlenmiştir. Elde edilen maksimum ve minimum Q_p değerleri arasında istatistiksel açıdan önemli bir fark görülmüştür ($P<0,05$). Spesifik gelişim hızı (Q_x) değerleri incelendiğinde en yüksek Q_x değeri 0,310 g/L/h olarak kontrol fermentasyonundan elde edilmiştir. En düşük Q_x değeri ise 12,5 g/L asetik asit ilavesi ile gerçekleştirilmiş fermentasyondan 0,023 g/L/h olarak hesaplanmıştır. Elde edilen maksimum ve minimum Q_x değerleri arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir ($P<0,05$).

Yukarıda verilen değerlere ek olarak hesaplanan tüm kinetik parametreler Çizelge 4.10'da verilmiştir.

Çizelge 4.10. Asetik asit ilavesi ile kinetik parametrelerin değişimi

Asetik Asit Konsantrasyonu (g/L)	ΔS (g/L)	ΔP (g/L)	ΔX (g/L)	$Y_{P/S}$ (%)	$Y_{X/S}$ (%)	TY (%)	SUY (%)	Q_x (g/L/h)	Q_p (g/L/h)	Q_s (g/L/h)
0	72,543 ^b ±2,548	35,716 ^{ba} ±0,057	6,101 ^a ±0,000	49,234 ^a ±1,527	8,410 ^a ±0,273	92,984 ^a ±2,989	96,099 ^a ±0,346	0,310 ^a ±0,077	1,800 ^a ±0,159	3,380 ^a ±0,170
2,5	83,467 ^a ±2,394	38,102 ^a ±1,518	3,823 ^b ±0,028	45,648 ^a ±0,503	4,580 ^b ±0,096	89,332 ^a ±0,985	97,940 ^a ±0,360	0,178 ^b ±0,017	1,782 ^a ±0,192	3,578 ^a ±0,037
5	75,015 ^{ba} ±0,011	33,460 ^b ±0,159	3,200 ^c ±0,059	44,604 ^a ±0,206	4,266 ^b ±0,078	87,288 ^a ±0,403	98,289 ^a ±0,154	0,118 ^{cb} ±0,003	1,348 ^b ±0,007	2,998 ^a ±0,000
7,5	6,652 ^c ±2,225	0,729 ^c ±0,068	0,155 ^d ±0,015	10,952 ^{cb} ±1,380	2,328 ^c ±0,687	21,432 ^{cb} ±2,701	9,068 ^{cb} ±3,575	0,025 ^c ±0,001	0,016 ^c ±0,003	0,247 ^c ±0,079
10	14,113 ^c ±5,371	1,975 ^c ±0,047	0,145 ^d ±0,162	13,995 ^b ±2,920	1,026 ^d ±0,394	27,387 ^b ±5,714	16,118 ^b ±4,742	0,041 ^c ±0,000	0,091 ^c ±0,000	0,989 ^{cb} ±0,042
12,5	4,360 ^c ±0,636	0,325 ^c ±0,006	0,196 ^d ±0,000	7,443 ^c ±0,211	4,507 ^b ±0,095	14,566 ^c ±0,413	4,943 ^c ±0,627	0,023 ^c ±0,001	0,011 ^c ±0,000	1,584 ^b ±0,787

4.6.5. Farklı konsantrasyonlarda asetik asit ilavesi ile pH kontrolsüz gerçekleştirilen fermentasyonlara ait etanol üretimi, biyokütle gelişimi ve şeker tüketimi değerlerinin farklı matematiksel modellere uygulanması

Besiyesine 2,5 g/L asetik asit ilavesi ile pH kontrolsüz yapılan fermentasyondan elde edilen etanol üretimi, biyokütle gelişimi ve şeker tüketimi değerlerine 10 farklı model uygulanmış olup elde edilen veriler Çizelge 4.11’de verilmiştir. *RMSE*, *MAE* ve R^2 değerlerinin yanı sıra modellerin uyumluluğuna karar vermek için *BF* ve *AF* değerleri dikkate alınmıştır. *BF* değeri $0,95 \leq BF \leq 1,11$ ise değer model ile uyumludur. *BF* değeri $0,87 \leq BF < 0,95$ veya $1,11 < BF \leq 1,43$ ise model kabul edilebilirdir. *BF* değeri $BF < 0,87$ veya $BF > 1,43$ ise model kabul edilemezdir. *AF* değeri $1 \leq AF < 1,2$ ise değer model ile uyumludur. *AF* değeri $1,2 \leq AF \leq 1,3$ ise model kabul edilebilirdir. *AF* değeri $AF > 1,3$ ise model kabul edilemezdir.

Etanol üretimi için en düşük *RMSE* değeri (1,064 g/L) *MMF* modelden ve en düşük *MAE* değeri (0,666 g/L) *MGM* modelden en yüksek *RMSE* değeri (11,673 g/L) ve *MAE* değeri (10,556 g/L) ise *Stannard* modelden elde edilmiştir. Elde edilen verilerde en düşük R^2 değeri (0,9576) *Stannard* modelden, en yüksek R^2 değeri (0,9988) *MRM* modelden elde edilmiştir. Ayrıca *MGM* (0,931) modelden elde edilen *BF* değeri model için kabul edilebilir aralıktadır. *MGM* (1,109) modelden elde edilen *AF* değeri de model için uyumlu olan aralıktadır. Tüm bu değerler incelendiğinde etanol üretimi için en uygun model *MGM* model olarak seçilmiştir.

Biyokütle gelişimi için en düşük *RMSE* değeri (0,310 g/L) ve *MAE* değeri (0,264 g/L) *MGM* modelden en yüksek *RMSE* değeri (1,364 g/L) ve *MAE* değeri (1,259 g/L) ise *Stannard* modelden elde edilmiştir. Elde edilen verilerde en düşük R^2 değeri (0,3668) *Asimetrik* modelden, en yüksek R^2 değeri (0,9864) *MMF* modelden elde edilmiştir. Ayrıca *Weibull* (1,02), *MMF* (1,00) ve *Fitzhugh* (0,96) modelden elde edilen *BF* değerleri model için uyumlu olan aralıktadır. *MGM* (1,2), *Weibull* (1,08), *MMF* (1,06), *Huang* (1,2) ve *Fitzhugh* (1,13) modelden elde edilen *AF* değerleri de model için uyumlu olan aralıktadır. Tüm bu değerler incelendiğinde biyokütle gelişimi için en uygun model *MMF* model olarak seçilmiştir.

Şeker tüketimi için en düşük *RMSE* değeri (3,840 g/L) ve *MAE* değeri (2,745 g/L) *Weibull* modelden en yüksek *RMSE* değeri (40,076 g/L) ve *MAE* değeri (27,929 g/L) ise *Huang* modelden elde edilmiştir. Elde edilen verilerde en düşük R^2 değeri (0,3424) *Huang* ve *Baranyi* modelden, en yüksek R^2 değeri (0,9908) *Weibull* modelden elde edilmiştir. Ayrıca *Weibull* (0,97) modelden elde edilen *BF* değeri model için uyumlu olan aralıktadır. *Weibull* (1,11) ve *Fitzhugh* (1,10) modelden elde edilen *AF* değerleri model için uyumlu olan aralıktadır. Tüm bu değerler incelendiğinde şeker tüketimi için en uygun model *Weibull* model olarak seçilmiştir.

2,5 g/L asetik asit ilavesi ile pH kontrolsüz gerçekleştirilen fermentasyondan elde edilen etanol üretimi, biyokütle gelişimi ve şeker tüketimi verilerine uygulanan modellerin kıyaslandığı grafikler EK-25, EK-26 ve EK-27’de verilmiştir. Bu veriler için hesaplanan model parametreleri EK-28, EK-29 ve EK-30’da verilmiştir.

Çizelge 4.11. 2,5 g/L asetik asit ilavesi ile pH kontrolsüz gerçekleştirilen fermentasyondan elde edilen verilere uygulanan matematiksel modellerin karşılaştırılması

Model/Asetik Asit	Etanol Üretimi					Biyokütle Gelişimi					Şeker Tüketimi				
	RMSE (g/L)	MAE (g/L)	R ²	BF	AF	RMSE (g/L)	MAE (g/L)	R ²	BF	AF	RMSE (g/L)	MAE (g/L)	R ²	BF	AF
MGM	1,082	0,666	0,9960	0,931	1,109	0,310	0,264	0,9748	0,90	1,16	27,365	14,491	0,6327	0,69	1,49
MLM	1,707	1,616	0,9984	0,479	2,059	0,495	0,440	0,9750	0,79	1,27	37,981	27,024	0,4498	0,29	3,49
MRM	1,450	1,344	0,9988	0,503	1,997	0,369	0,325	0,9745	1,30	1,34	27,259	19,644	0,6810	0,35	3,02
Stannard	11,673	10,556	0,9576	0,443	4,290	1,364	1,259	0,9429	0,83	1,79	19,031	16,956	0,9310	0,44	2,73
Weibull	1,279	0,905	0,9964	1,426	1,456	0,312	0,203	0,9685	1,02	1,08	3,840	2,745	0,9908	0,97	1,11
MMF	1,064	0,828	0,9966	1,534	1,576	0,167	0,133	0,9864	1,00	1,06	5,197	4,061	0,9825	0,76	1,36
Asimetrik	3,935	2,363	0,9639	1107,864	1118,636	1,202	0,944	0,3668	0,78	1,51	20,413	11,246	0,9023	0,37	2,70
Baranyi	2,008	1,121	0,9900	2,825	2,973	1,056	0,693	0,8505	1,18	1,34	40,075	27,929	0,3424	0,29	3,47
Huang	1,075	0,745	0,9966	1,808	1,869	0,568	0,427	0,9352	0,84	1,20	40,076	27,929	0,3424	0,29	3,47
Fitzhugh	2,366	1,702	0,9860	2,444	2,628	0,355	0,272	0,9615	0,96	1,13	6,733	4,253	0,9766	0,94	1,10

4.7. Formik Asit İlavesi ile pH Kontrollü Gerçekleştirilen Fermentasyonlar

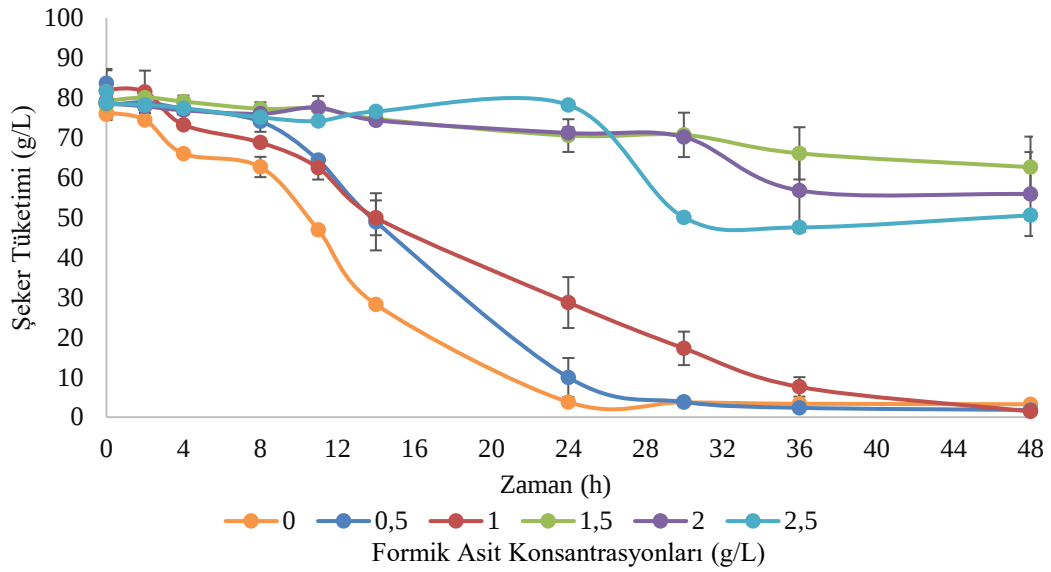
İnhibitör olarak formik asit kullanılarak gerçekleştirilen fermentasyonlarda 0,5 g/L, 1 g/L, 1,5 g/L, 2 g/L ve 2,5 g/L konsantrasyonlarda formik fermentasyon ortamına ilave edilmiştir. Asetik asit ilavesi ile gerçekleştirilen pH kontrollü fermentasyonlarda inhibe edici etkinin gözlenemediğinden dolayı formik asit için asetik aside benzer olarak pH kontrollü deneyler yapılmıştır. Maksimum konsantrasyon olan 2,5 g/L formik asit ilavesi ile yapılan fermentasyonlar hem pH kontrollü hem de pH kontrolsüz olarak denenmiştir. 2,5 g/L formik asit ilavesi ile pH kontrollü gerçekleştirilen fermentasyonda ortamda bulunan şekerin %95,683'ü kullanılarak 36,603 g/L etanol üretimi ve 6,042 g/L biyokütle gelişimi elde edilmiştir. Bunun sonucunda pH kontrollü yapılan çalışmada ortama eklenen baz yine asidin inhibe edici etkisini ortadan kaldırmıştır. Bundan dolayı çalışma kapsamında kullanılan formik asidin inhibe edici etkisi araştırılırken pH kontrolsüz olarak fermentasyonlar tamamlanmıştır.

4.8. Formik Asit İlavesi ile pH Kontrolsüz Gerçekleştirilen Fermentasyonlar

Saf karbon kaynağı olarak glukozun kullanıldığı kontrol besiyeri ortamına 0,5 g/L, 1 g/L, 1,5 g/L, 2 g/L ve 2,5 g/L olmak üzere 5 farklı konsantrasyonda formik asit eklenmiş olup bu fermentasyonlar pH kontrolsüz olmak üzere 2 tekerrürlü olarak gerçekleştirilmiştir. Her fermentasyondan 48 saat boyunca belirli aralıklar ile örnekler alınmıştır. Bu örnekler ile şeker, etanol ve biyokütle analizleri yapılmıştır.

4.8.1. Formik asit ilavesi ile pH kontrolsüz gerçekleştirilen fermentasyonlarda şeker tüketimi

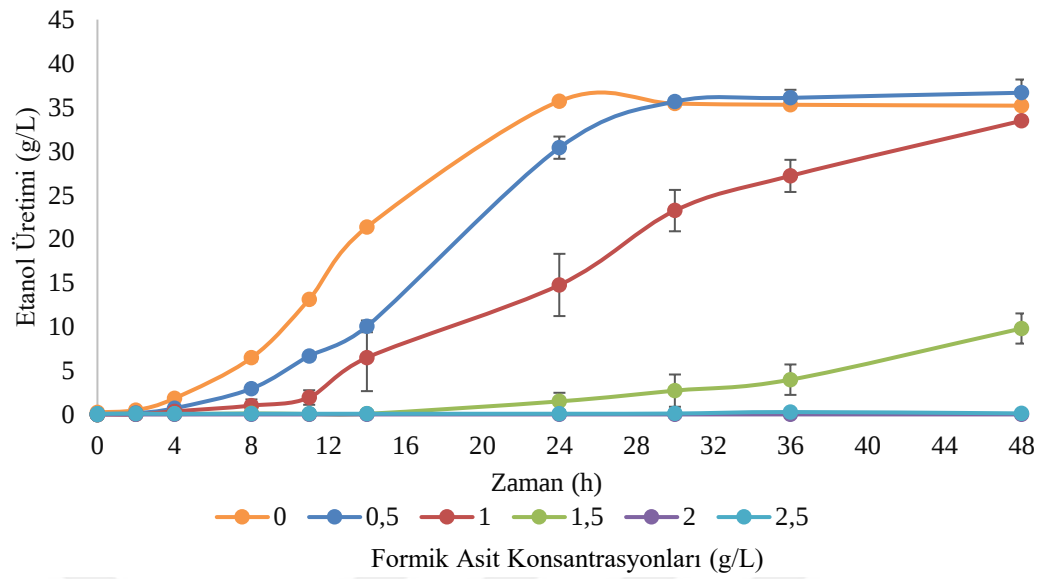
Formik asit ilavesi olmadan gerçekleştirilen kontrol fermentasyonunda ve buna ek olarak 0,5 ve 1 g/L formik asit ilavesi ile gerçekleştirilen fermentasyonlarda şeker tüketimi sorunsuz gerçekleşmiştir. Bu fermentasyonların sonunda ortamdaki şeker miktarı 75,874 g/L, 83,637 g/L ve 78,529 g/L'den sırasıyla 3,239 g/L, 1,800 g/L ve 1,411 g/L'ye düşmüştür. Besiyerine 1,5 g/L formik asit ilavesi ile inhibisyon başlamış ve şeker tüketimi azalmıştır. Daha yüksek konsantrasyonlar olan 2 ve 2,5 g/L formik asitte ise inhibe edici etkinin daha fazla olduğu gözlenmiştir. İnhibisyonun gerçekleştiği 1,5 g/L, 2 g/L ve 2,5 g/L formik asit ilavesi ile pH kontrolsüz yapılan fermentasyonların 48. saatinde ortamda bulunan 80,054 g/L, 79,172 g/L, 81,627 g/L şeker sırasıyla 62,616 g/L, 55,875 g/L ve 50,553 g/L'ye düşmüştür. Ortamda kalan şeker miktarları inhibisyon ile şekerin immobilize hücreler tarafından kullanılamadığını göstermektedir. Şeker tüketiminde belirlenen bu değişimler Şekil 4.14'te verilmiştir.



Şekil 4.14. Formik asit ilavesinin şeker tüketimine etkisi

4.8.2. Formik asit ilavesi ile pH kontrolsüz gerçekleştirilen fermentasyonlarda etanol üretimi

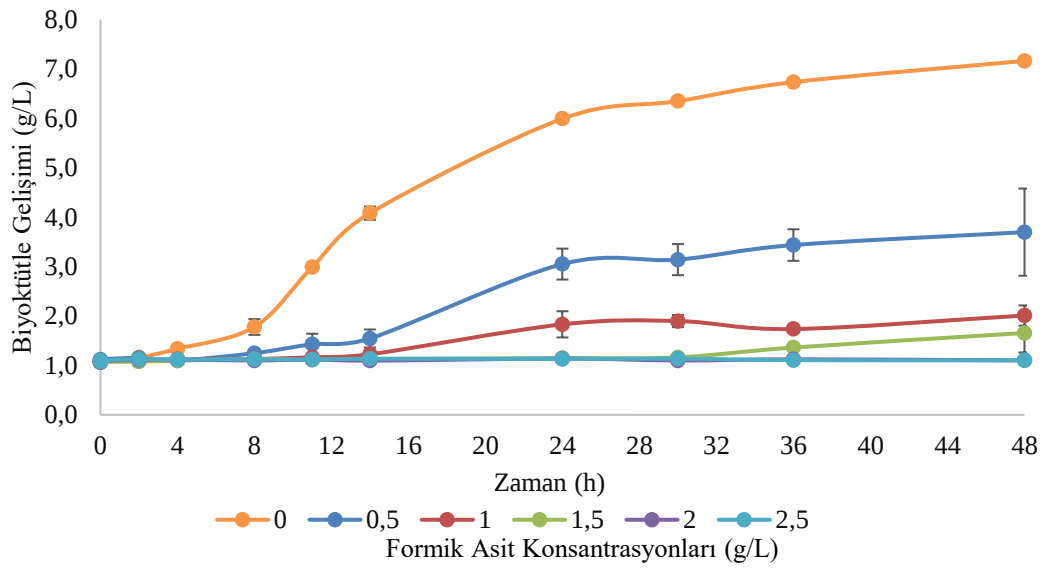
Formik asit ilavesi olmadan yapılan kontrol fermentasyonunda ortamdaki şeker hücreler tarafından kullanılıp etanol elde edilmiştir. 0,5 ve 1 g/L formik asit ilavesi ile yapılan fermentasyonlarda kontrol fermentasyonunda olduğu gibi etanol üretimi gözlemlenmiştir. Kontrol fermentasyonunda, 0,5 g/L ve 1 g/L formik asit ilavesi ile yapılan fermentasyonlarda sırasıyla 35,200 g/L, 36,670 g/L ve 33,471 g/L etanol elde edilmiştir. 1,5 g/L formik asidin ilave edilmesi ile ortamda inhibisyonun başlaması ile etanol üretimi azalmıştır. Ortama 1,5 g/L, 2 g/L ve 2,5 g/L formik asit ilavesi ile gerçekleştirilen fermentasyonların sonucunda sırasıyla 9,826 g/L, 0,043 g/L ve 0,163 g/L etanol elde edilmiştir. Etanol üretiminde gözlenen bu değişimler Şekil 4.15'te verilmiştir.



Şekil 4.15. Formik asit ilavesinin etanol üretimine etkisi

4.8.3. Formik asit ilavesi ile pH kontrolsüz gerçekleştirilen fermentasyonlarda biyokütle gelişimi

Formik asit ilavesinin olmadığı kontrol fermentasyonunda 48. saatin sonunda biyokütle gelişimi 7,164 g/L olarak elde edilmiştir. Şeker tüketimi ve etanol üretimi açısından inhibisyonun olmadığı 0,5 ve 1 g/L formik asit ilavesi ile gerçekleştirilen fermentasyonlarda sırasıyla 3,698 ve 2,010 g/L biyokütle gelişimi meydana gelmiştir. Ortama 1,5 g/L formik asit ilavesi ile gerçekleşen inhibisyon immobilize *Saccharomyces cerevisiae* hücrelerinin gelişimini sınırlandırmıştır. Biyokütle gelişimindeki bu sınırlandırma ile 1,5 g/L, 2 g/L ve 2,5 g/L formik asit ilavesi ile gerçekleştirilen fermentasyonlarda sırasıyla 1,656 g/L, 1,102 g/L ve 1,102 g/L biyokütle gelişimi meydana gelmiştir. Biyokütle gelişiminde meydana gelen değişimler Şekil 4.16'da verilmiştir.



Şekil 4.16. Formik asit ilavesinin biyokütle gelişimine etkisi

4.8.4. Farklı konsantrasyonlarda formik asit ilavesi ile pH kontrolsüz gerçekleştirilen fermentasyonların kinetik parametrelerinin karşılaştırılması

Formik asit ilavesi ile pH kontrolsüz gerçekleştirilen fermentasyonlardan hesaplanan kinetik parametreler Çizelge 4.12’de verilmiştir. Kontrol fermentasyonunda en yüksek etanol verimi %49,234 olarak elde edilmiştir. Formik asit ilavesiyle gerçekleştirilen fermentasyonlarda ise kontrol fermentasyonu verimine yakın ve en yüksek etanol verimi %44,808 ile 0,5 g/L formik asit ilave edilen fermentasyondan elde edilmiştir. Buna ek olarak inhibisyonun olmadığı 1 g/L formik asit ilavesi ile gerçekleştirilen fermentasyonda etanol verimi %41,654 olarak hesaplanmıştır. Kontrol fermentasyonu, 0,5 g/L ve 1 g/L formik asit ilavesi ile yapılan fermentasyonların verimleri arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır ($P>0,05$). Ortama 1,5 g/L formik asit ilavesi ile inhibisyonun başladığı, en düşük etanol veriminin 2 g/L formik asit ilavesi ile gerçekleştirilen fermentasyonda %0,100 olarak hesaplandığı görülmüştür. Kontrol fermentasyonundan elde edilen maksimum etanol verimi ile 2 g/L formik asit ilavesi ile gerçekleştirilen fermentasyondan elde edilen minimum etanol verimi arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olmadığı görülmüştür ($P<0,05$).

Kontrol fermentasyonu ve formik asit ilavesi ile gerçekleştirilen fermentasyonlar arasında birim substrat tüketimi üzerinden en yüksek biyokütle verimi %8,410 ile kontrol fermentasyonundan elde edilmiştir. Yapılan fermentasyonlarda maksimum biyokütle verimi 0,5 g/L formik asit ilavesi ile gerçekleştirilen fermentasyondan %3,219 bulunurken minimum biyokütle verimi 2,5 g/L formik asit ilaveli besiyerinde %0,176 olarak bulunmuştur. Kontrol fermentasyonundan elde edilen maksimum biyokütle verimi ile 2,5 g/L formik asit ilavesi ile gerçekleştirilen fermentasyondan elde edilen minimum biyokütle verimi arasında istatistiksel olarak önemli bir fark görülmüştür ($P<0,05$).

Yapılan fermentasyonlar şeker kullanım oranı bakımından incelendiğinde ortamdaki şeker en çok 1 g/L formik asit ilavesi ile gerçekleştirilen fermentasyonda

kullanılmıştır. Kontrol fermentasyonundaki ve 0,5 g/L, 1 g/L formik asit ilavesi ile yapılan fermentasyonlarda şeker kullanım oranları yakınlık göstermektedir ve bu fermentasyonlar arasında fark istatistiksel açıdan önemli bulunmamıştır ($P>0,05$). Bu değerlere ek olarak en düşük şeker kullanım oranları 1,5 g/L, 2 g/L ve 2,5 g/L formik ilavesi ile gerçekleştirilen fermentasyonlardan sırasıyla %20,850 %29,621 ve %43,302 olarak elde edilmiştir. 1 g/L formik asit ilavesi ile gerçekleştirilen fermentasyondan elde edilen maksimum şeker tüketimi ile 1,5 g/L formik asit ilavesi ile gerçekleştirilen fermentasyondan elde edilen minimum şeker tüketimi arasındaki fark istatistiksel olarak önemli görülmüştür ($P<0,05$).

Spesifik üretim hızlarına bakıldığında en yüksek Q_P değeri 1,877 g/L/h olarak 0,5 g/L formik asit ilavesi ile gerçekleştirilen fermentasyondan elde edilmiştir. İnhibitör ilavesi olmadan yapılan kontrol fermentasyonunda Q_P değeri 1,800 g/L/h olarak hesaplanmıştır. 1 g/L formik asit ilavesi ile Q_P değerinin 0,946 g/L/h olarak hesaplandığı görülmüştür. 1 g/L formik asit konsantrasyonunun üzerinde denenen konsantrasyonlarda inhibisyonun başladığı ve elde edilen Q_P değerinin azaldığı görülmüştür. En düşük Q_P değeri 0,000 g/L/h olarak 2 g/L formik asit ilavesi ile gerçekleştirilen fermentasyondan elde edilmiştir. Maksimum ve minimum Q_P değerleri arasındaki fark ise istatistiksel olarak anlamlıdır ($P<0,05$). Diğer bir parametre olan spesifik gelişim hızı değerlerinde ise maksimum Q_X değeri 0,310 g/L/h olarak kontrol fermentasyonundan elde edilmiştir. İlave edilen formik asit konsantrasyonunun artması ile elde edilen Q_X değeri azalmıştır. Minimum Q_X değeri 0,002 g/L/h olarak 1,5 g/L formik asit ilavesi ile gerçekleştirilen fermentasyondan elde edilmiştir. Maksimum ve minimum Q_X değerleri arasındaki fark ise istatistiksel olarak anlamlıdır ($P<0,05$).

Yukarıda verilen değerlere ek olarak hesaplanan tüm kinetik parametreler Çizelge 4.12’de verilmiştir.

Çizelge 4.12. Formik asit ilavesi ile kinetik parametrelerin değişimi

Formik Asit Konsantrasyonu (g/L)	ΔS (g/L)	ΔP (g/L)	ΔX (g/L)	$Y_{P/S}$ (%)	$Y_{X/S}$ (%)	TY (%)	SUY (%)	Q_x (g/L/h)	Q_p (g/L/h)	Q_s (g/L/h)
0	72,543 ^a ±2,548	35,716 ^a ±0,057	6,101 ^a ±0,000	49,234 ^a ±1,527	8,410 ^a ±0,273	92,984 ^a ±2,989	96,099 ^a ±0,346	0,310 ^a ±0,077	1,800 ^a ±0,159	0,0380 ^a ±0,170
0,5	81,837 ^a ±3,879	36,670 ^a ±1,507	2,634 ^b ±0,693	44,808 ^a ±3,984	3,219 ^b ±0,682	87,687 ^a ±7,796	97,847 ^a ±0,449	0,131 ^b ±0,009	1,877 ^a ±0,118	4,117 ^a ±0,378
1	80,354 ^a ±5,479	33,471 ^a ±0,079	0,946 ^c ±0,033	41,654 ^a ±2,768	1,178 ^c ±0,060	81,515 ^a ±5,416	98,274 ^a ±2,718	0,054 ^{cb} ±0,017	0,946 ^b ±0,008	2,477 ^{ba} ±0,234
1,5	16,495 ^b ±8,930	9,826 ^b ±1,674	0,593 ^c ±0,298	15,596 ^b ±4,126	3,594 ^b ±0,355	30,521 ^b ±8,074	20,850 ^b ±10,250	0,002 ^c ±0,013	0,118 ^c ±0,020	0,498 ^b ±0,183
2	23,296 ^b ±12,045	0,023 ^b ±0,013	0,075 ^c ±0,006	0,100 ^c ±0,225	0,322 ^c ±0,436	0,195 ^c ±0,440	29,621 ^b ±14,597	0,008 ^c ±0,002	0,000 ^c ±0,000	0,449 ^b ±0,188
2,5	34,101 ^b ±15,023	0,319 ^b ±0,013	0,060 ^c ±0,019	0,935 ^c ±0,045	0,176 ^c ±0,033	1,829 ^c ±0,087	43,302 ^b ±18,582	0,005 ^c ±0,002	0,016 ^c ±0,011	2,557 ^{ba} ±1,628

4.8.5. Farklı konsantrasyonlarda formik asit ilavesi ile pH kontrolsüz gerçekleştirilen fermentasyonlara ait etanol üretimi, şeker tüketimi ve biyokütle gelişimi değerlerinin matematiksel modellere uygulanması

Besiyesine 0,5 g/L formik asit ilavesi ile pH kontrolsüz yapılan fermentasyondan elde edilen etanol üretimi, biyokütle gelişimi ve şeker tüketimi değerlerine 10 farklı model uygulanmış olup elde edilen veriler Çizelge 4.13'te verilmiştir. *RMSE*, *MAE* ve R^2 değerlerinin yanı sıra modellerin uyumluluğuna karar vermek için *BF* ve *AF* değerleri dikkate alınmıştır. *BF* değeri $0,95 \leq BF \leq 1,11$ ise değer model ile uyumludur. *BF* değeri $0,87 \leq BF < 0,95$ veya $1,11 < BF \leq 1,43$ ise model kabul edilebilirdir. *BF* değeri $BF < 0,87$ veya $BF > 1,43$ ise model kabul edilemezdir. *AF* değeri $1 \leq AF < 1,2$ ise değer model ile uyumludur. *AF* değeri $1,2 \leq AF \leq 1,3$ ise model kabul edilebilirdir. *AF* değeri $AF > 1,3$ ise model kabul edilemezdir.

Etanol üretimi için en düşük *RMSE* değeri (0,362 g/L) ve *MAE* değeri (0,244 g/L) Huang modelden en yüksek *RMSE* değeri (11,453 g/L) ve *MAE* değeri (10,261 g/L) ise Stannard modelden elde edilmiştir. Elde edilen verilerde en düşük R^2 değeri (0,3076) Asimetrik modelden, en yüksek R^2 değeri (0,9996) Huang modelden elde edilmiştir. Ayrıca MMF (0,890) modelden elde edilen *BF* değeri model için kabul edilebilir aralıktadır. MMF (1,290) modelden elde edilen *AF* değeri model için uyumlu olan aralıktadır. Tüm bu değerler incelendiğinde etanol üretimi için en uygun model MMF model olarak seçilmiştir.

Biyokütle gelişimi için en düşük *RMSE* değeri (0,094 g/L) ve *MAE* değeri (0,079 g/L) MMF modelden en yüksek *RMSE* değeri (0,932 g/L) Asimetrik modelden ve en yüksek *MAE* değeri (0,927 g/L) ise Stannard modelden elde edilmiştir. Elde edilen verilerde en düşük R^2 değeri (0,3072) Asimetrik modelden, en yüksek R^2 değeri (0,9921) MMF modelden elde edilmiştir. Ayrıca Weibull (1,015) ve MMF (1,015) modelden elde edilen *BF* değerleri model için uyumlu olan aralıktadır. MGM (1,155), Weibull (1,046), MMF (1,047), Huang (1,189) ve Fitzhugh (1,135) modelden elde edilen *AF* değerleri model için uyumlu olan aralıktadır. Tüm bu değerler incelendiğinde biyokütle gelişimi için en uygun model MMF model olarak seçilmiştir.

Şeker tüketimi için en düşük *RMSE* değeri (2,850 g/L) ve *MAE* değeri (2,077 g/L) Weibull modelden en yüksek *RMSE* değeri (40,696 g/L) ve *MAE* değeri (29,541 g/L) ise Huang modelden elde edilmiştir. Elde edilen verilerde en düşük R^2 değeri (0,3213) Huang modelden, en yüksek R^2 değeri (0,9976) Weibull modelden elde edilmiştir. Ayrıca Weibull (1,092) ve Fitzhugh (1,103) modelden elde edilen *BF* değeri model için uyumlu olan aralıktadır. Weibull (1,128), MMF (1,165) ve Fitzhugh (1,175) modelden elde edilen *AF* değerleri model için uyumlu olan aralıktadır. Tüm bu değerler incelendiğinde şeker tüketimi için en uygun model Weibull model olarak seçilmiştir.

0,5 g/L formik asit ilavesi ile pH kontrolsüz gerçekleştirilen fermentasyondan elde edilen etanol üretimi, biyokütle gelişimi ve şeker tüketimi verilerine uygulanan modellerin kıyaslandığı grafikler EK-31, EK-32 ve EK-33'te verilmiştir. Bu veriler için hesaplanan model parametreleri EK-34, EK-35 ve EK-36'da verilmiştir.

Çizelge 4.13. 0,5 g/L formik asit ilavesi ile pH kontrolsüz gerçekleştirilen fermentasyondan elde edilen verilere uygulanan matematiksel modellerin karşılaştırılması

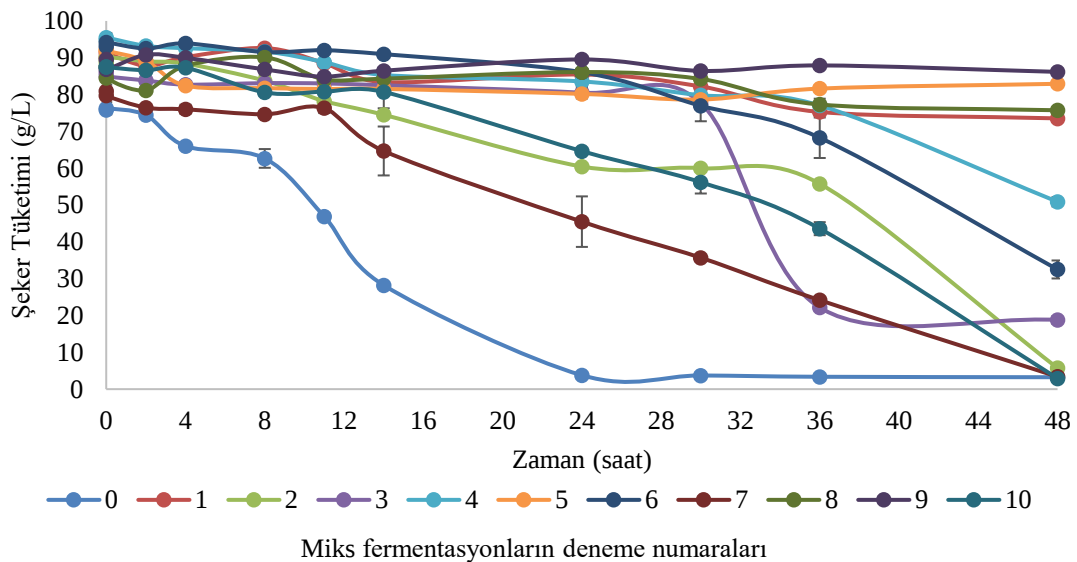
Model/Formik Asit	Etanol Üretimi					Biyokütle Gelişimi					şeker Tüketimi				
	RMSE (g/L)	MAE (g/L)	R ²	BF	AF	RMSE (g/L)	MAE (g/L)	R ²	BF	AF	RMSE (g/L)	MAE (g/L)	R ²	BF	AF
MGM	1,221	0,954	0,9963	0,721	1,418	0,271	0,237	0,9662	0,905	1,155	25,562	14,066	0,6626	0,740	1,420
MLM	2,072	1,922	0,9978	0,443	2,330	0,381	0,318	0,9659	0,816	1,227	38,053	27,890	0,4715	0,312	3,201
MRM	1,743	1,580	0,9982	0,444	2,261	0,404	0,314	0,9658	1,428	1,456	27,218	20,223	0,7419	0,379	2,780
Stannard	11,453	10,261	0,9615	0,425	4,603	0,992	0,927	0,9342	0,893	1,639	19,713	17,916	0,9308	0,490	2,492
Weibull	1,488	1,017	0,9934	1,547	1,582	0,129	0,096	0,9881	1,015	1,046	2,850	2,077	0,9976	1,092	1,128
MMF	3,132	1,999	0,9966	0,890	1,290	0,094	0,079	0,9921	1,015	1,047	3,148	2,472	0,9960	0,865	1,165
Asimetrik	11,624	12,351	0,3076	246,864	2115,710	0,932	0,704	0,3072	0,847	1,439	22,101	17,991	0,9480	0,391	2,574
Baranyi	0,754	0,377	0,9984	1,691	1,719	0,827	0,614	0,8654	1,283	1,406	40,666	29,435	0,3229	0,309	3,240
Huang	0,362	0,244	0,9996	9,888	9,971	0,437	0,305	0,8993	0,850	1,189	40,696	29,541	0,3213	0,309	3,241
Fitzhugh	2,334	1,429	0,9845	108,824	113,292	0,289	0,227	0,9387	0,935	1,135	4,604	3,704	0,9929	1,103	1,175

4.9. Besiyerine İnhibitörlerin Karışım (Miks) Olarak İlave Edilmesiyle Gerçekleştirilen Fermentasyonlar

Lignoselülozik bir bileşiğin hidrolizi sonucunda ortamda birçok inhibitör farklı konsantrasyonlarda bulunmaktadır. Bu amaçla öncelikle immobilize *Saccharomyces cerevisiae* hücrelerinin farklı konsantrasyonlarda her bir inhibitöre karşı tolerans aralığı belirlenmiştir. Bu tolerans aralıkları ile Plackett-Burman Dizayn tasarımında kullanılacak minimum ve maksimum noktalar belirlenmiştir. Bu noktalar ile 10 fermentasyonluk deneme deseni oluşturulmuş ve tüm inhibitörlerin bir arada kullanıldığı miks fermentasyonlar gerçekleştirilmiştir. Fermentasyonların inhibitör içerikleri Çizelge 3.2’de verilmiştir. Her fermentasyondan 48 saat boyunca belirli aralıklar ile örnekler alınmıştır. Bu örnekler ile şeker, etanol ve biyokütle analizleri yapılmıştır.

4.9.1. Besiyerinde inhibitörlerin karışım halde bulunması ile gerçekleştirilen fermentasyonlarda şeker tüketimi

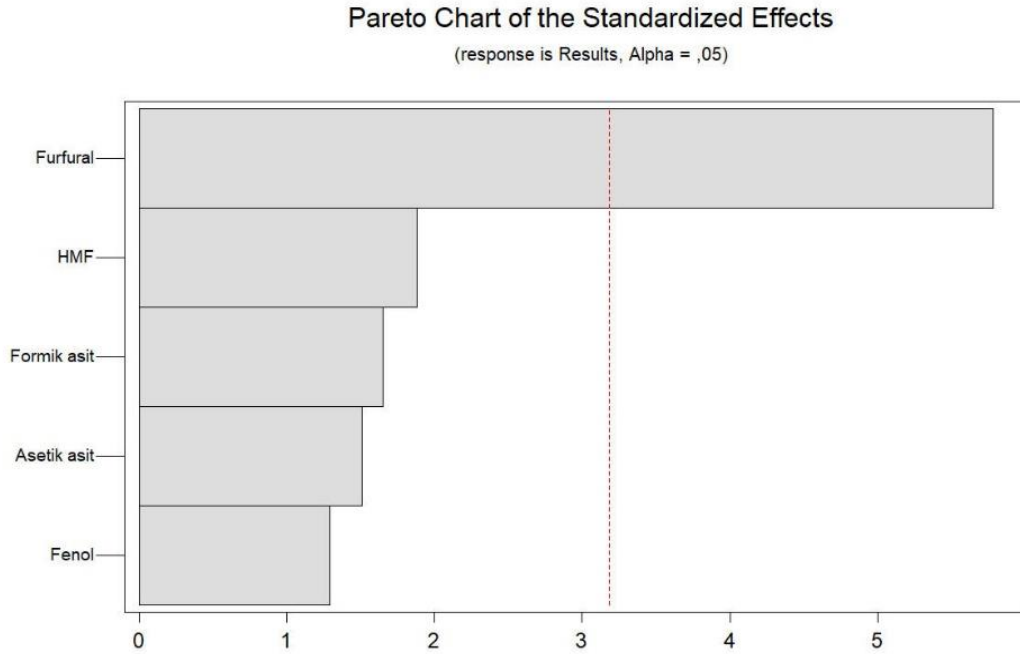
İnhibitör ilavesi olmadan gerçekleştirilen kontrol fermentasyonunda (0 no’lu deneme) ortamda bulunan 76,261 g/L şeker hücreler tarafından tüketilmiştir ve fermentasyon sonunda ortamda 3,239 g/L şeker kalmıştır. Buna benzer şekilde deneme deseninde bulunan 2, 7 ve 10 no’lu deneme fermentasyonlarında inhibe edici bir etki görülmemiş olup ortamda bulunan şeker kullanılmıştır. Diğer yandan 3, 4 ve 6 no’lu deneme fermentasyonlarında ise şeker tüketimi açısından kısmen inhibe edici bir etki görülmüştür. Bu fermentasyonların 48. saatinde ortamda bulunan 85,897 g/L, 95,470 g/L, 94,167 g/L şeker miktarlarının sırasıyla 18,789 g/L, 50,885 g/L ve 32,503 g/L’ye düştüğü saptanmıştır. Geriye kalan 1, 5, 8 ve 9 no’lu deneme fermentasyonlarında ise şekerin kullanılmadığı ve inhibisyonun gerçekleştiği görülmüştür. Şeker tüketiminde meydana gelen bu değişim Şekil 4.17’de verilmiştir.



Şekil 4.17. İnhibitörlerin miks olarak ilavesinin şeker tüketimine etkisi

Elde edilen bu fermentasyonlar sonucunda en çok inhibe edici etkinin furfuraldan kaynaklandığı ve furfural konsantrasyonuna bağlı olarak şeker tüketiminin değişiklik

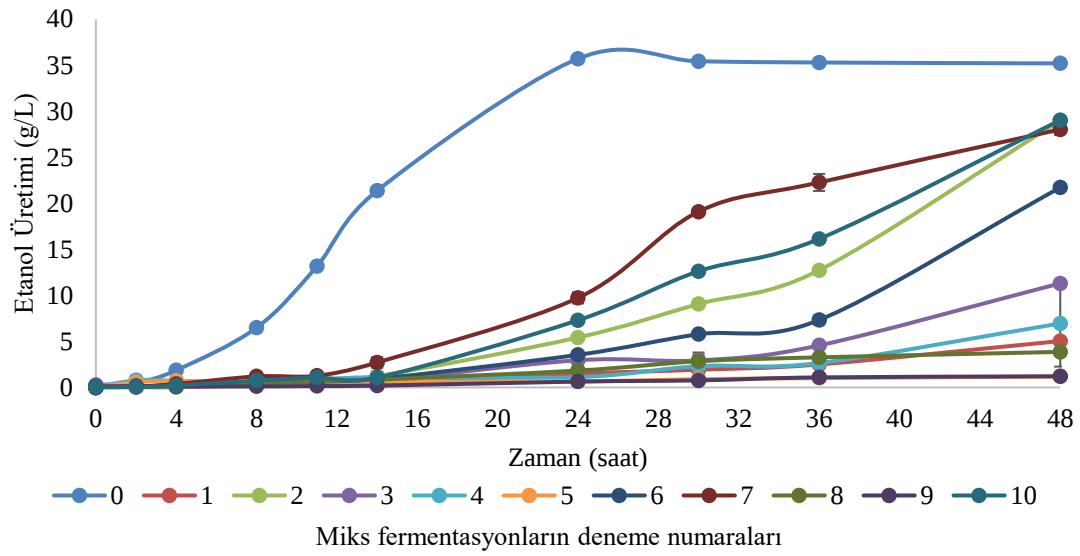
gösterdiği saptanmıştır. Deneme deseninin oluşturulduğu Minitab İstatistiksel Yazılım programının verdiği Pareto Grafiğine göre de en fazla etkinin furfural olarak görülmesi bu iki durumu destekler niteliktedir (Şekil 4.18).



Şekil 4.18. Miks fermentasyonlarda inhibitörlerin etki düzeyini belirten Pareto Grafiği

4.9.2. Besiyerinde inhibitörlerin karışım halde bulunması ile gerçekleştirilen fermentasyonlarda etanol üretimi

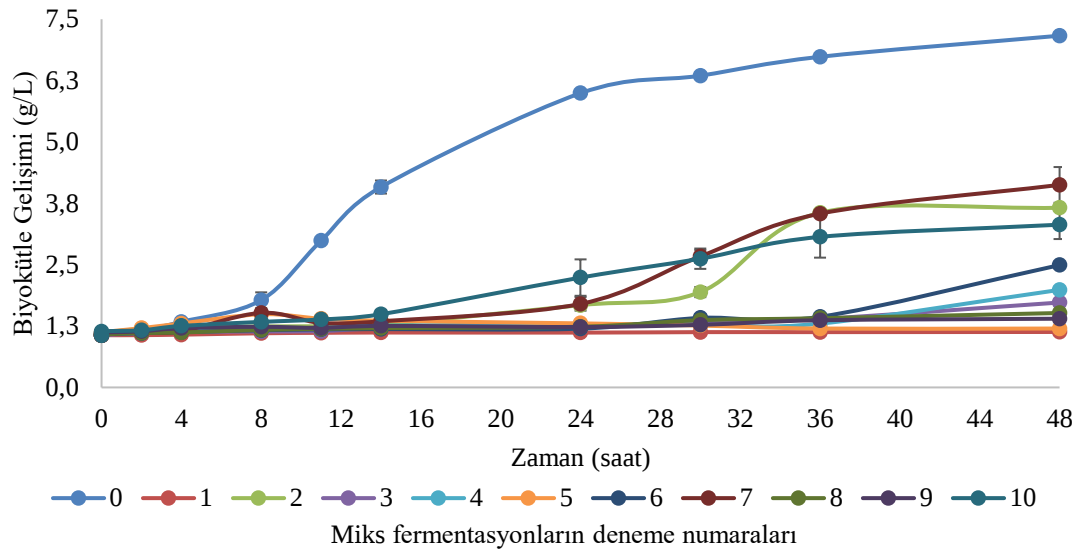
Kontrol fermentasyonunda (0 numaralı deneme) 48 saatin sonun ortamda 35,2 g/L etanol bulunmaktadır. Etanol üretimi açısından bu değere en yakın etanol üretimi 10 no'lu deneme fermentasyonundan 29,033 g/L olarak elde edilmiştir. Buna ek olarak 2, 7 ve 6 no'lu deneme fermentasyonundan sırasıyla 28,976 g/L, 28,026 g/L ve 21,709 g/L etanol elde edilmiştir. Bu fermentasyonlarda miks olarak kullanılan inhibitörler şeker kullanımını çok fazla etkilemeseler bile etanol üretimini azaltmışlardır. Buna ek olarak 3 ve 4 no'lu deneme fermentasyonlarından 11,305 ve 6,946 g/L etanol üretilmiştir. Tamamen inhibisyonun gerçekleştiği 1, 5, 8 ve 9 no'lu deneme fermentasyonlardan ise 5,039 g/L, 1,190 g/L, 3,860 g/L ve 1,208 g/L etanol elde edilmiştir. İnhibisyonun tamamen gerçekleştiği bu dört fermentasyonda furfuralın maksimum konsantrasyonda olduğu gözlenmiştir. Etanol üretiminde oluşan bu değişiklikler Şekil 4.19'da verilmiştir.



Şekil 4.19. İnhibitörlerin miks olarak ilavesinin etanol üretimine etkisi

4.9.3. Besiyerinde inhibitörlerin karışım halinde bulunması ile gerçekleştirilen fermentasyonlarda biyokütle gelişimi

Kontrol fermentasyonu sonucunda biyokütle gelişimi 7,164 g/L olarak belirlenmiştir. Bu fermentasyona en yakın biyokütle gelişimi 7 no'lu deneme fermentasyonundan 4,125 g/L olarak elde edilmiştir. 2 ve 10 no'lu deneme fermentasyonlarında ise inhibisyonun biyokütle gelişimi üzerinde etkisinin kısmen olduğu görülmüştür. Bu fermentasyonlarda sırasıyla 3,659 ve 3,315 g/L biyokütle gelişimi elde edilmiştir. Diğer deneme fermentasyonlarında ise biyokütle gelişimi üzerine inhibisyonun görülmüş olup en düşük biyokütle gelişimini 1 no'lu deneme fermentasyonundan 1,130 g/L olarak elde edilmiştir. Biyokütle gelişiminde olan bu değişiklikler Şekil 4.20'de verilmiştir.



Şekil 4.20. İnhibitörlerin miks olarak ilavesinin biyokütle gelişimine etkisi

4.9.4. Besiyerinde inhibitörlerin karışım halinde bulunmasıyla gerçekleştirilen fermentasyonlara ait kinetik parametrelerin karşılaştırılması

İnhibitörleri karıştırarak miks olarak gerçekleştirilen fermentasyonlardan hesaplanan kinetik parametreler Çizelge 4.16'da verilmiştir. Elde edilen parametreler etanol verimi açısından incelendiğinde en yüksek verim kontrol fermentasyonundan %49,234 olarak elde edilmiştir. Bu değere yakın olarak 7 no'lu fermentasyondan %35,880 oranında etanol verimi görülmüştür. Bu iki fermentasyonda arasındaki fark istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur ($P<0,05$). En düşük etanol verimi ise 5 no'lu deneme fermentasyonundan %5,736 oranında elde edilmiştir. En yüksek ve en düşük etanol veriminin belirtildiği fermentasyonlar arasındaki fark istatistiksel olarak önemli olmuştur ($P<0,05$).

Gerçekleştirilen fermentasyonlar arasında birim substrat üzerinden en yüksek biyokütle verimi %8,410 oranında kontrol fermentasyonundan elde edilmiştir. Kontrol fermentasyonuna en yakın biyokütle verimi ise 7 no'lu deneme fermentasyonunda görülmüştür. 4, 5, 6 ve 10 no'lu deneme fermentasyonlarında biyokütle verimi üzerinde kısmi bir inhibisyon ve elde edilen biyokütle verimleri azalmıştır. Bu dört fermentasyon arasında ise istatistiksel açıdan önemli bir fark bulunmamıştır ($P>0,05$). En düşük biyokütle verimi ise %0,322 olarak 1 no'lu deneme fermentasyonundan elde edilmiştir. En yüksek ve en düşük biyokütle veriminin belirtildiği fermentasyonlar arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($P<0,05$).

Deneme deseninden elde edilen konsantrasyonlar ile yapılan fermentasyonla şeker kullanım oranı açısından incelendiğinde ortamda bulunan şekerin en çok 10 no'lu deneme fermentasyonunda %96,732 oranında kullanıldığı görülmüştür. Bu fermentasyonu %96,099 ile kontrol fermentasyonu takip etmektedir. 7 ve 2 no'lu deneme fermentasyonlarında ise şeker kullanım oranının yüksek olduğu görülmüştür. Bu dört fermentasyon arasında ise istatistiksel açıdan önemli bir fark bulunmamıştır ($P>0,05$). 4 ve 6 no'lu deneme fermentasyonlarında kısmen inhibisyon gözlemlenmiş olup şeker

kullanım oranı %44,275 ve %66,023 oranındadır. En düşük şeker kullanım oranı 9 no'lu deneme fermentasyonunda %7,431 oranında elde edilmiştir. En yüksek ve en düşük şeker kullanımının belirtildiği fermentasyonlar arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($P<0,05$).

Spesifik gelişim hızları (Q_X) ve spesifik üretim hızları (Q_P) incelendiğinde en yüksek Q_X (0,310 g/L/h) ve Q_P (1,800 g/L/h) değerlerinin inhibitör ilavesi olmadan gerçekleştirilen kontrol fermentasyonundan hesaplanmıştır. Deneme deseninden elde edilen miks fermentasyonların sonucunda hesaplanan maksimum ve minimum Q_X ve Q_P değeri arasında farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu görülmüştür ($P<0,05$).

Kinetik parametrelere ek olarak elde edilen analiz sonuçları Minitab İstatistiksel Yazılımı kullanılarak değerlendirilip etanol üretimi için kullanılan değişkenlerin istatistiksel etkileri ve katsayıları elde edilmiştir. Modelde kullanılan değişkenler HMF, furfural, fenol, asetik asit ve formik asit olarak belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlar Çizelge 4.14'te verilmiştir.

Çizelge 4.14. Etanol üretimi için etkiler ve katsayılar

Değişkenler	Etki	Katsayı	SH Katsayıları	T	P
HMF	-4	-2	0,8792	-2,27	0,108
Furfural	-23,33	-11,67	0,8792	-13,27	0,001
Fenol	-0,49	-0,24	0,8792	-0,28	0,8
AA	-0,83	-0,42	0,8792	-0,47	0,667
FA	1,33	0,66	0,8792	0,76	0,505

Çizelge 4.14'te verilen P (olasılık) değeri istatistiksel anlamlılığın varlığının belirlenmesi amacı ile kullanılmaktadır. Değişkenler incelendiğinde HMF, fenol, asetik asit ve formik asitten elde edilen P değerlerinin 0,05'ten büyük olması ile bu değişkenlerin miks fermentasyonlarda etkilerinin istatistiksel açıdan önemsiz olduğu görülmüştür ($P>0,05$). Furfuraldan elde edilen P değerinin ise 0,05'ten küçük olması ile bu değişkenin miks fermentasyonlardaki etkisinin istatistiksel açıdan önemli olduğu görülmüştür ($P<0,05$). Bu veriler ile Şekil 4.18'deki Pareto Grafiği'nde furfuralın etkisinin önemli görülmesi destelenmiş olmaktadır. Önemli etkiye sahip olan furfural ile gerçekleştirilen fermentasyonlardan elde edilen sonuçlar ise başlık 4.3 altında verilmiştir. Bunun yanı sıra Minitab İstatistiksel Yazılımı kullanılarak varyans analizi incelenmiş olup elde edilen veriler Çizelge 4.15'te verilmiştir.

Çizelge 4.15. Etanol üretimi modelinde elde edilen varyans analizi

Kaynak	SD	D. KT	D. KO	F	P
Model	5	1034,13	206,826	47,78	0,005
Hata	3	12,99	4,329	-	-
Uyum Eksikliği	1	3,49	3,486	0,73	0,482
Saf Hata	2	9,5	4,75	-	-

Çizelge 4.15 incelendiğinde model için P değeri 0,005 olarak elde edilmiştir. Bu değerin 0,05'ten küçük olması istatistiksel açıdan önemli olduğu için ($P < 0,05$) varyans analizi sonucuna göre model uyumlu ve önemlidir. Bir diğer önemli parametre olan uyum eksikliği (Lack-of-fit) değeri 0,05'ten büyük olduğu için istatistiksel açıdan önemsizdir ($P > 0,05$).

Yukarıda verilen değerlere ek olarak hesaplanan tüm kinetik parametreler Çizelge 4.16'da verilmiştir.

Çizelge 4.16. İnhibitörlerin mix olarak ilavesi ile kinetik parametrelerin değişimi

Mix Deneme No.	ΔS (g/L)	ΔP (g/L)	ΔX (g/L)	$Y_{P/S}$ (%)	$Y_{X/S}$ (%)	TY (%)	SUY (%)	Q_X (g/L/h)	Q_P (g/L/h)	Q_S (g/L/h)
0	72,543 ^{cb} ±2,548	35,716 ^a ±0,057	6,101 ^a ±0,000	49,234 ^a ±1,527	8,410 ^a ±0,273	92,984 ^a ±2,989	96,099 ^a ±0,346	0,310 ^a ±0,077	1,800 ^a ±0,159	3,380 ^a ±0,170
1	20,764 ^{gf} ±1,081	5,039 ^{fg} ±0,020	0,067 ^g ±0,000	24,407 ^{bc} ±1,365	0,322 ^e ±0,017	47,764 ^{bc} ±2,672	22,000 ^{fe} ±0,909	0,002 ^c ±0,000	0,138 ^e ±0,029	1,543 ^c ±0,424
2	85,295 ^a ±1,006	28,976 ^c ±0,007	2,596 ^c ±0,020	33,981 ^b ±0,393	3,044 ^c ±0,012	66,499 ^b ±0,769	94,613 ^a ±0,485	0,157 ^b ±0,003	0,482 ^{dc} ±0,012	1,376 ^{dc} ±0,028
3	68,141 ^{cd} ±0,403	11,305 ^e ±0,001	0,666 ^{fe} ±0,000	16,591 ^{dc} ±0,100	0,977 ^{ed} ±0,006	32,468 ^{dc} ±0,195	82,689 ^b ±1,996	0,014 ^c ±0,000	0,147 ^e ±0,034	2,844 ^{ba} ±0,062
4	40,585 ^e ±2,765	6,946 ^{fe} ±4,685	0,924 ^e ±0,112	15,687 ^{dc} ±10,475	2,260 ^{cd} ±0,122	30,698 ^{dc} ±20,500	44,275 ^d ±1,069	0,022 ^c ±0,017	0,270 ^e ±0,190	1,690 ^c ±0,001
5	21,573 ^f ±3,305	1,226 ^g ±0,151	0,453 ^{geg} ±0,082	5,736 ^d ±0,178	2,326 ^{cd} ±0,738	11,226 ^d ±0,349	22,520 ^e ±3,627	0,047 ^c ±0,018	0,030 ^e ±0,009	0,685 ^{de} ±0,169
6	62,967 ^d ±0,795	21,709 ^d ±0,324	1,429 ^d ±0,019	34,500 ^b ±0,950	2,269 ^{cd} ±0,001	67,515 ^b ±1,860	66,023 ^c ±1,975	0,020 ^c ±0,003	0,299 ^{de} ±0,010	1,483 ^c ±0,169
7	78,104 ^b ±1,536	28,026 ^c ±0,599	3,062 ^b ±0,364	35,880 ^{ba} ±0,061	3,905 ^{cb} ±0,389	70,215 ^{ba} ±0,120	95,831 ^a ±0,353	0,153 ^b ±0,015	0,991 ^b ±0,062	2,504 ^b ±0,150
8	14,382 ^g ±3,941	3,860 ^{fg} ±0,212	0,453 ^{geg} ±0,038	30,624 ^b ±6,914	3,874 ^{cb} ±1,324	59,929 ^b ±13,53	15,987 ^f ±4,423	0,014 ^c ±0,001	0,122 ^e ±0,037	0,734 ^{de} ±0,254
9	6,742 ^h ±0,191	1,208 ^g ±0,001	0,336 ^{fg} ±0,045	17,941 ^{dc} ±0,523	5,035 ^b ±0,806	35,109 ^{dc} ±1,024	7,431 ^g ±0,283	0,012 ^c ±0,001	0,037 ^e ±0,001	0,317 ^e ±0,362
10	85,774 ^a ±0,625	29,033 ^b ±0,020	2,251 ^c ±0,292	33,851 ^b ±0,270	2,620 ^{cd} ±0,321	66,245 ^b ±0,529	96,723 ^a ±0,162	0,076 ^c ±0,009	0,713 ^c ±0,016	3,021 ^{ba} ±0,156

4.9.5. Besiyerinde inhibitörlerin karışım halinde bulunmasıyla gerçekleştirilen fermentasyonlara ait etanol üretimi, şeker tüketimi ve biyokütle gelişimi değerlerinin matematiksel modellere uygulanması

Placket-Burman dizaynında 10 no'lu deneme fermentasyonundan elde edilen etanol üretimi, biyokütle gelişimi ve şeker tüketimi değerlerine 10 farklı model uygulanmış olup elde edilen veriler Çizelge 4.17'de verilmiştir. *RMSE*, *MAE* ve R^2 değerlerinin yanı sıra modellerin uyumluluğuna karar vermek için *BF* ve *AF* değerleri dikkate alınmıştır. *BF* değeri $0,95 \leq BF \leq 1,11$ ise değer model ile uyumludur. *BF* değeri $0,87 \leq BF < 0,95$ veya $1,11 < BF \leq 1,43$ ise model kabul edilebilirdir. *BF* değeri $BF < 0,87$ veya $BF > 1,43$ ise model kabul edilemezdir. *AF* değeri $1 \leq AF < 1,2$ ise değer model ile uyumludur. *AF* değeri $1,2 \leq AF \leq 1,3$ ise model kabul edilebilirdir. *AF* değeri $AF > 1,3$ ise model kabul edilemezdir.

Etanol üretimi için en düşük *RMSE* değeri (2,393 g/L) ve *MAE* değeri (1,301 g/L) Huang modelden en yüksek *RMSE* değeri (8,321 g/L) ve *MAE* değeri (6,877 g/L) ise Stannard modelden elde edilmiştir. Elde edilen verilerde en düşük R^2 değeri (0,8506) Weibull modelden, en yüksek R^2 değeri (0,9655) MLM modelden elde edilmiştir. Ayrıca Weibull (0,871) modelden elde edilen *BF* değeri model için kabul edilebilir aralıktadır. Weibull (1,049) modelden elde edilen *AF* değeri model için de uyumlu olan aralıktadır. Tüm bu değerler incelendiğinde etanol üretimi için en uygun model Weibull model olarak seçilmiştir.

Biyokütle gelişimi için en düşük *RMSE* değeri (0,139 g/L) ve *MAE* değeri (0,117 g/L) MMF modelden en yüksek *RMSE* değeri (0,960 g/L) ve *MAE* değeri (0,927 g/L) ise Baranyi modelden elde edilmiştir. Elde edilen verilerde en düşük R^2 değeri (0,3556) Asimetrik modelden, en yüksek R^2 değeri (0,9925) Weibull modelden elde edilmiştir. MGM (1,107), MLM (1,037), Weibull (1,060), MMF (1,084), Huang (1,106) ve Fitzhugh (1,012) modelden elde edilen *BF* değerleri model için uyumlu olan aralıktadır. MGM (1,114), MLM (1,104), Weibull (1,072), MMF (1,084), Huang (1,106) ve Fitzhugh (1,069) modelden elde edilen *AF* değerleri model için de uyumlu olan aralıktadır. Tüm bu değerler incelendiğinde biyokütle gelişimi için en uygun model Weibull model olarak seçilmiştir.

Şeker tüketimi için en düşük *RMSE* değeri (4,520 g/L) ve *MAE* değeri (3,368 g/L) Weibull modelden en yüksek *RMSE* değeri (31,263 g/L) ve *MAE* değeri (18,619 g/L) ise Branyi ve Huang modelden elde edilmiştir. Elde edilen verilerde en düşük R^2 değeri (0,100) Baranyi ve Huang modelden, en yüksek R^2 değeri (0,9773) MLM modelden elde edilmiştir. Weibull (0,873) elde edilen *BF* değeri model için uyumlu olan aralıktadır. Fitzhugh (1,075) elde edilen *BF* değeri model için kabul edilebilir aralıktadır. Weibull (1,198) modelden elde edilen *AF* değeri model için uyumlu olan aralıktadır. Fitzhugh (1,215) modelden elde edilen *AF* değeri model için kabul edilebilir aralıktadır. Tüm bu değerler incelendiğinde şeker tüketimi için en uygun model Weibull model olarak seçilmiştir.

10 no'lu deneme fermentasyonundan elde edilen etanol üretimi, biyokütle gelişimi ve şeker tüketimi verilerine uygulanan modellerin kıyaslandığı grafikler EK-37,

EK-38 ve EK-39’da verilmiştir. Bu veriler için hesaplanan model parametreleri EK-40, EK-41 ve EK-42’de verilmiştir.



Çizelge 4.17. 10 no'lu deneme fermentasyonundan elde edilen verilere uygulanan matematiksel modellerin karşılaştırılması

Model/Mix	Etanol Üretimi					Biyokütle Gelişimi					Şeker Tüketimi				
	RMSE (g/L)	MAE (g/L)	R ²	BF	AF	RMSE (g/L)	MAE (g/L)	R ²	BF	AF	RMSE (g/L)	MAE (g/L)	R ²	BF	AF
MGM	2,653	2,218	0,9402	0,324	3,370	0,311	0,222	0,9907	1,107	1,114	28,297	16,859	0,9088	0,656	1,576
MLM	3,392	2,760	0,9655	0,244	4,514	0,288	0,203	0,9811	1,037	1,104	30,206	18,001	0,9773	0,621	1,610
MRM	2,682	2,602	0,9651	0,246	4,316	0,816	0,749	0,9860	2,939	3,037	22,021	14,837	0,9647	0,721	1,525
Stannard	8,321	6,877	0,9478	0,306	7,323	0,775	0,692	0,9718	0,930	1,483	18,539	13,186	0,9272	0,800	1,470
Weibull	5,694	2,919	0,8506	0,871	1,049	0,121	0,099	0,9925	1,060	1,072	4,520	3,368	0,9711	0,873	1,198
MMF	2,647	1,613	0,9339	13,730	13,961	0,139	0,117	0,9910	1,084	1,084	5,933	4,347	0,9605	0,841	1,226
Asimetrik	7,725	6,533	0,6592	0,220	4,738	0,757	0,665	0,3556	0,853	1,312	14,864	12,370	0,8000	0,774	1,389
Baranyi	2,403	1,333	0,9629	0,708	1,622	0,960	0,927	0,9526	2,389	2,389	31,263	18,619	0,1000	0,616	1,622
Huang	2,393	1,301	0,9625	3,390	4,993	0,236	0,183	0,9878	1,106	1,106	31,263	18,619	0,1000	0,616	0,622
Fitzhugh	2,659	1,617	0,9334	18,887	19,086	0,150	0,118	0,9700	1,012	1,069	12,292	7,641	0,8597	1,075	1,215

5. SONUÇLAR

Bu tez çalışmasında farklı konsantrasyonlarda HMF, furfural, fenol, asetik asit ve formik asit inhibitör madde olarak glukoz ile hazırlanan fermentasyon ortamına eklenmiştir. Etanol üretimi için immobilize edilmiş *Saccharomyces cerevisiae* ATCC 36858 hücreleri kullanılmıştır. Her fermentasyon tekerrürlü olmak şartı ile 2 L'lik biyoreaktörde 1,5 L hacminde tamamlanmıştır. Her fermentasyondan başlangıç ve 0. saat örneklerine ek olarak 2, 4, 8, 11, 14, 24, 30, 36 ve 48. saatlerde örnekler alınmıştır. Alınan örneklerde etanol üretimi, şeker tüketimi ve biyokütle gelişimi için analizler yapılmıştır. Her bir inhibitörün tek tek kullanılmasının yanında aynı zamanda tüm inhibitörlerin karıştırılmasıyla miks fermentasyonlar düzenlenmiştir. Miks fermentasyonların inhibitör bileşen konsantrasyonları Minitab yazılımında Plackett-Burman Dizayn ile belirlenmiş olup 2 orta nokta olmak üzere tekerrürlü toplam 20 fermentasyonluk bir deneme deseni oluşturulmuştur. Bu sayede immobilize *Saccharomyces cerevisiae* hücrelerinin hem her bir inhibitöre tek tek hem de tüm inhibitörlere birlikte olan tolerans aralıkları belirlenmiştir. Ayrıca elde edilen analiz sonuçlarından en iyi etanol üretimi, biyokütle gelişimi ve şeker tüketimi olan fermentasyonlara 10 farklı matematiksel model uygulanmıştır ve en iyi model seçilmiştir.

Saf karbon kaynağı olarak glukozun kullanıldığı kontrol besiyeri ortamına 2 g/L, 4 g/L, 6 g/L, 8 g/L ve 10 g/L olmak üzere 5 farklı konsantrasyonda HMF eklenerek fermentasyonlar gerçekleştirilmiştir. 2, 4 ve 6 g/L HMF ilavesi ile gerçekleştirilen fermentasyonlarda ortamda bulunan şeker immobilize hücreler tarafından sorunsuzca kullanılmıştır. 8 g/L HMF ilavesi ile immobilize hücrelerin şekeri kullanmasının sınırlanmasıyla gelişim ve üretim büyük ölçüde azalmıştır. 10 g/L HMF ilavesi ile immobilize hücrelerin şekeri kullanamamasıyla gelişim ve üretim neredeyse tamamen inhibe olmuştur. Buna bağlı olarak 2, 4, ve 6 g/L HMF ilavesi ile gerçekleştirilen fermentasyonlarda etanol teorik verime (%51,1) yakın miktarda elde edilse de 8 ve 10 g/L HMF ilavesi ile etanol üretimi inhibe edilmiştir. Etanol üretiminin inhibe olması ile verimde de azalma gözlenmiştir. 2 g/L HMF ilavesi ile gerçekleştirilen fermentasyondan hesaplanan etanol verimi ile 10 g/L HMF ilavesi ile gerçekleştirilen fermentasyondan hesaplanan etanol verimi arasında istatistiksel olarak önemli bir fark görülmüştür ($P<0,05$). En iyi sonuçların elde edildiği 2 g/L HMF ilavesi ile gerçekleştirilen fermentasyondan elde edilen verilere uygulanan matematiksel modellemelerde etanol üretimi için MGM model, biyokütle gelişimi için MMF model ve şeker tüketimi için Weibull model uyumlu olarak gözlemlenmiştir.

Saf karbon kaynağı olarak glukozun kullanıldığı kontrol besiyeri ortamına 0,1 g/L, 0,5 g/L, 2 g/L, 4 g/L, 6 g/L, 8 g/L ve 10 g/L olmak üzere 7 farklı konsantrasyonda furfural eklenmiştir. Ortama 0,1 g/L'den 6 g/L'ye kadar furfural ilavesi ile tamamlanan fermentasyonlarda besiyerinde bulunan şeker tüketilmiştir. Tüketilen şeker ile immobilize *Saccharomyces cerevisiae* gelişip etanol üretimini gerçekleştirmiştir. 6 g/L'nin üzerinde denenen 8 ve 10 g/L furfural konsantrasyonlarında ise şeker tüketimini neredeyse tamamen engellenmiştir. Bunun sonucu olarak 0,1 g/L'den 6 g/L'ye kadar furfural ilavesi ile gerçekleştirilen fermentasyonlarda etanol üretimi gözlemlenirken 8 ve 10 g/L furfural konsantrasyonlarında etanol üretimi inhibe olmuştur ve elde edilen verim azalmıştır. Furfural ilavesi ile gerçekleştirilen fermentasyonlardan elde edilen maksimum ve minimum etanol verimi değerleri arasında istatistiksel olarak önemli bir fark

görülmüştür ($P<0,05$). En iyi sonuçların elde edildiği 2 g/L furfural ilavesi ile gerçekleştirilen fermentasyondan elde edilen verilere uygulanan matematiksel modellerde etanol üretimi için MGM model, biyokütle gelişimi için MMF model ve şeker tüketimi için Weibull model uyumlu olarak gözlemlenmiştir.

Kontrol besiyeri ortamına 0,5 g/L, 1 g/L, 5 g/L, 7 g/L, 9 g/L olmak üzere 5 farklı konsantrasyonda fenol eklenerek fermentasyonlar gerçekleştirilmiştir. Ortama 0,5 ve 1 g/L fenol ilavesi ile gerçekleştirilen fermentasyonlarda ortamda bulunan şeker hücreler tarafından kullanılmıştır. 5 g/L fenol eklenmesi ile ortamda inhibisyon başlamıştır ve 7 ile 9 g/L fenol ilavesi ile gerçekleşen fermentasyonlarda da aynı inhibisyon meydana gelmiştir. Oluşan inhibisyon ile hücreler şekeri kullanamadığı için gelişim gösterememişlerdir. Bunun sonucunda ise etanol üretimi ve elde edilecek verim azalmıştır. İnhibisyon görülen ve görülmeyen fermentasyonlar arasında ise istatistiksel olarak önemli bir fark görülmüştür ($P<0,05$). En iyi sonuçların elde edildiği 0,5 g/L fenol ilavesi ile gerçekleştirilen fermentasyondan elde edilen verilere uygulanan matematiksel modellerde etanol üretimi için Baranyi model, biyokütle gelişimi için Weibull model ve şeker tüketimi için Weibull model uyumlu olarak gözlemlenmiştir.

İnhibitör olarak asetik asit kullanılarak gerçekleştirilen fermentasyonlarda 2,5 g/L, 5 g/L, 7,5 g/L, 10 g/L ve 12,5 g/L konsantrasyonlarda asetik asit fermentasyon ortamına ilave edilmiştir. Çalışma diğer inhibitörlerle gerçekleştirilen fermentasyonlarda olduğu gibi öncelikle pH kontrollü gerçekleştirilmiştir. Fermentasyon boyunca pH'nın sabit tutulması için ilave edilen baz asetik asidin ortamdaki inhibe edici etkisini ortadan kaldırmıştır. Bundan dolayı çalışma kapsamında kullanılan asetik asidin inhibe edici etkisi araştırılırken pH kontrolsüz olarak fermentasyonlar tamamlanmıştır. 2,5 ve 5 g/L asetik asit ilavesi ile yapılan fermentasyonlarda kontrol fermentasyonunda olduğu gibi şeker tüketimi gözlemlenmiştir. 7,5 g/L ve üzeri asetik asit konsantrasyonlarında ise inhibisyon gözlemlenmiştir. Gelişimin ve üretimin inhibe olması fermentasyonu olumsuz yönde etkilemiştir. İnhibisyon gözlenen ve gözlenmeyen fermentasyonlardan elde edilen minimum ve maksimum verimlerde istatistiksel olarak önemli bir fark görülmüştür ($P<0,05$). En iyi sonuçların elde edildiği 2,5 g/L asetik asit ilavesi ile gerçekleştirilen fermentasyondan elde edilen verilere uygulanan matematiksel modellerde etanol üretimi için MGM model, biyokütle gelişimi için MMF model ve şeker tüketimi için Weibull model uyumlu olarak gözlemlenmiştir.

İnhibitör olarak formik asit kullanılarak gerçekleştirilen fermentasyonlarda 0,5 g/L, 1 g/L, 1,5 g/L, 2 g/L ve 2,5 g/L konsantrasyonlarda formik fermentasyon ortamına ilave edilmiştir. Asetik asit ilavesi ile gerçekleştirilen pH kontrollü fermentasyonlarda inhibe edici etkinin gözlenmemesinden dolayı formik asit için de deneme yapılmıştır. Denemeler sonucunda ortama eklenen baz yine asidin inhibe edici etkisini ortadan kaldırmıştır. Bundan dolayı çalışma kapsamında kullanılan formik asidin inhibe edici etkisi araştırılırken pH kontrolsüz olarak fermentasyonlar tamamlanmıştır. 0,5 ve 1 g/L formik asit ilavesi ile gerçekleştirilen fermentasyonlarda şeker tüketiminde inhibisyon görülmemiştir. 1,5 g/L, 2 g/L ve 2,5 g/L formik asit ilavesi ile pH kontrolsüz yapılan fermentasyonlarda miktarları inhibisyon ile şekerin immobilize hücreler tarafından kullanılamadığını görülmektedir. 1,5 g/L formik asidin ilave edilmesi ile ortamda inhibisyonun başlamasıyla etanol üretimi engellenmiştir. 1,5 g/L formik asit ilavesi ile inhibisyonun başladığı, en düşük etanol veriminin 2 g/L formik asit ilavesi ile

gerçekleştirilen fermentasyonda %0,100 olarak hesaplandığı görülmüştür. Hesaplanan minimum ve maksimum verimlerde istatistiksel olarak önemli bir fark görülmüştür ($P<0,05$). En iyi sonuçların elde edildiği 0,5 g/L asetik asit ilavesi ile gerçekleştirilen fermentasyondan elde edilen verilere uygulanan matematiksel modellemelerde etanol üretimi için MMF model, biyokütle gelişimi için MMF model ve şeker tüketimi için Weibull model uyumlu olarak gözlemlenmiştir.

İmmobilize *Saccharomyces cerevisiae* hücrelerinin her bir inhibitöre karşı tolerans aralığı belirlendikten sonra bu noktalar ile Placket-Burman Dizayn ile 10 fermentasyonluk deneme deseni oluşturulmuş ve tüm inhibitörlerin bir arada kullanıldığı miks fermentasyonlar gerçekleştirilmiştir. Ortama 2 g/L HMF, 2 g/L furfural, 0,5 g/L fenol, 2,5 g/L asetik asit ve 0,5 g/L formik asit ilavesi ile yapılan 10 no'lu deneme fermentasyonundan en yüksek verim elde edilmiştir. Aynı zamanda programdan elde edilen Pareto Grafiği ve yapılan analizler sonucunda da miks fermentasyonlara en çok furfural konsantrasyonunun inhibe edici etki gösterdiği belirlenmiştir. En iyi sonuçların elde edildiği 10 no'lu deneme fermentasyonundan elde edilen verilere uygulanan matematiksel modellemelerde etanol üretimi, biyokütle gelişimi ve şeker tüketimi için Weibull model uyumlu olarak gözlemlenmiştir.

Literatür çalışmalarına bakıldığında Banerjee vd. (1981) tarafından yapılan bir çalışmada suspended *Saccharomyces cerevisiae* hücreleri ile etanol üretiminde furfuralın glikoliz üzerine olan etkisi incelenmiştir. Bu amaçla fermentasyon ortamına 0,5, 1, 2, 3 ve 4 g/L furfural eklenmiştir. Sonuçlar incelendiğinde 0,5 g/L furfuralın inhibisyon göstermediği, 1 g/L furfuralın %14, 2 g/L furfuralın %50, 3 g/L furfuralın %70 ve 4 g/L furfuralın %80 oranında inhibisyon gösterdiği görülmüştür. Buna ek olarak bu konsantrasyonların sırasıyla %24, %63, %82 ve %97 oranında etanol üretimini inhibe ettiği saptanmıştır. Lin vd. (2015) tarafından *Clostridium butyricum* kullanılarak yapılan diğer bir çalışmada ise 2 g/L konsantrasyonun üzerinde HMF'nin, 1 g/L konsantrasyonun üzerinde furfuralın inhibe edici etkisinin görüldüğü belirtilmiştir. Abud vd. (2017) tarafından yapılan çalışmada suspended *Pichia stipitis* ile gerçekleştirilen fermentasyonda asetik asit, furfural, HMF inhibitör olarak kullanılmıştır. Çalışmada en düşük seviye olarak 0,25 g/L konsantrasyonda eklenen asetik asit miktarının ortam için inhibe edici etki gösterdiği belirtilmiştir. Buna ek olarak HMF ve furfural etkisinin 0,75 ve 2,25 g/L ye kadar önemsiz olduğu görülmüştür. Li vd. (2017) tarafından yapılan bir çalışmada saf karbon kaynağı glukoz ile suspended *Saccharomyces cerevisiae* kullanılarak yapılan fermentasyonda inhibitör madde olarak formik asit, asetik asit, levulinik asit, furfural, HMF, siringaldehit, vanilin ve fenol seçilmiştir. Asetik asit ve formik asit için 40, 80, 120 ve 160 mM, HMF, furfural ve fenol için 5,10,20,30 mM konsantrasyonlarda inhibitör fermentasyon ortamına eklenmiştir. Çalışmada asetik asit ve formik asitin inhibitör etkisinin 80 mM konsantrasyonun üzerinde ortaya çıktığı gözlemlenmiştir. Aynı zamanda HMF, furfural ve fenol için inhibitör etkinin 20 mM konsantrasyonun üzerinde ortaya çıktığı görülmüştür.

Literatürdeki bu ve benzeri çalışmalar incelendiğinde *Saccharomyces cerevisiae* hücreleri ile yapılan çalışmaların suspended olarak serbest halde ve küçük ölçekte tamamlandığı görülmektedir. Bu nedenle hücrelerin serbest olması ile inhibitör bileşiklerin daha düşük konsantrasyonlarda inhibitör etki gösterdikleri görülmüştür. Literatürdeki kaynaklara ek olması amacı ile bu çalışmada suspended hücreler yerine

immobilize hücrelerle çalışılmıştır. Aynı zamanda çalışma ölçeği büyütülüp fermentasyonlar 1,5 L hacimde biyoreaktörde tamamlanmıştır. Immobilize hücrelerin HMF, furfural, fenol, asetik asit ve formik aside karşı tolerans aralıkları belirlenmiş olup aynı zamanda inhibitörler miks şeklinde de kullanılmıştır. Çalışma sonucunda literatürden elde edilen inhibisyon aralıklarının bu çalışmaya kıyasla daha dar bir aralığı kapsadığı görülmüştür. *Saccharomyces cerevisiae*'nin immobilize edilerek kullanılmasının hücreleri koruduğu ve literatürden daha yüksek inhibitör konsantrasyonlarında da etanol üretimine olanak sağladığı düşünülmektedir. Çalışma bu önüyle özgünlük taşımaktadır. Aynı zamanda elde edilen en iyi sonuçlar ile 10 farklı matematiksel model bu kapsamda kullanılmış olup çalışmaya ekstra katkısı olmuştur.

Lignoselülozik maddeler kullanılarak etanol üretiminde hammaddeye fermentasyondan önce bazı ön işlemler uygulanmaktadır. Bu işlemlerden olan hidroliz fermentasyon açısından önemli bir basamaktır. Asidik veya enzimatik olarak yapılan hidroliz işleminde hammaddeki şeker mikroorganizmaların fermente edebileceği forma dönüşmektedir. Hidroliz işleminde ortamda oluşan yüksek sıcaklık ve asitlik ile yan ürün olarak oluşan inhibitör maddeler fermentasyonu olumsuz etkilemektedir. Bu maddelerin ortamdan uzaklaştırılması için fermentasyondan önce detoksifikasyon işlemi uygulanmaktadır. Bu işlemlerin fazlalığı hem zaman açısından uzun sürmektedir hem de maddi olarak elverişsiz olabilmektedir. Bu durumda hammadde içeriğindeki inhibitör bileşenlerin bilinmesi ve bu değerin mikroorganizmanın tolerans aralığında olması araştırmacıların gereğinden fazla ön işlem yapmasını engellemektedir. Bu yüzden çalışmanın sonucunda inhibitör maddelere olan tolerans aralıklarının belirlenmiş olması fermentasyon öncesi ve sonrası işlemlerin kullanımı ile ilgili çalışmalara yön gösterecek olup zaman, enerji ve maddiyat konularında araştırmacılar için pozitif etki yaratacaktır.

6. KAYNAKLAR

- Abud, A., Silva, A. And Junior, A. 2017. Effect of inhibitors on ethanol production by *Pichia stipitis* in a complex culture media. *Acta Scientiarum Technology*, 39, 223-229.
- Adıgüzel, A.O. 2013. Biyoetanolün Genel Özellikleri ve Üretimi İçin Gerekli Hammadde Kaynakları. *BEU Journal of Science*. 2(2), 204-220.
- Akaike, H.A. 1974. New Look at the Statistical Model Identification. *IEEE Trans. Automatic Control*. 19, 716-723
- Almeida, J.R., Modig, T., Petersson, A., Hagerdal, B.H., Liden, G. and Grauslund, F.G. 2007. Increased tolerance and conversion of inhibitors in lignocellulosic hydrolysates by *Saccharomyces cerevisiae*. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*. 82: 340-349
- Alriksson, B., Rose, S.H., Van Zyl, W.H., Sjöde, A., Nilvebrant, N.-O. and Jönsson, L.J. 2009. "Cellulase production from spent lignocellulose hydrolysates by recombinant *Aspergillus niger*". *Applied and environmental microbiology*. 75 (8), 2366-2374
- Baranvi, J. and Roberts, T.A. A. 1994. Dynamic Approach to Predicting Bacterial Growth in Food. *International Journal of Food Microbiology*. 23, 277-294.
- Banerjee, N., Bhatnagar, R. and Viswanathan, L. 1981. Inhibition of glycolysis by furfural in *Saccharomyces cerevisiae*. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 11:226-228.
- Bullock, G.E. 2002. Ethanol from sugarcane. *Sugar Research Institute, Australia*. 192.
- Cayre, M.E., Vingolo, G., Garro, O. 2003. Modeling lactic acid bacteria growth in vacuum-packaged cooked meat emulsions stored at three temperatures. *Food Microbiology*. 20, 561-566.
- Chai, T. and Draxler, R.R. 2014. Root mean square error (RMSE) or mean absolute error (MAE) Arguments against avoiding RMSE in the literature. *Geoscientific Model Development*. 7, 1247-1250.
- Chen, H.-Q., Chen, X.-M., Li, Y., Wang, J., Jin, Z.-Y., Xu, X.-M., Zhao, J.-W., Chen, T.-X. and Xie, Z.-J. 2009. "Purification and characterisation of exo-and endo-inulinase from *Aspergillus ficuum* JNSP5-06". *Food Chemistry*. 115 (4), 1206-1212.
- Classen, P.A.M., Van Lier, J.B., Lopez, C.A.M., Van Niel, E.W.J., Sijtsma, L., Stams, A.J.M., De Vries, S.S. ve Weusthuis, R.A. 1999. Utilization of biomass for the supply of energy carriers. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 52, 741-775.

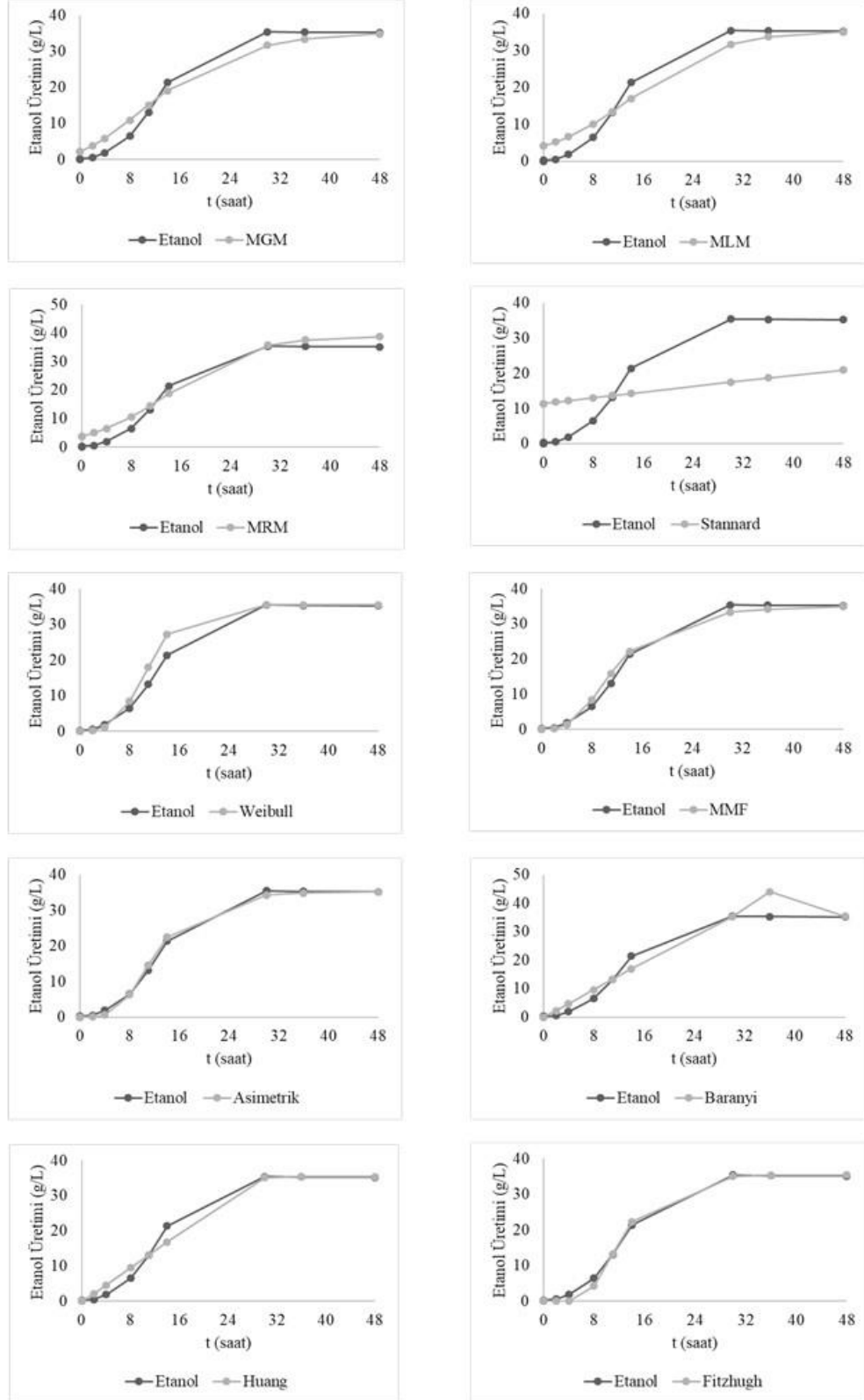
- Dantigny, P., Nanguy, S.P.M., Judet-Correia, D. and Bensoussan, M. 2011. A new model for germination of fungi. *International Journal of Food Microbiology*. 146, 176-181.
- Demirci, A. and Pometto III, A.L. 1995. Repeated-batch fermentation in biofilm reactors with plastic-composite supports for lactic acid production. *Appl. Microbiology. Biotechnology*. 43, 585-589.
- Demirci, A., Pometto III, A.L., Ho, K-LG. 1997. Ethanol production by *Saccharomyces cerevisiae* in biofilm reactors. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*. 19, 299-304.
- Germeç M., Kartal F.K., Bilgic M., Ilgin M., İlhan E., Guldali H., et al. 2016. Ethanol production from rice hull using *Pichia stipitis* and optimization of acid pretreatment and detoxification processes. *BIOTECHNOLOGY PROGRESS*. 32, 872-882.
- Germec, M., Cheng, K.C., Karhan, M. and Turhan, I. 2019. Application of mathematical models to ethanol fermentation in biofilm reactor with carob extract. *Biomass Conversion and Biorefinery*.
- Germec, M., Ozcan, A., Yilmazer, C., Tas, N., Onuk, Z., Demirel, F. and Turhan, I. 2017. Ethanol fermentation from microwave-assisted acid pretreated raw materials by *Scheffersomyces stipitis*. *AgroLife. Scientific Journal*. 6, 2285-5718.
- Gill, P.K., Manhas, R.K. and Singh, P. 2006. "Comparative analysis of thermostability of extracellular inulinase activity from *Aspergillus fumigatus* with commercially available (Novozyme) inulinase". *Bioresource Technology*. 97 (2), 355-358.
- Henderson, P.A. and Seaby, R.M. 2006. Growth II. Pisces Conservation Ltd., Lymington, England.
- Hou, J., Qiu, Z., Han, H. and Zhang, Q. 2018. Toxicity evaluation of lignocellulose-derived phenolic inhibitors on *Saccharomyces cerevisiae* growth by using the QSTR method. *Chemosphere*. 201, 286-293.
- Huang, L. 2013. Optimization of a new mathematical model for bacterial growth. *Food Control*. 32, 283-288.
- Higton, G., Waite, M.J., Morgan, N.L. ve Rockey, J.S. 2005. Endüstriyel Mikrobiyolojiye Giriş. *Palme Yayıncılık*. 148 s.
- Jönsson, L.J. and Martin, C. 2016. Pretreatment of lignocellulose: Formation of inhibitory by-products and strategies for minimizing their effect. *Bioresource Technology*. 199: 103-112.
- Kadar, Z., Szengyel, Z. and Reczey, K. 2004. Simultaneous saccharification and fermentation (SSF) of industrial wastes for the production of ethanol. *Industrial Crops and Products*. 20, 103-110.

- Klinke, H.B., Thomsen, A.B. and Ahring, B.K. 2004. Inhibition of ethanol-producing yeast and bacteria by degradation products produced during pre-treatment of biomass. *Microbial Biotechnology*. 66: 10-26
- Landaeta, R., Aroca, G., Acevedo, F., Teixeira, J.A., Mussatto, S.I. 2013. Adaptation of a flocculent *Saccharomyces cerevisiae* strain to lignocellulosic inhibitors by cell recycle batch fermentation. *Applied Energy*. 120, 124-130
- Lee, K.H., Choi, I.S., Kim, Y.-G., Yang, D.-J., Bae, H.-J., 2011. Enhanced production of bioethanol and ultrastructural characteristics of reused *Saccharomyces cerevisiae* immobilized calcium alginate beads. *Bioresource Technology*. 102, 8191–8198.
- Li, Y.C., Gou, Z.X., Zhang, Y., Xia, Z.Y., Tang, Y.Q. and Kida, K. 2017. Inhibitor tolerance of a recombinant flocculating industrial *Saccharomyces cerevisiae* strain during glucose and xylose co-fermentation. *Brazilian Journal of Microbiology*. 48, 791-800.
- Lin, R., Cheng, J., Ding, L., Song, W., Zhou, J. and Cen, K. 2015. Inhibitory effects of furan derivatives and phenolic compounds on dark hydrogen fermentation. *Bioresource Technology*, 196: 250-255.
- Melikoğlu, M., Albostan, A. 2011. Türkiye’de biyoetanol üretimi ve potansiyeli. *Gazi Üniversitesi Mühendislik-Mimarlık Fakültesi Dergisi*. 26, 151-160.
- Miller, G.L. 1959. Use of Dinitrosalicylic Acid Reagent for Determination of Reducing Sugar. *Analytical Chemistry*. 31(3), 426-428.
- Morgan, P.H., Mercer, L.P. and Foldin, N.W. 1975. General model for nutritional responses of higher organisms. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 72, 4327-4331.
- Narayanan, V., Schelin, J., Gorwa-Grauslund, M., Niel, E.W. and Carlquist, M. 2017. Increased lignocellulosic inhibitor tolerance of *Saccharomyces cerevisiae* cell populations in early stationary phase. *Biotechnology for Biofuels*. 10(1), 114.
- Oğuzhan, P. and Yangılar, F. 2013. Gıdalarda Mikroorganizma İnaktivasyonunun Modellemesi ve Uygulaması. *Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi*. 10 (3), 54-58.
- Olsson, L. and Hahn-Hagerdal, B. 1996. Fermentation of lignocellulosic hydrolysates for ethanol production. *Enzyme and Microbial Technology*. 18, 312-331.
- Pitt, R.E., Cross T.L., Pell A.N., Schofield, P. and Doane P.H. 1999. Use of in vitro gas production models in ruminal kinetics. *Mathematical Biosciences*. 159, 145-163.
- Rawat, H.K., Soni, H., Kango, N. and Kumar, C.G. 2017. "Continuous generation of fructose from *Taraxacum officinale* tap root extract and inulin by immobilized inulinase in a packed-bed reactor". *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*. 9, 134-140.

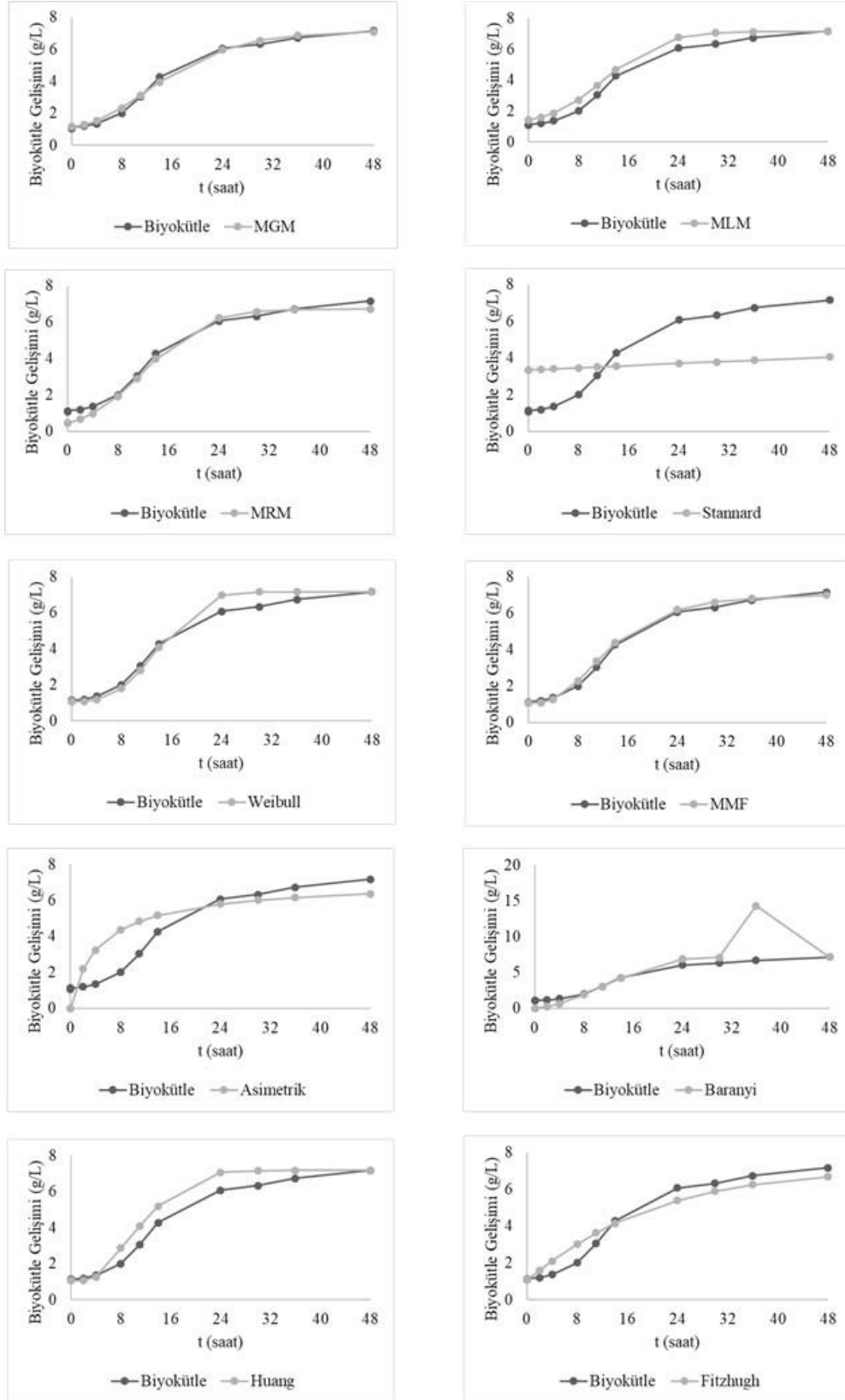
- Razmovski, R., Vucurovic, V., 2011. Ethanol production from sugar beet molasses by *Saccharomyces cerevisiae* entrapped in an alginate-maize stem ground tissue matrix. *Enzyme Microbial Technology*. 48, 378–385.
- Ross, T. 1996. Indices for performance evaluation of predictive models in food microbiology. *Journal of Applied Bacteriology*. 81, 501-508.
- Shuler, M.L. and Kargı, F. Bioprocess Engineering, Basic Concepts. Prentice Hall PTR, New Jersey. 2002.
- Singh, R.S., Dhaliwal, R. and Puri, M. 2007. "Production of high fructose syrup from Asparagus inulin using immobilized exoinulinase from *Kluyveromyces marxianus* YS-1". *Journal of industrial microbiology & biotechnology*. 34 (10), 649-655.
- Stannard, C., Williams, A. and Gibbs, P. 1985. Temperature/growth relationships for psychrotrophic food-spoilage bacteria. *Food Microbiology*. 2, 115-122.
- Uygun, M. 2006. *Aspergillus niger* ATCC 9642'nin aljinat küreleri üzerine immobilizasyonu ve bazı tekstil boya lar ı ile zeytin karasuyunun renk gideriminde kullanılmasının araştır ılması. *Adnan Menderes Üniversitesi, Yüksek Lisans Tezi*.
- Turhan, I., Bialka, K.L., Demirci, A. 2010. Ethanol production from carob extract by using *Saccharomyces cerevisiae*. *Bioresource Technology*. 101, 5290-5296.
- Weibull, W. A. 1951. Statistical distribution function of wide applicability. *Journal of Applied Mechanics*. 18, 293-297.
- Yatmaz, E. 2012. Kalsiyum aljinatta immobilize edilmiş *Saccharomyces cerevisiae* hücreleri ile keçiboynuzu ekstrakt ında etanol üretim şartlarının optimizasyonu. *Akdeniz Üniversitesi, Yüksek Lisans Tezi*.
- Yatmaz, E., Turhan, I., Karhan, M. 2013. Optimization Of Ethanol Production From Carob Pod Extract Using Immobilized *Saccharomyces cerevisiae* Cells In A Stirred Tank Bioreactor. *BIORESOURC E TECHNOLOGY*. 135, 365-371.
- Zwiretering, M., Jongenburger, I., Rombouts, F. and Vant Riet, K. 1990. Modeling of the bacterial growth curve. *Applied and Environmental Microbiology*. 56, 1875-1881.

7. EKLER

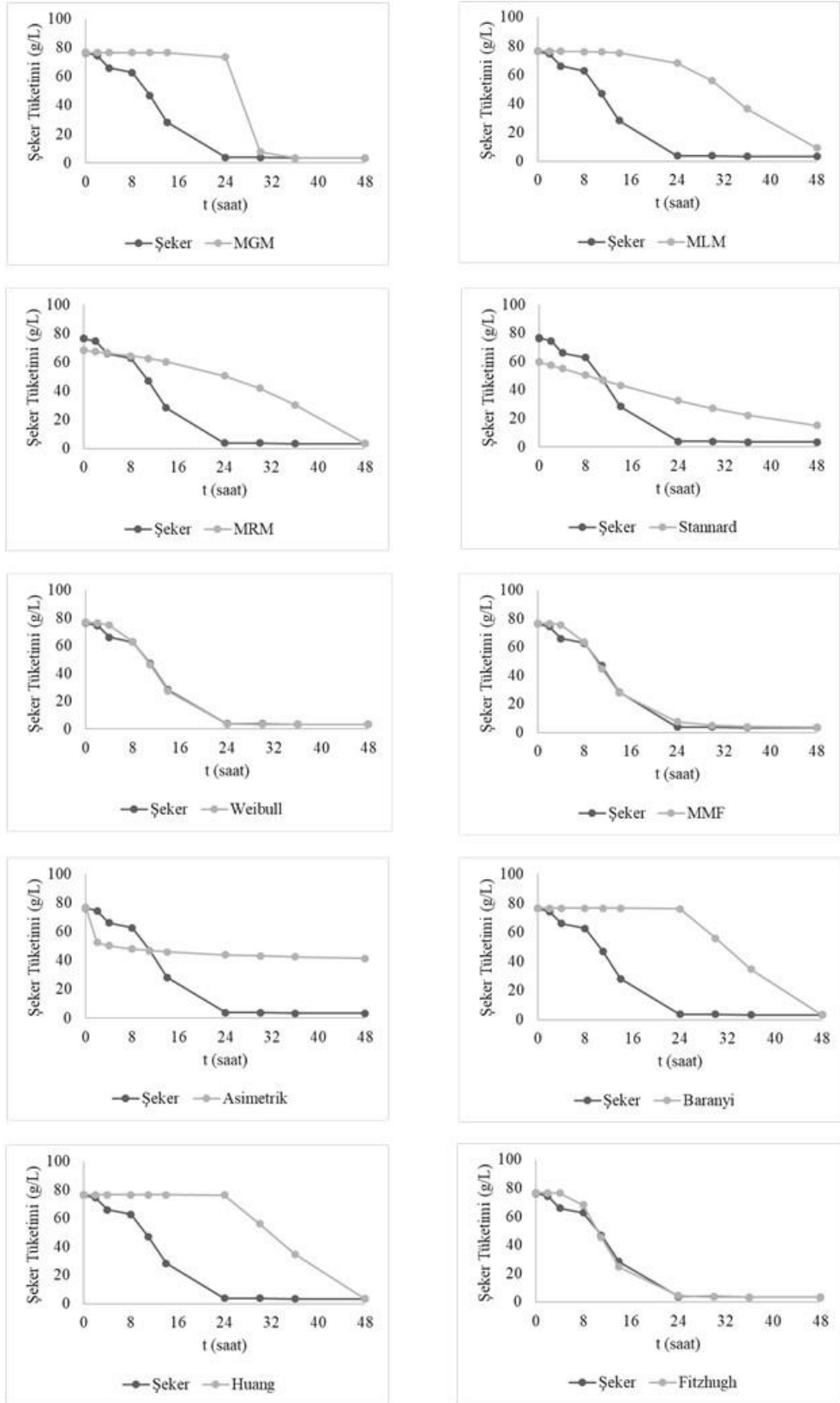
EK-1. Kontrol fermentasyonundan elde edilen etanol üretiminin matematiksel modellerden elde edilen değerlerle karşılaştırılması



EK-2. Kontrol fermentasyonundan elde edilen biyokütle gelişiminin matematiksel modellerden elde edilen değerlerle karşılaştırılması



EK-3. Kontrol fermentasyonundan elde edilen şeker tüketiminin matematiksel modellerden elde edilen değerlerle karşılaştırılması



EK-4. Kontrol fermentasyonundan elde edilen etanol üretiminin matematiksel modellemesinde kullanılan parametreler

Parametre	Değer	Zaman (saat)	Etanol Üretimi (g/L)
A_0 (g/L)	0	0	0,000
A_m (g/L)	35,431	0	0,263
Q (g/L/h)	1,229	2	0,534
$\lambda(h)$	0,197	4	1,868
v_1	1,100	8	6,486
v_2	76,600	11	13,150
v_3	14	14	21,369
v_4	2	30	35,431
β	322	36	35,299
h_0 (g/L)	0,242	48	35,200
d	3,700		
T_L	12,084		
k_1	0,081		
k_2	0,085		
k_3	0,245		
k_4	1		
δ_1	3		
δ_2	3		
e	3,100		
a	4		

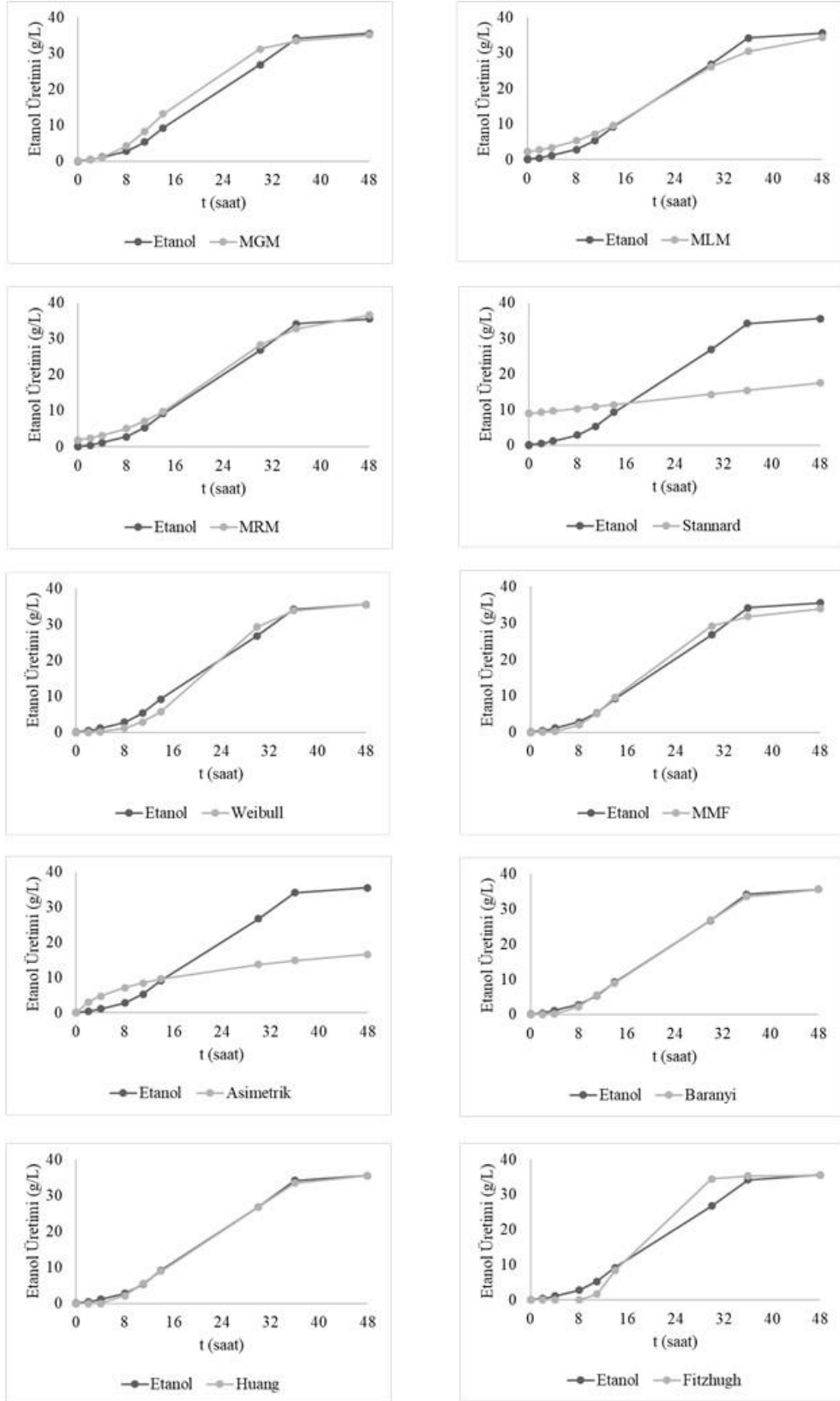
EK-5. Kontrol fermentasyonundan elde edilen biyokütle gelişiminin matematiksel modellemesinde kullanılan parametreler

Parametre	Değer	Zaman (saat)	Biyokütle Gelişimi (g/L)
A_0 (g/L)	1,063	0	1,063
A_m (g/L)	7,164	0	1,127
Q (g/L/h)	0,410	2	1,190
λ (h)	3,577	4	1,353
v_1	0,940	8	2,002
v_2	68	11	3,041
v_3	1,100	14	4,270
v_4	2	24	6,072
β	305	30	6,328
h_0 (g/L)	1,465	36	6,735
d	0,910	48	7,164
T_L	4,931		
k_1	0,063		
k_2	0,076		
k_3	0,055		
k_4	1		
δ_1	3		
δ_2	2,800		
e	2,160		
a	4		

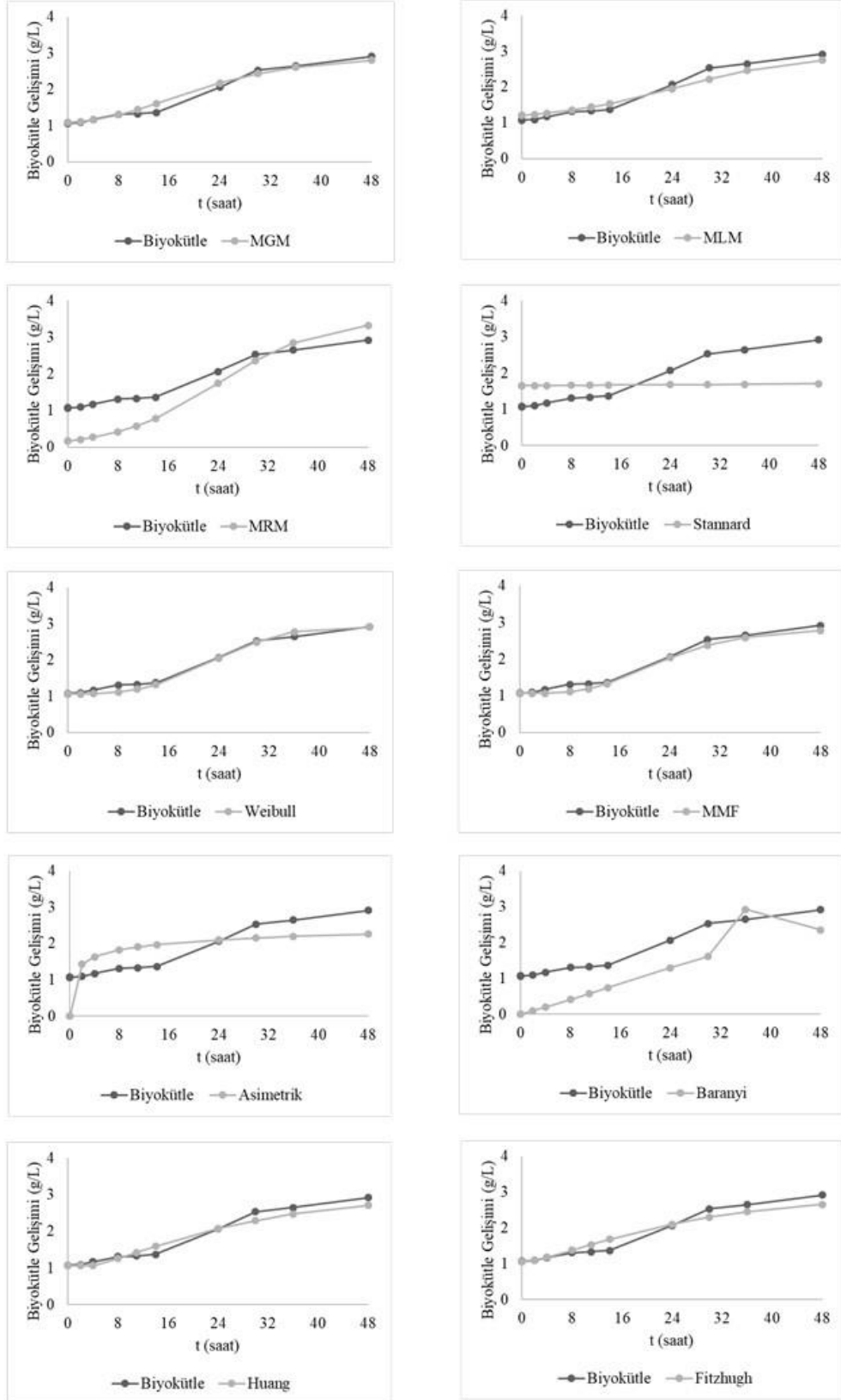
EK-6. Kontrol fermentasyonundan elde edilen şeker tüketiminin matematiksel modellemesinde kullanılan parametreler

Parametre	Değer	Zaman (saat)	Şeker Tüketimi (g/L)
A_0 (g/L)	3,239	0	76,593
A_m (g/L)	76,593	0	76,261
Q (g/L/h)	3,554	2	74,436
λ (h)	24,212	4	65,987
v_1	320	8	62,661
v_2	80,300	11	46,930
v_3	22,700	14	28,233
v_4	2	24	3,778
β	321	30	3,718
h_0 (g/L)	86,039	36	3,359
d	0,2	48	3,239
T_L	72,334		
k_1	0,074		
k_2	0,085		
k_3	0,300		
k_4	1		
δ_1	3		
δ_2	3,950		
e	14		
a	4		

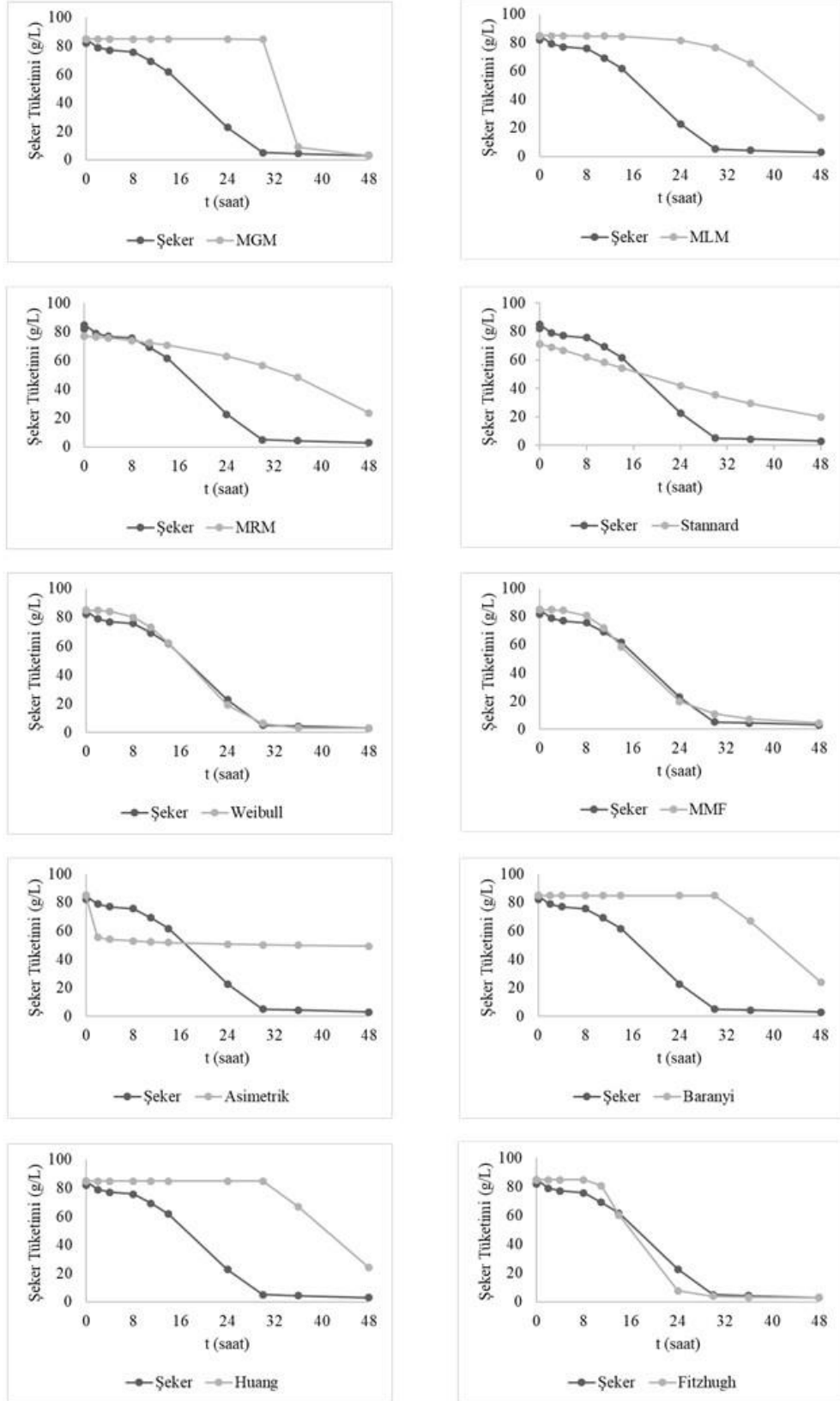
EK-7. 2g/L HMF ilavesi ile gerçekleştirilen fermentasyondan elde edilen etanol üretiminin matematiksel modellerden elde edilen değerlerle karşılaştırılması



EK-8. 2 g/L HMF ilavesi ile gerçekleştirilen fermentasyondan elde edilen biyokütle gelişiminin matematiksel modellerden elde edilen değerlerle karşılaştırılması



EK-9. 2 g/L HMF ilavesi ile gerçekleştirilen fermentasyondan elde edilen şeker tüketiminin matematiksel modellerden elde edilen değerlerle karşılaştırılması



EK-10. 2 g/L HMF ilavesi ile gerçekleştirilen fermentasyondan elde edilen etanol üretiminin matematiksel modellemesinde kullanılan parametreler

Parametre	Değer	Zaman (saat)	Etanol Üretimi (g/L)
A_0 (g/L)	0	0	0
A_m (g/L)	35,563	0	0,120
Q (g/L/h)	1,121	2	0,400
λ (h)	6,043	4	1,169
v_1	1,060	8	2,803
v_2	79,700	11	5,313
v_3	41	14	9,205
v_4	2	30	26,803
β	322	36	34,202
h_0 (g/L)	6,772	48	35,563
d	0,700		
T_L	57,668		
k_1	0,040		
k_2	0,053		
k_3	0,240		
k_4	1		
δ_1	3		
δ_2	3,290		
e	4		
a	4		

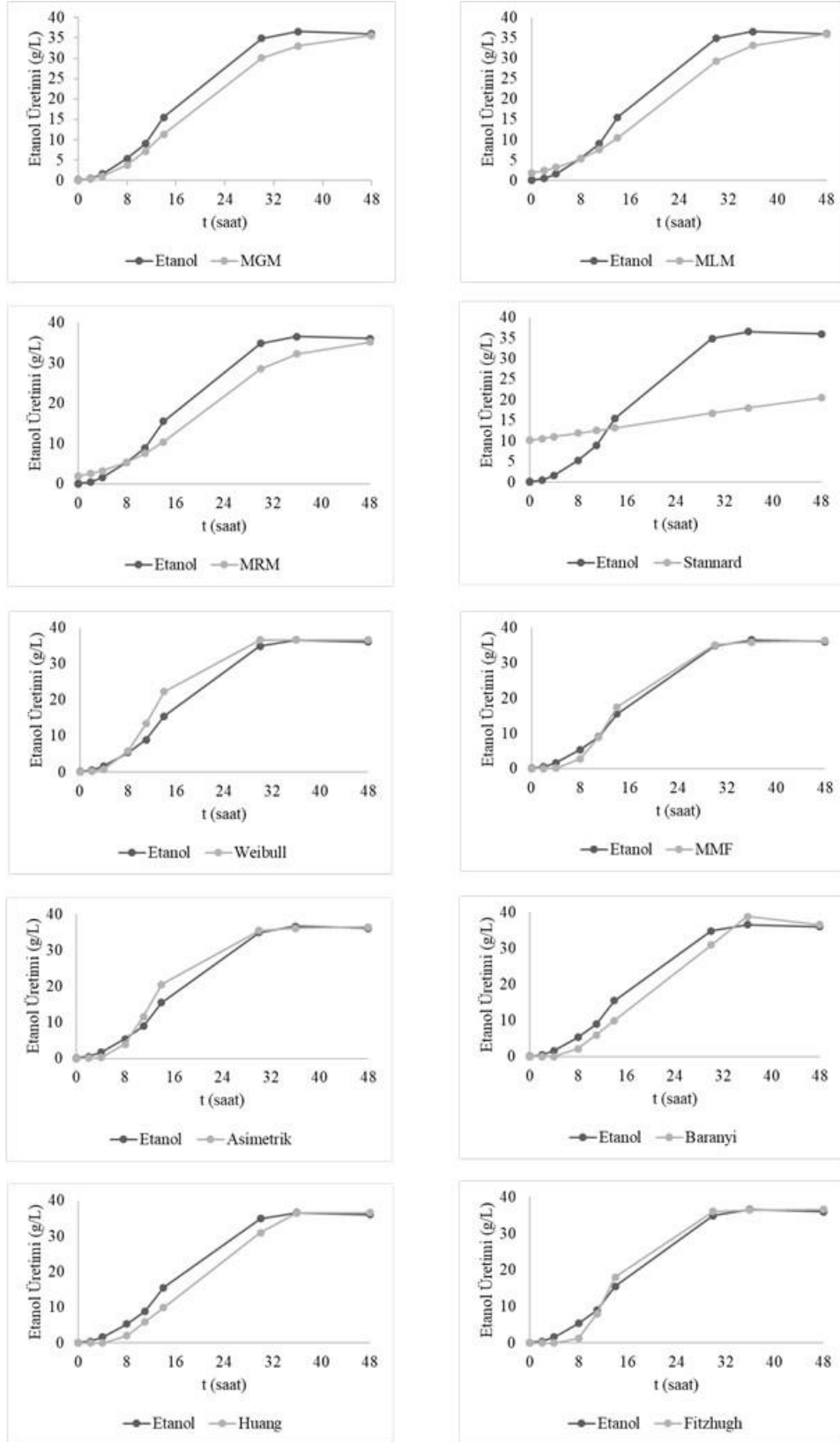
EK-11. 2 g/L HMF ilavesi ile gerçekleştirilen fermentasyondan elde edilen biyokütle gelişiminin matematiksel modellemesinde kullanılan parametreler

Parametre	Değer	Zaman (saat)	Biyokütle Gelişimi (g/L)
A_0 (g/L)	1,063	0	1,063
A_m (g/L)	2,917	0	1,077
Q (g/L/h)	0,073	2	1,093
λ (h)	4,781	4	1,172
v_1	1,200	8	1,311
v_2	64	11	1,331
v_3	1,600	14	1,368
v_4	2	24	2,067
β	302	30	2,532
h_0 (g/L)	0,346	36	2,647
d	0,400	48	2,917
T_L	2,225		
k_1	0,038		
k_2	0,043		
k_3	0,05		
k_4	1		
δ_1	3		
δ_2	3,500		
e	3,500		
a	4		

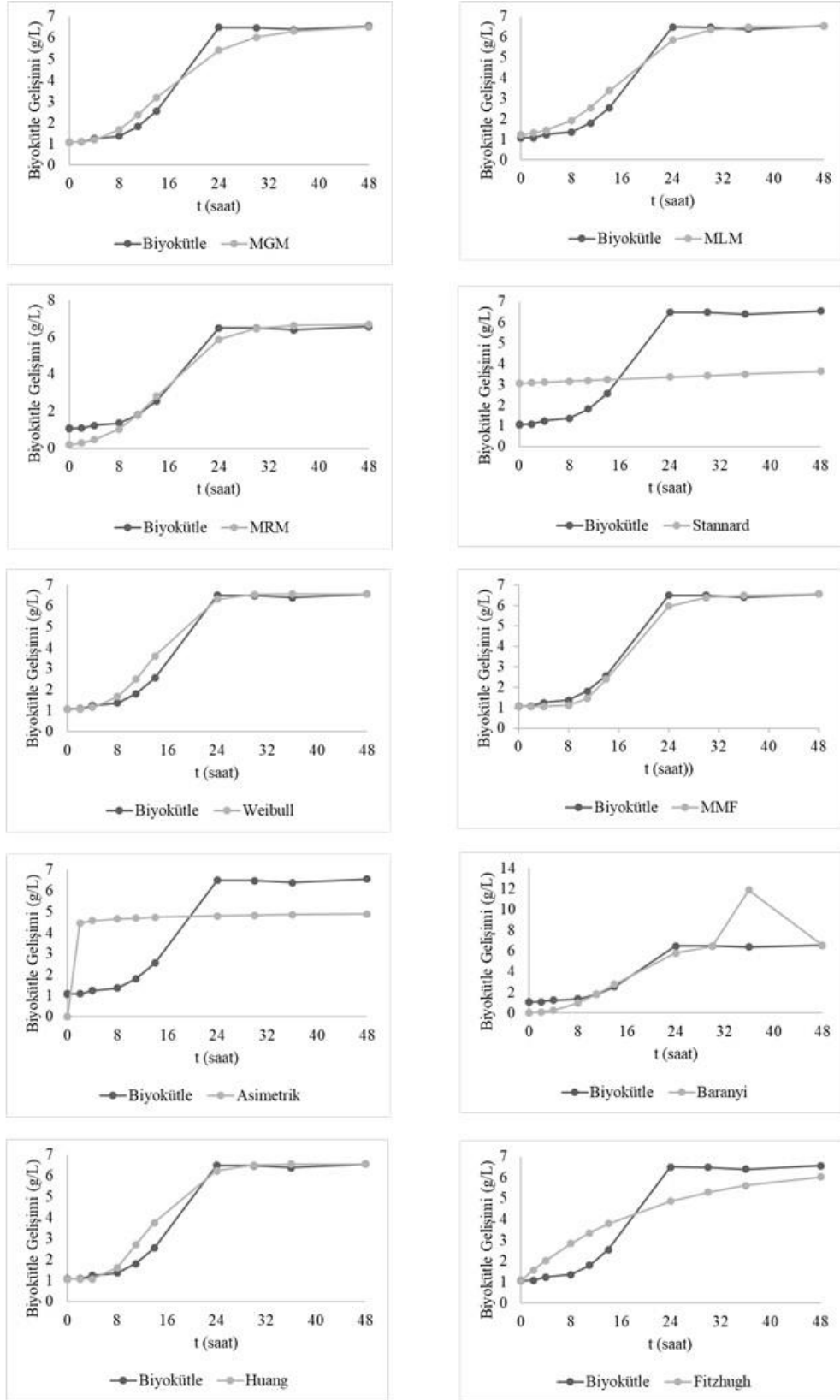
EK-12. 2 g/L HMF ilavesi ile gerçekleştirilen fermentasyondan elde edilen şeker tüketiminin matematiksel modellemesinde kullanılan parametreler

Parametre	Değer	Zaman (saat)	Şeker Tüketimi (g/L)
A_0 (g/L)	2,984	0	82,032
A_m (g/L)	84,863	0	84,863
Q (g/L/h)	3,579	2	78,975
λ (h)	31,011	4	76,998
v_1	300	8	75,739
v_2	84,100	11	69,267
v_3	80	14	61,762
v_4	2	24	22,760
β	323	30	5,081
h_0 (g/L)	110,991	36	4,272
d	0,1	48	2,984
T_L	694,908		
k_1	0,049		
k_2	0,059		
k_3	0,300		
k_4	1		
δ_1	3		
δ_2	3,900		
e	17		
a	4		

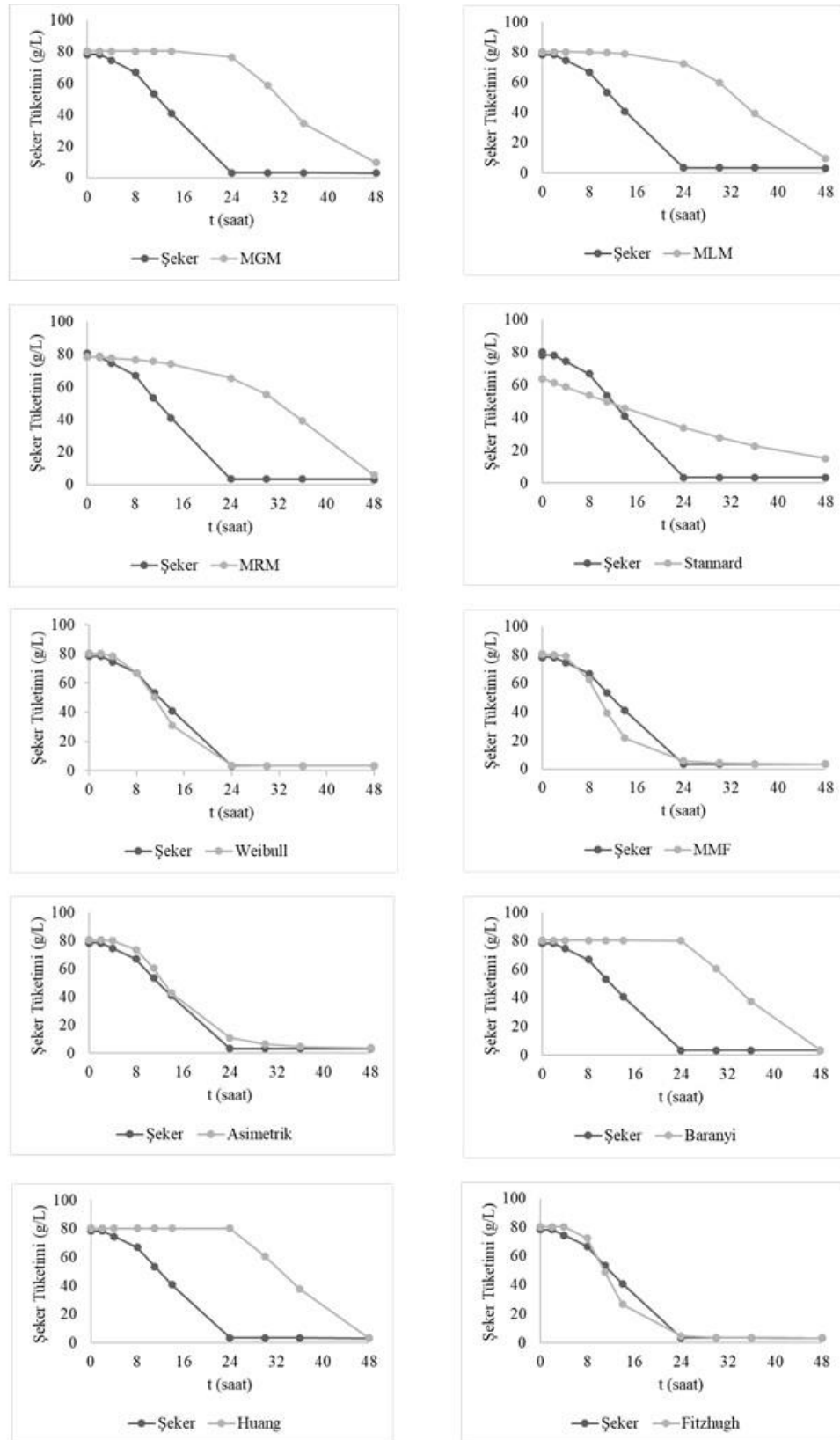
EK-13. 2 g/L furfural ilavesi ile gerçekleştirilen fermentasyondan elde edilen etanol üretiminin matematiksel modellerden elde edilen değerlerle karşılaştırılması



EK-14. 2 g/L furfural ilavesi ile gerçekleştirilen fermentasyondan elde edilen biyokütle gelişiminin matematiksel modellerden elde edilen değerlerle karşılaştırılması



EK-15. 2 g/L furfural ilavesi ile gerçekleştirilen fermentasyondan elde edilen şeker tüketiminin matematiksel modellerden elde edilen değerlerle karşılaştırılması



EK-16. 2 g/L furfural ilavesi ile gerçekleştirilen fermentasyondan elde edilen etanol üretiminin matematiksel modellemesinde kullanılan parametreler

Parametre	Değer	Zaman (saat)	Etanol Üretimi (g/L)
A_0 (g/L)	0	0	0,000
A_m (g/L)	36,567	0	0,159
Q (g/L/h)	1,312	2	0,475
λ (h)	6,401	4	1,666
v_1	0,980	8	5,368
v_2	79	11	8,982
v_3	23	14	15,506
v_4	2	30	34,865
β	325	36	36,567
h_0 (g/L)	8,396	48	36,016
d	4,200		
T_L	13,230		
k_1	0,070		
k_2	0,070		
k_3	0,250		
k_4	1		
δ_1	3		
δ_2	4,300		
e	3,100		
a	4		

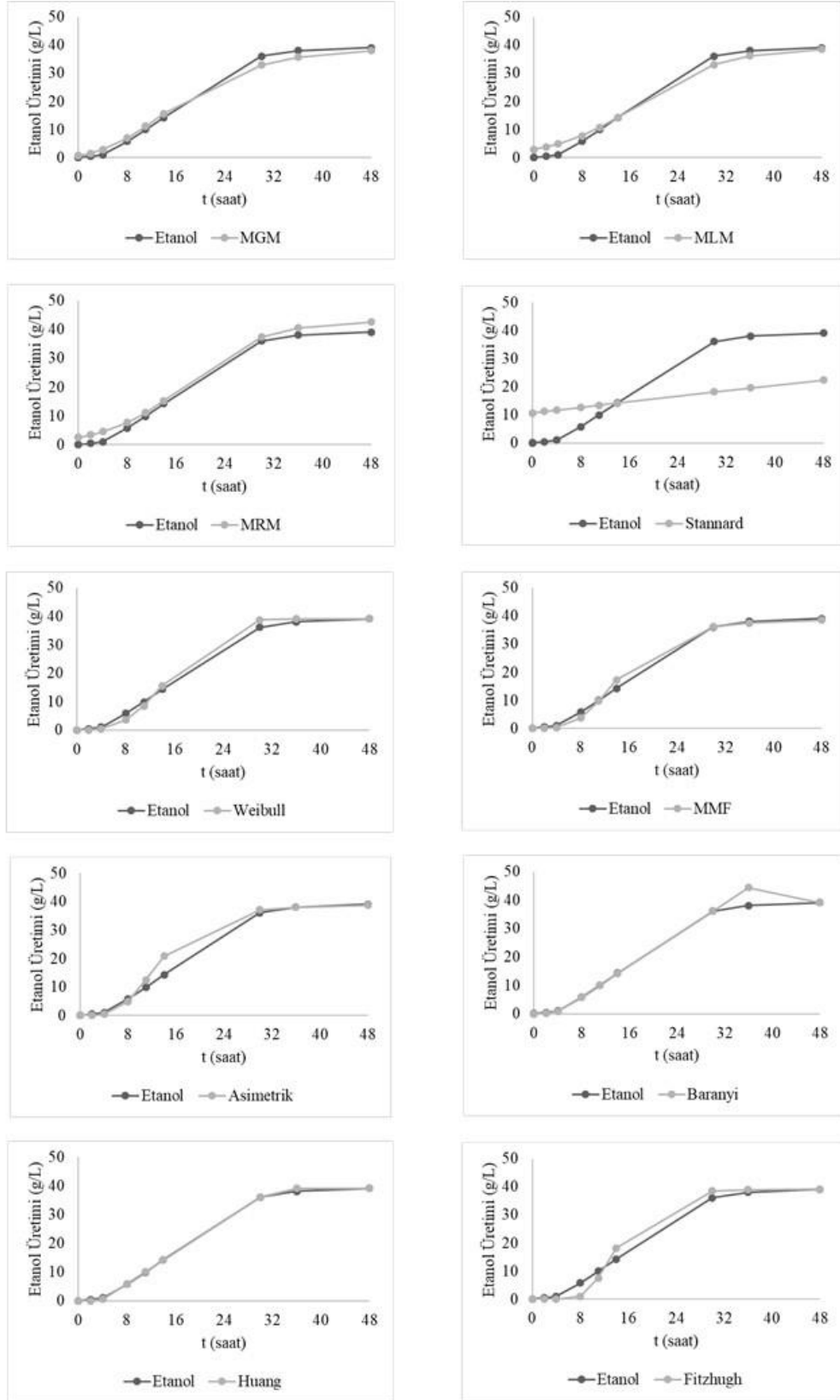
EK-17. 2 g/L furfural ilavesi ile gerçekleştirilen fermentasyondan elde edilen biyokütle gelişiminin matematiksel modellemesinde kullanılan parametreler

Parametre	Değer	Zaman (saat)	Biyokütle Gelişimi (g/L)
A_0 (g/L)	1,065	0	1,065
A_m (g/L)	6,560	0	1,080
Q (g/L/h)	0,369	2	1,085
λ (h)	6,517	4	1,243
v_1	1,020	8	1,366
v_2	68	11	1,811
v_3	1	14	2,557
v_4	2	24	6,498
β	305	30	6,486
h_0 (g/L)	2,405	36	6,392
d	0,100	48	6,560
T_L	0,001		
k_1	0,061		
k_2	0,059		
k_3	0,049		
k_4	1		
δ_1	3		
δ_2	6		
e	2,500		
a	4		

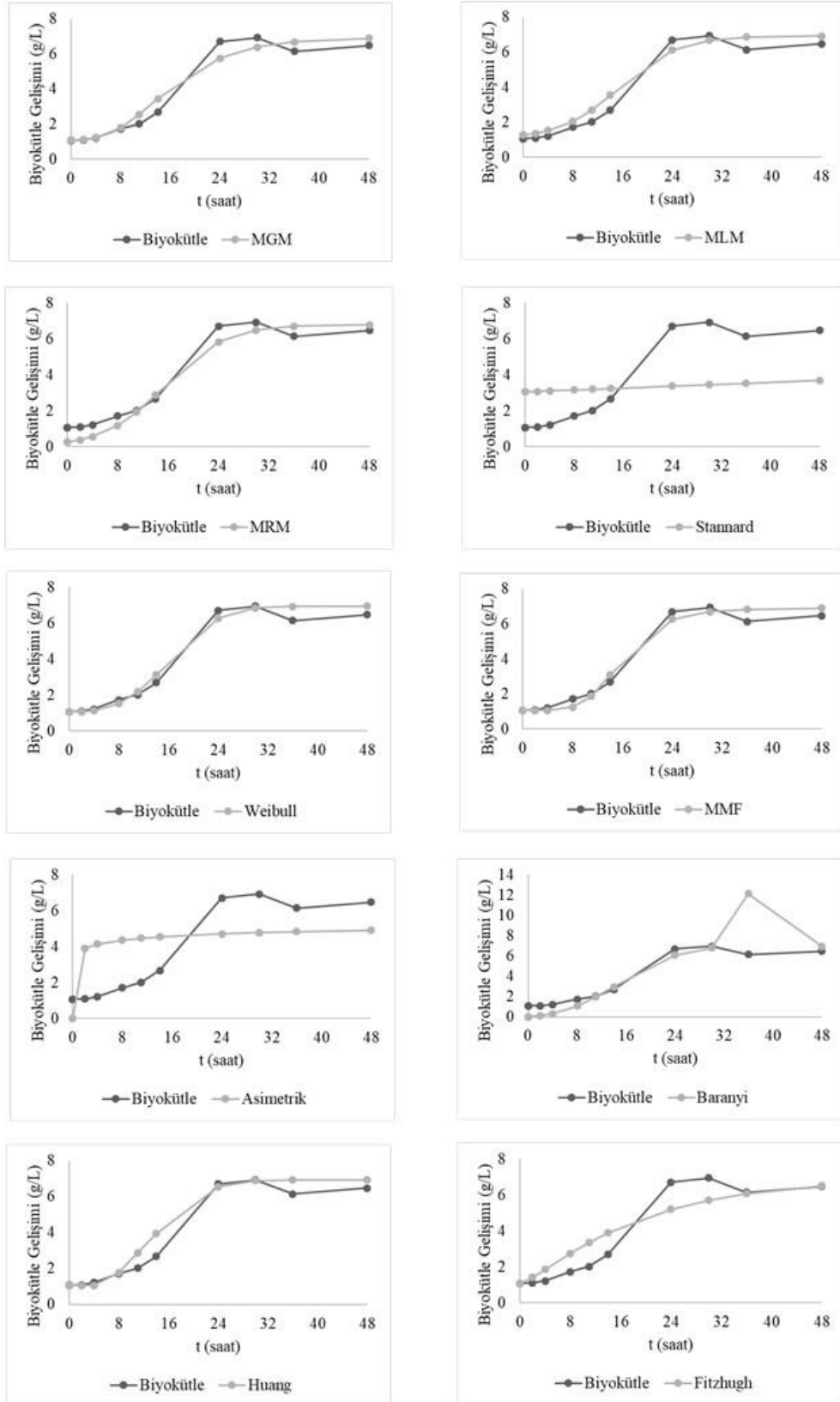
EK-18. 2 g/L furfural ilavesi ile gerçekleştirilen fermentasyondan elde edilen şeker tüketiminin matematiksel modellemesinde kullanılan parametreler

Parametre	Değer	Zaman(h)	Şeker Tüketimi (g/L)
A_0 (g/L)	3,254	0	80,369
A_m (g/L)	80,369	0	78,436
Q (g/L/h)	3,825	2	78,391
λ (h)	24,852	4	74,616
v_1	4,300	8	66,930
v_2	82	11	53,447
v_3	24	14	40,907
v_4	2	24	3,400
β	325	30	3,344
h_0 (g/L)	95,053	36	3,344
d	4,150	48	3,254
T_L	14,193		
k_1	0,072		
k_2	0,094		
k_3	0,300		
k_4	1		
δ_1	3		
δ_2	4,200		
e	3,100		
a	4		

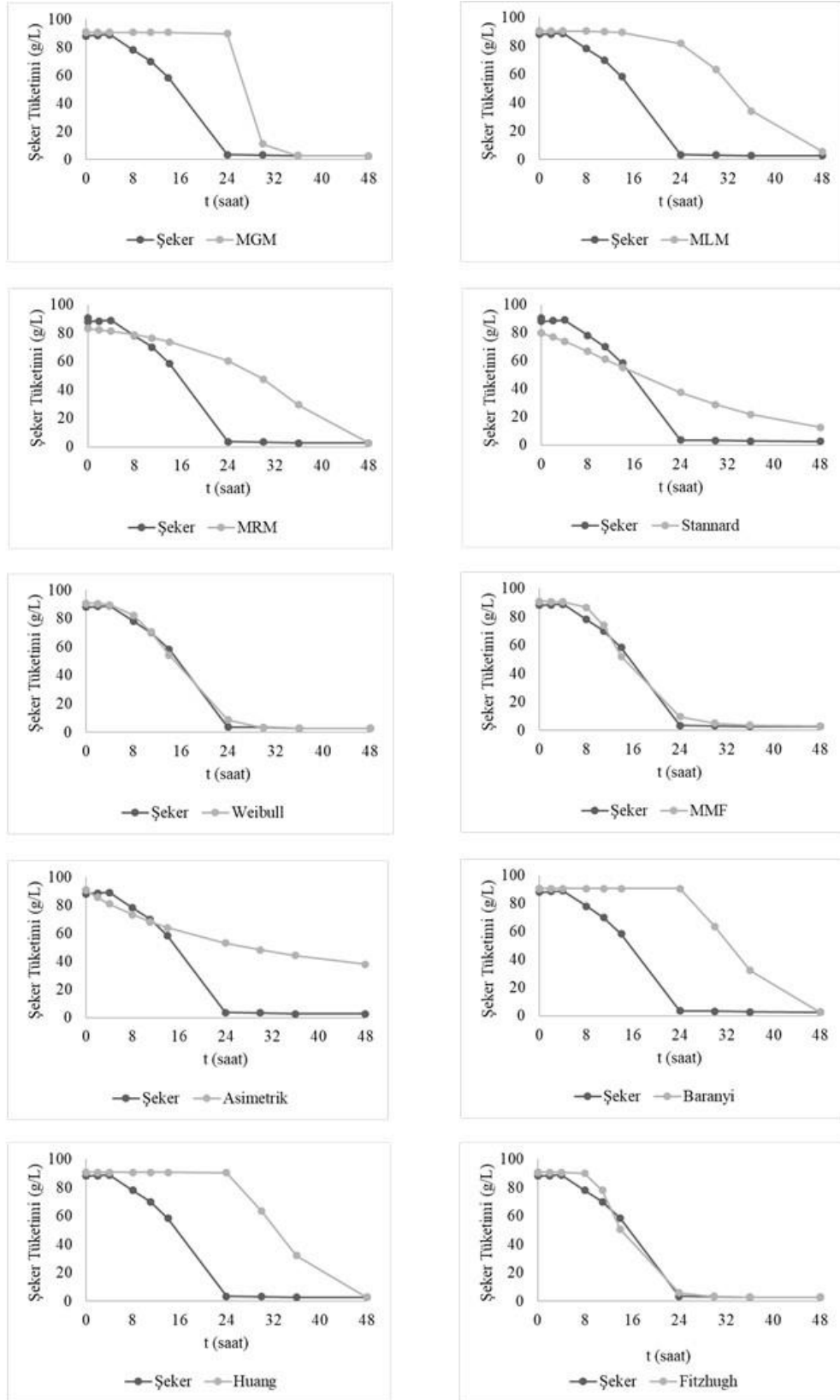
EK-19. 0,5 g/L fenol ilavesi ile gerçekleştirilen fermentasyondan elde edilen etanol üretiminin matematiksel modellerden elde edilen değerlerle karşılaştırılması



EK-20. 0,5 g/L fenol ilavesi ile gerçekleştirilen fermentasyondan elde edilen biyokütle gelişiminin matematiksel modellerden elde edilen değerlerle karşılaştırılması



EK-21. 0,5 g/L fenol ilavesi ile gerçekleştirilen fermentasyondan elde edilen şeker tüketiminin matematiksel modellerden elde edilen değerlerle karşılaştırılması



EK-22. 0,5 g/L fenol ilavesi ile gerçekleştirilen fermentasyondan elde edilen etanol üretiminin matematiksel modellemesinde kullanılan parametreler

Parametre	Değer	Zaman (saat)	Etanol Üretimi (g/L)
A_0 (g/L)	0	0	0,000
A_m (g/L)	39,093	0	0,051
Q (g/L/h)	1,372	2	0,432
λ (h)	3,681	4	1,005
v_1	1,100	8	5,832
v_2	78	11	9,916
v_3	25	14	14,306
v_4	2	30	36,085
β	319	36	38,046
h_0 (g/L)	5,050	48	39,093
d	3,700		
T_L	13,474		
k_1	0,057		
k_2	0,067		
k_3	0,250		
k_4	1		
δ_1	3		
δ_2	3,600		
e	3		
a	4		

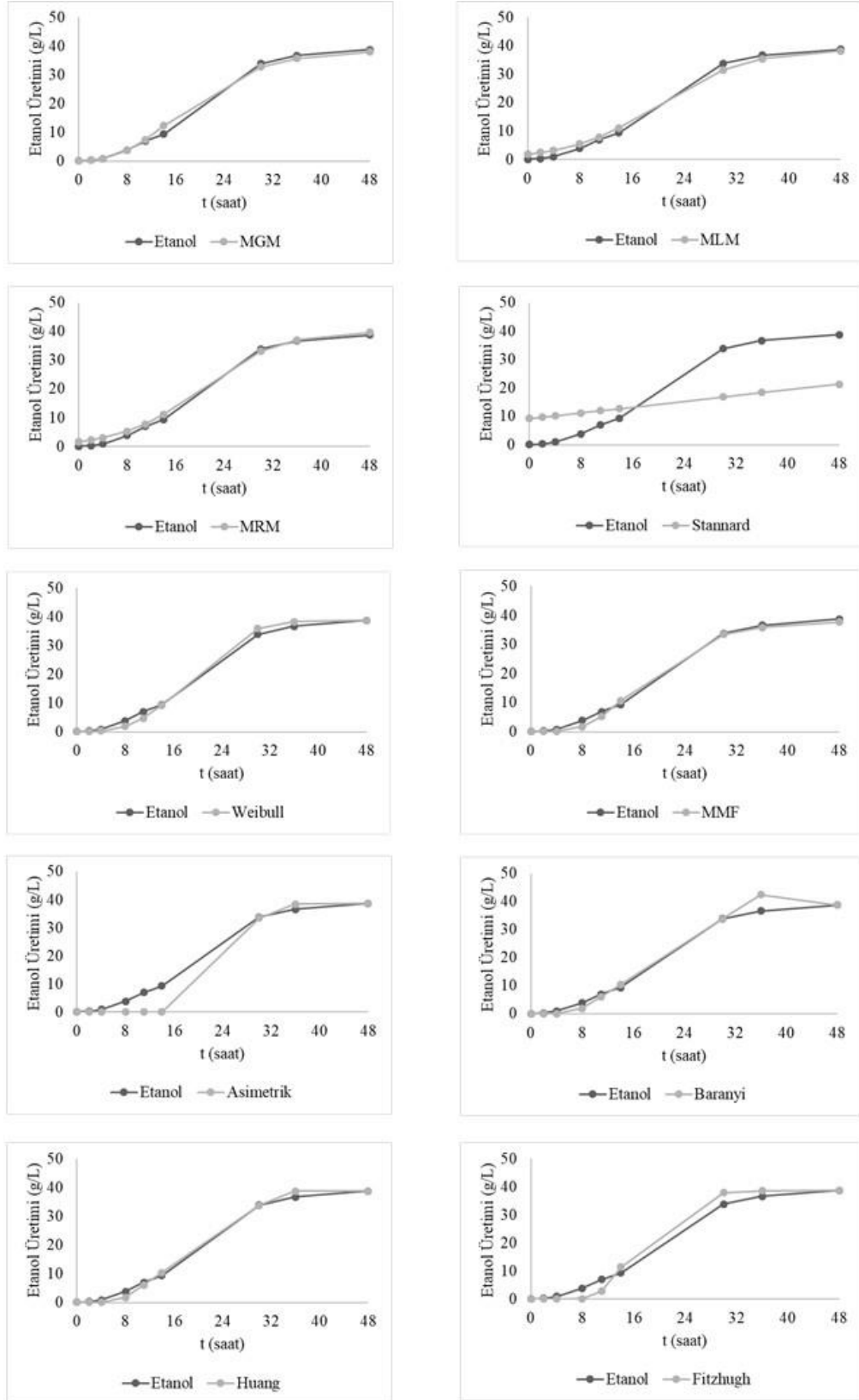
EK-23. 0,5 g/L fenol ilavesi ile gerçekleştirilen fermentasyondan elde edilen biyokütle gelişiminin matematiksel modellemesinde kullanılan parametreler

Parametre	Değer	Zaman (saat)	Biyokütle Gelişimi (g/L)
A_0 (g/L)	1,063	0	1,063
A_m (g/L)	6,938	0	1,077
Q (g/L/h)	0,372	2	1,100
λ (h)	6,103	4	1,213
v_1	0,980	8	1,719
v_2	68	11	2,012
v_3	1,300	14	2,683
v_4	2	24	6,708
β	300	30	6,938
h_0 (g/L)	2,268	36	6,147
d	0,200	48	6,480
T_L	0,563		
k_1	0,054		
k_2	0,063		
k_3	0,060		
k_4	1		
δ_1	3		
δ_2	5		
e	2,600		
a	4		

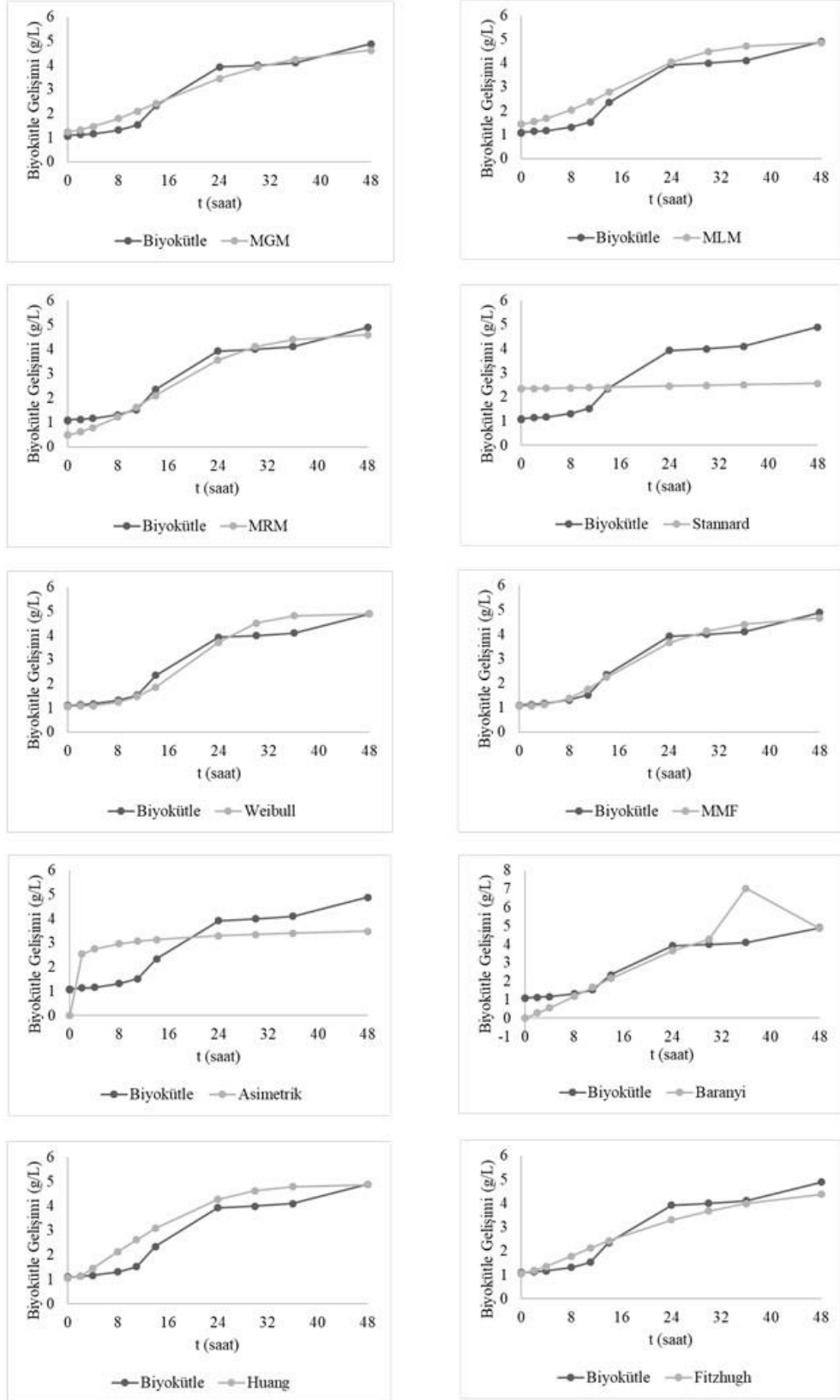
EK-24. 0,5 g/L fenol ilavesi ile gerçekleştirilen fermentasyondan elde edilen şeker tüketiminin matematiksel modellemesinde kullanılan parametreler

Parametre	Değer	Zaman (saat)	Şeker Tüketimi (g/L)
A_0 (g/L)	2,729	0	90,616
A_m (g/L)	90,616	0	88,099
Q (g/L/h)	5,205	2	88,504
λ (h)	24,785	4	88,953
v_1	286	8	78,122
v_2	87	11	70,032
v_3	52	14	58,358
v_4	2	24	3,568
β	323	30	3,329
h_0 (g/L)	129,001	36	2,744
d	1	48	2,729
T_L	32,260		
k_1	0,058		
k_2	0,068		
k_3	0,300		
k_4	1		
δ_1	3		
δ_2	5		
e	11		
a	4		

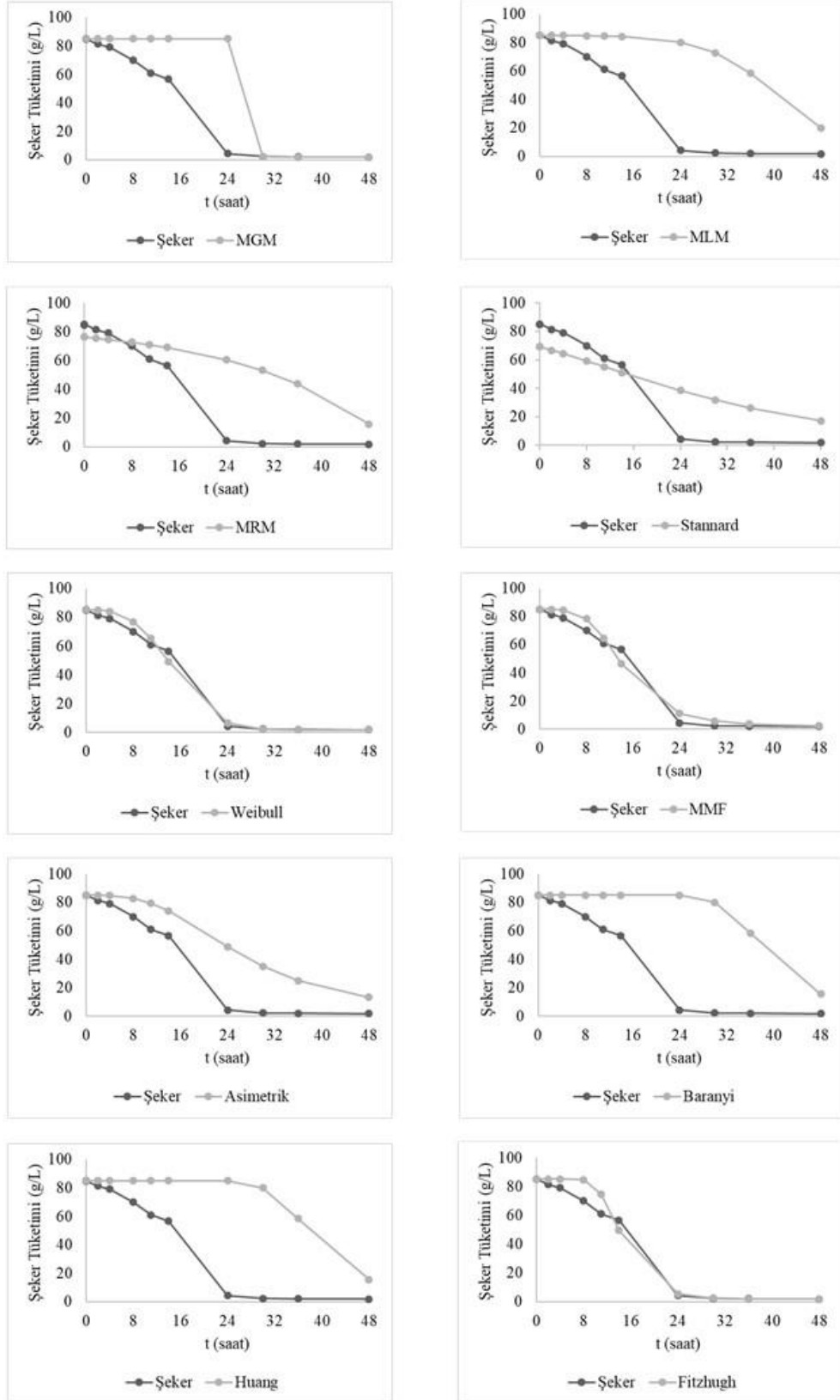
EK-25. 2,5 g/L asetik asit ilavesi ile pH kontrolsüz gerçekleştirilen fermentasyondan elde edilen etanol üretiminin matematiksel modellerden elde edilen değerlerle karşılaştırılması



EK-26. 2,5 g/L asetik asit ilavesi ile pH kontrolsüz gerçekleştirilen fermentasyondan elde edilen biyokütle gelişiminin matematiksel modellerden elde edilen değerlerle karşılaştırılması



EK-27. 2,5 g/L asetik asit ilavesi ile pH kontrolsüz gerçekleştirilen fermentasyondan elde edilen şeker tüketiminin matematiksel modellerden elde edilen değerlerle karşılaştırılması



EK-28. 2,5 g/L asetik asit ilavesi ile pH kontrolsüz gerçekleştirilen fermentasyondan elde edilen etanol üretiminin matematiksel modellemesinde kullanılan parametreler

Parametre	Değer	Zaman (saat)	Etanol Üretimi (g/L)
A_0 (g/L)	0,037	0	0,037
A_m (g/L)	38,73	0	0,091
Q (g/L/h)	1,453	2	0,258
λ (h)	6,833	4	0,92
v_1	1,037	8	3,847
v_2	79,600	11	6,962
v_3	40	14	9,341
v_4	2	30	33,841
β	319	36	36,642
h_0 (g/L)	9,931	48	38,73
d	17		
T_L	26,901		
k_1	0,046		
k_2	0,055		
k_3	0,250		
k_4	1		
δ_1	3		
δ_2	3,700		
e	3,200		
a	4		

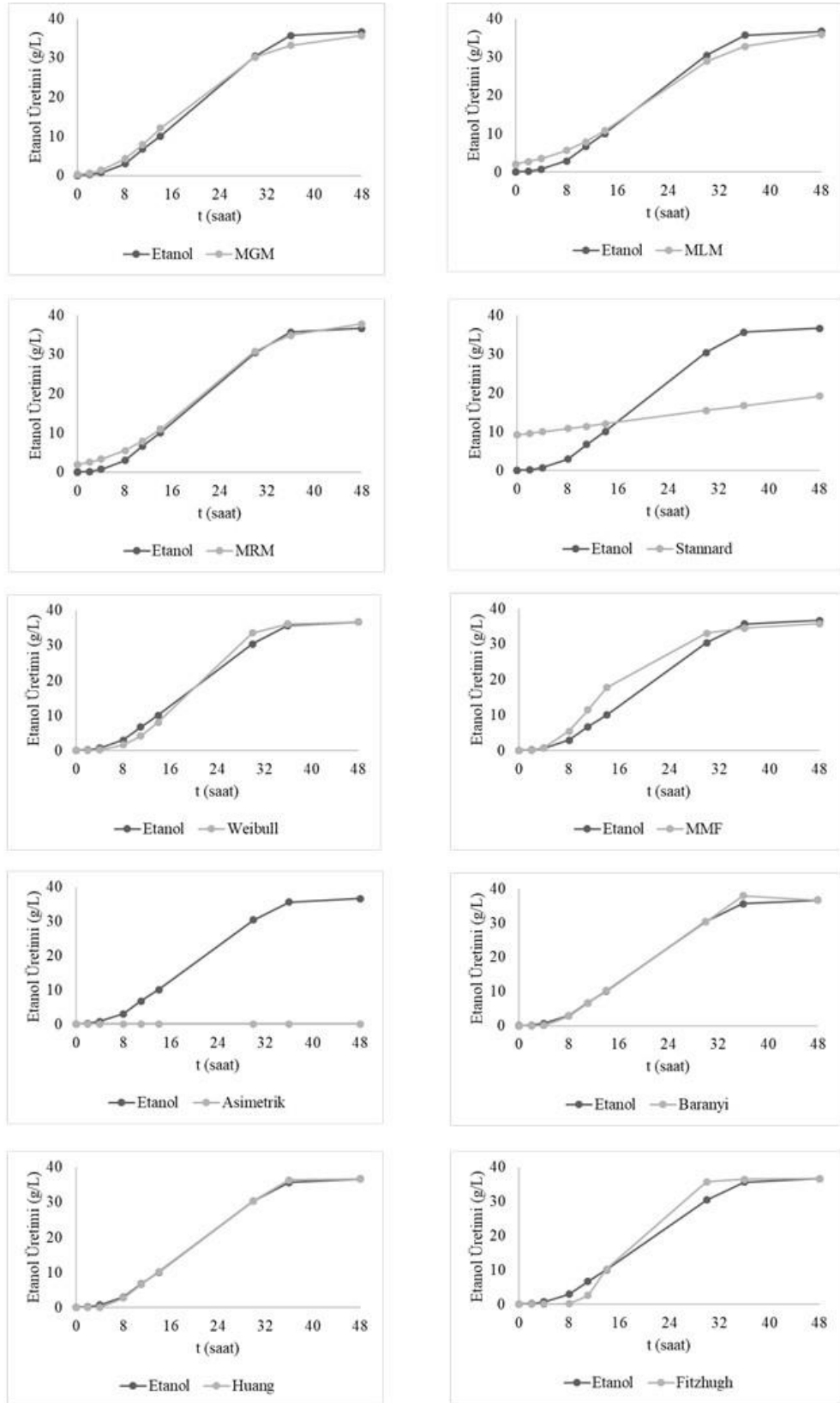
EK-29. 2,5 g/L asetik asit ilavesi ile pH kontrolsüz gerçekleştirilen fermentasyondan elde edilen biyokütle gelişiminin matematiksel modellemesinde kullanılan parametreler

Parametre	Değer	Zaman (saat)	Biyokütle Gelişimi (g/L)
A_0 (g/L)	1,067	0	1,067
A_m (g/L)	4,890	0	1,098
Q (g/L/h)	0,178	2	1,133
λ (h)	1,733	4	1,165
v_1	0,950	8	1,315
v_2	67,400	11	1,526
v_3	1,500	14	2,345
v_4	2	24	3,927
β	304	30	3,996
h_0 (g/L)	0,308	36	4,102
d	0,260	48	4,89
T_L	1,484		
k_1	0,044		
k_2	0,054		
k_3	0,050		
k_4	1		
δ_1	3		
δ_2	2,900		
e	2,160		
a	4		

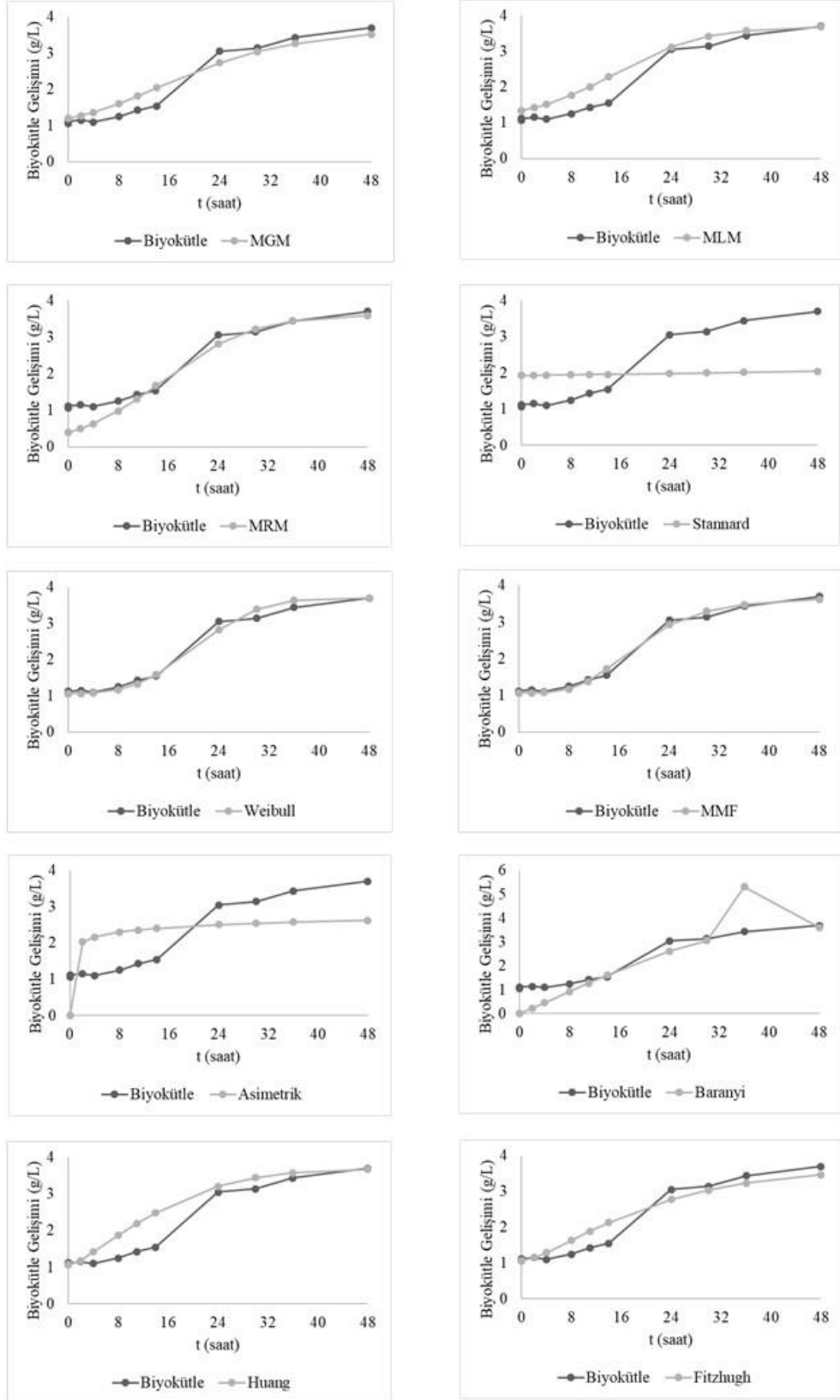
EK-30. 2,5 g/L asetik asit ilavesi ile pH kontrolsüz gerçekleştirilen fermentasyondan elde edilen şeker tüketiminin matematiksel modellemesinde kullanılan parametreler

Parametre	Değer	Zaman (saat)	Şeker Tüketimi (g/L)
A_0 (g/L)	1,755	0	84,953
A_m (g/L)	85,223	0	85,223
Q (g/L/h)	3,578	2	81,358
λ (h)	28,556	4	79,200
v_1	316	8	70,032
v_2	81,900	11	61,088
v_3	49	14	56,593
v_4	2	24	4,272
β	319	30	2,355
h_0 (g/L)	102,169	36	2,025
d	3	48	1,755
T_L	26,182		
k_1	0,059		
k_2	0,069		
k_3	0,290		
k_4	1		
δ_1	3		
δ_2	4,100		
e	100		
a	4		

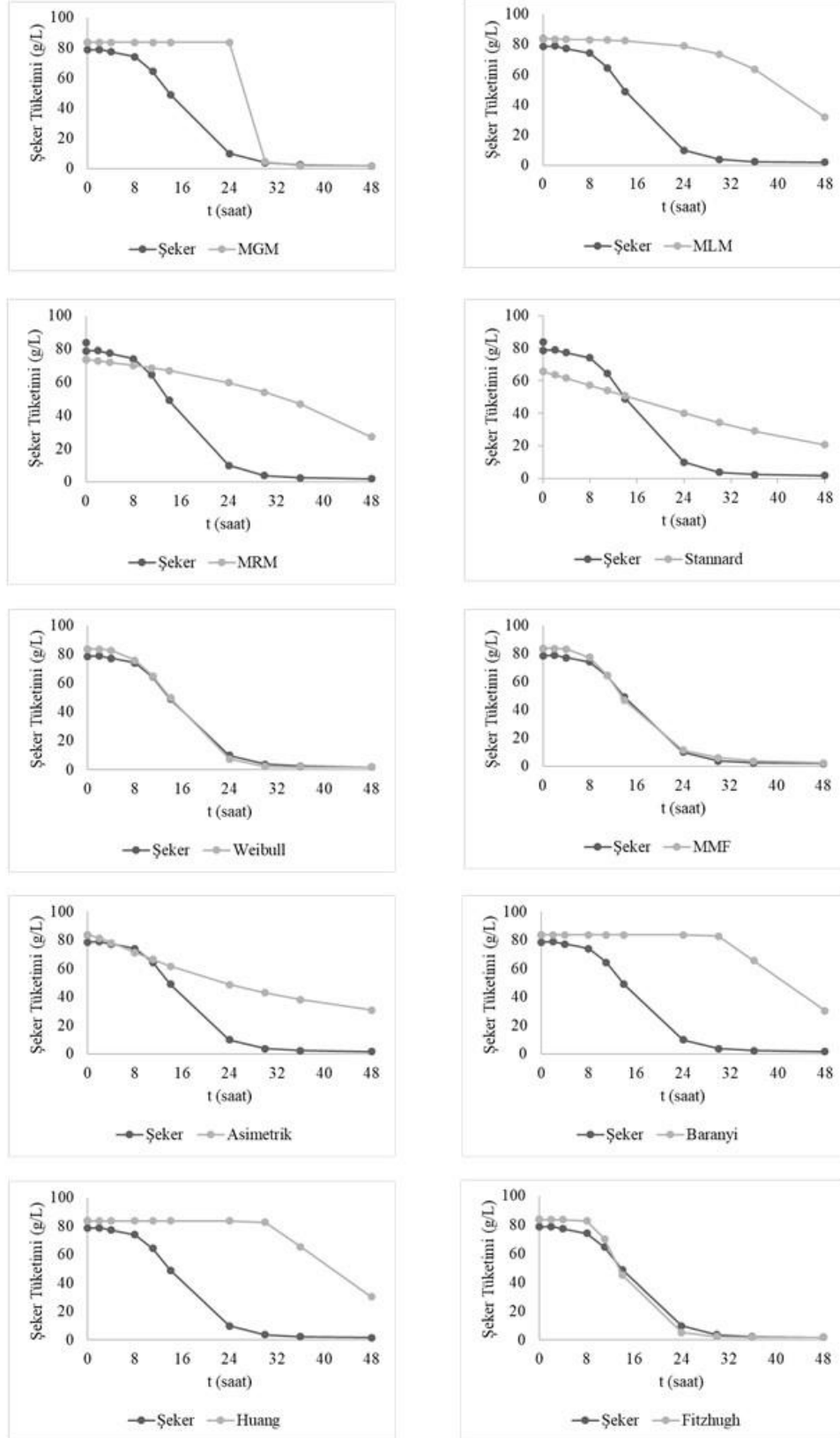
EK-31. 0,5 g/L formik asit ilavesi ile pH kontrolsüz gerçekleştirilen fermentasyondan elde edilen etanol üretiminin matematiksel modellerden elde edilen değerlerle karşılaştırılması



EK-32. 0,5 g/L formik asit ilavesi ile pH kontrolsüz gerçekleştirilen fermentasyondan elde edilen biyokütle gelişiminin matematiksel modellerden elde edilen değerlerle karşılaştırılması



EK-33. 0,5 g/L formik asit ilavesi ile pH kontrolsüz gerçekleştirilen fermentasyondan elde edilen şeker tüketiminin matematiksel modellerden elde edilen değerlerle karşılaştırılması



EK-34. 0,5 g/L formik asit ilavesi ile pH kontrolsüz gerçekleştirilen fermentasyondan elde edilen etanol üretiminin matematiksel modellemesinde kullanılan parametreler

Parametre	Değer	Zaman (saat)	Etanol Üretimi (g/L)
A_0 (g/L)	0	0	0,000
A_m (g/L)	36,670	0	0,085
Q (g/L/h)	1,256	2	0,189
λ (h)	5,811	4	0,750
v_1	1,051	8	2,973
v_2	78,500	11	6,699
v_3	36	14	10,072
v_4	2	30	30,417
β	316	36	35,659
h_0 (g/L)	7,298	48	36,670
d	17		
T_L	123,832		
k_1	0,045		
k_2	0,070		
k_3	0,240		
k_4	1		
δ_1	3		
δ_2	3		
e	3,180		
a	4		

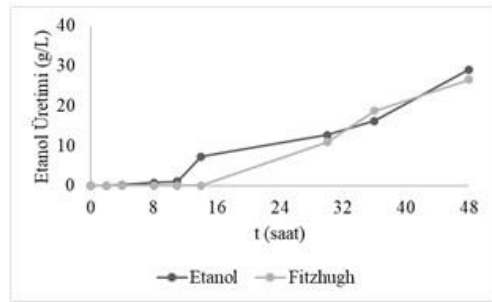
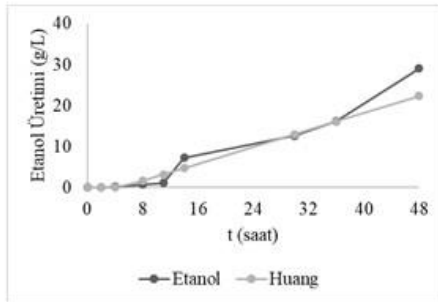
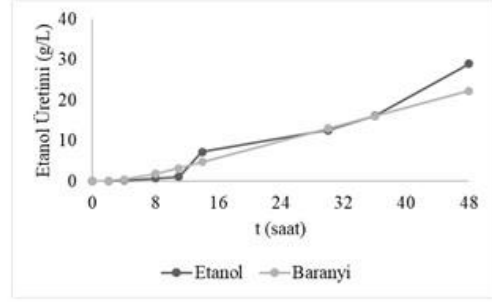
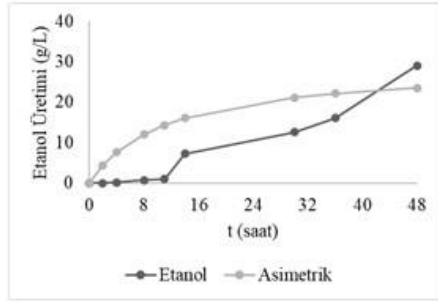
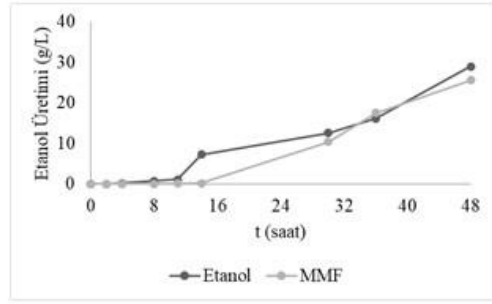
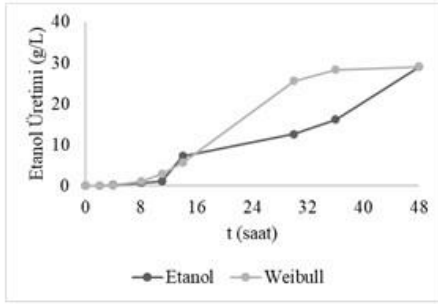
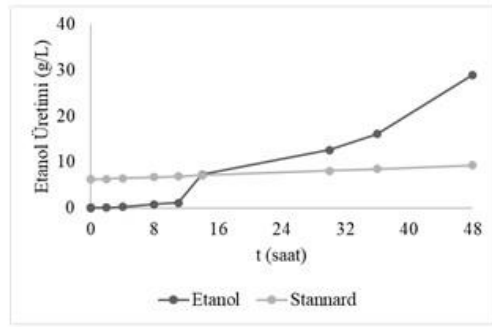
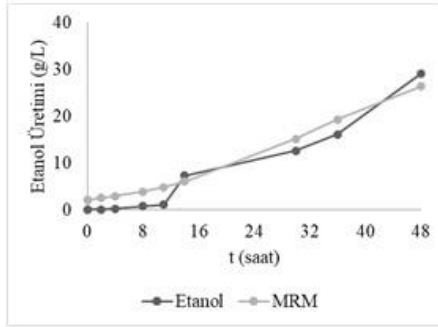
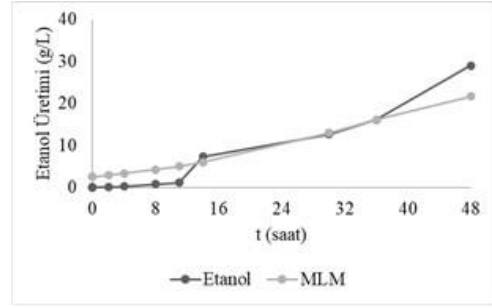
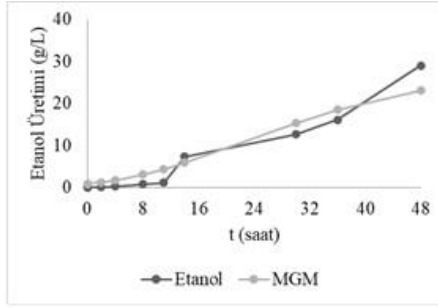
EK-35. 0,5 g/L formik asit ilavesi ile pH kontrolsüz gerçekleştirilen fermentasyondan elde edilen biyokütle gelişiminin matematiksel modellemesinde kullanılan parametreler

Parametre	Değer	Zaman (saat)	Biyokütle Gelişimi (g/L)
A_0 (g/L)	1,063	0	1,063
A_m (g/L)	3,697	0	1,120
Q (g/L/h)	0,131	2	1,150
λ (h)	1,049	4	1,100
v_1	0,980	8	1,248
v_2	65,600	11	1,428
v_3	1,600	14	1,545
v_4	2	24	3,051
β	302	30	3,141
h_0 (g/L)	0,138	36	3,436
d	0,220	48	3,698
T_L	0,830		
k_1	0,043		
k_2	0,053		
k_3	0,060		
k_4	1		
δ_1	3		
δ_2	3,700		
e	2,200		
a	4		

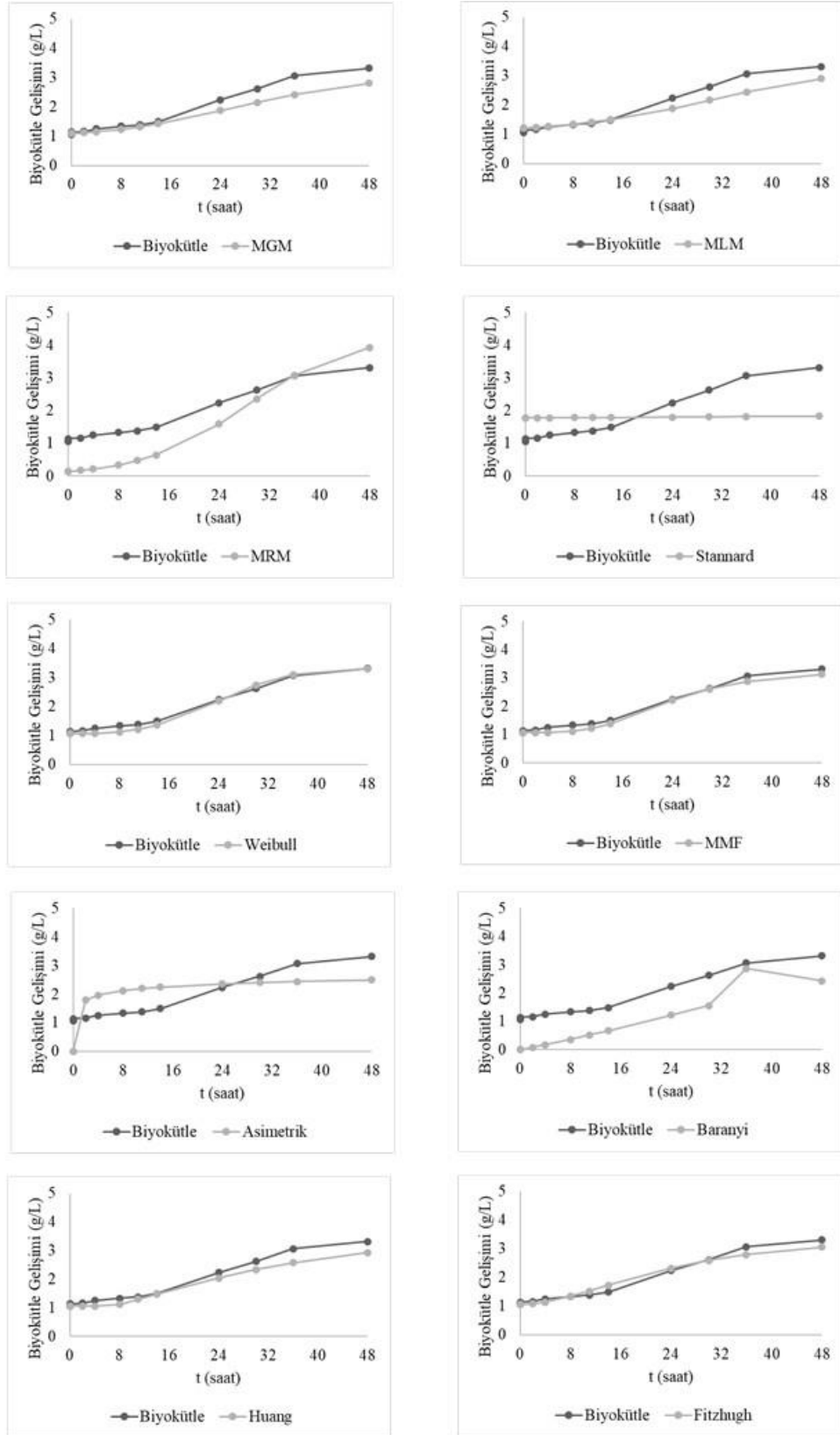
EK-36. 0,5 g/L formik asit ilavesi ile pH kontrolsüz gerçekleştirilen fermentasyondan elde edilen şeker tüketiminin matematiksel modellemesinde kullanılan parametreler

Parametre	Değer	Zaman (saat)	Şeker Tüketimi (g/L)
A_0 (g/L)	1,800	0	83,637
A_m (g/L)	83,637	0	78,619
Q (g/L/h)	2,930	2	78,873
λ (h)	29,796	4	77,240
v_1	340	8	74,079
v_2	79,700	11	64,401
v_3	41	14	48,932
v_4	2	24	9,935
β	315	30	3,808
h_0 (g/L)	87,315	36	2,340
d	1,300	48	1,800
T_L	30,265		
k_1	0,058		
k_2	0,068		
k_3	0,286		
k_4	1		
δ_1	3		
δ_2	4,100		
e	610		
a	4		

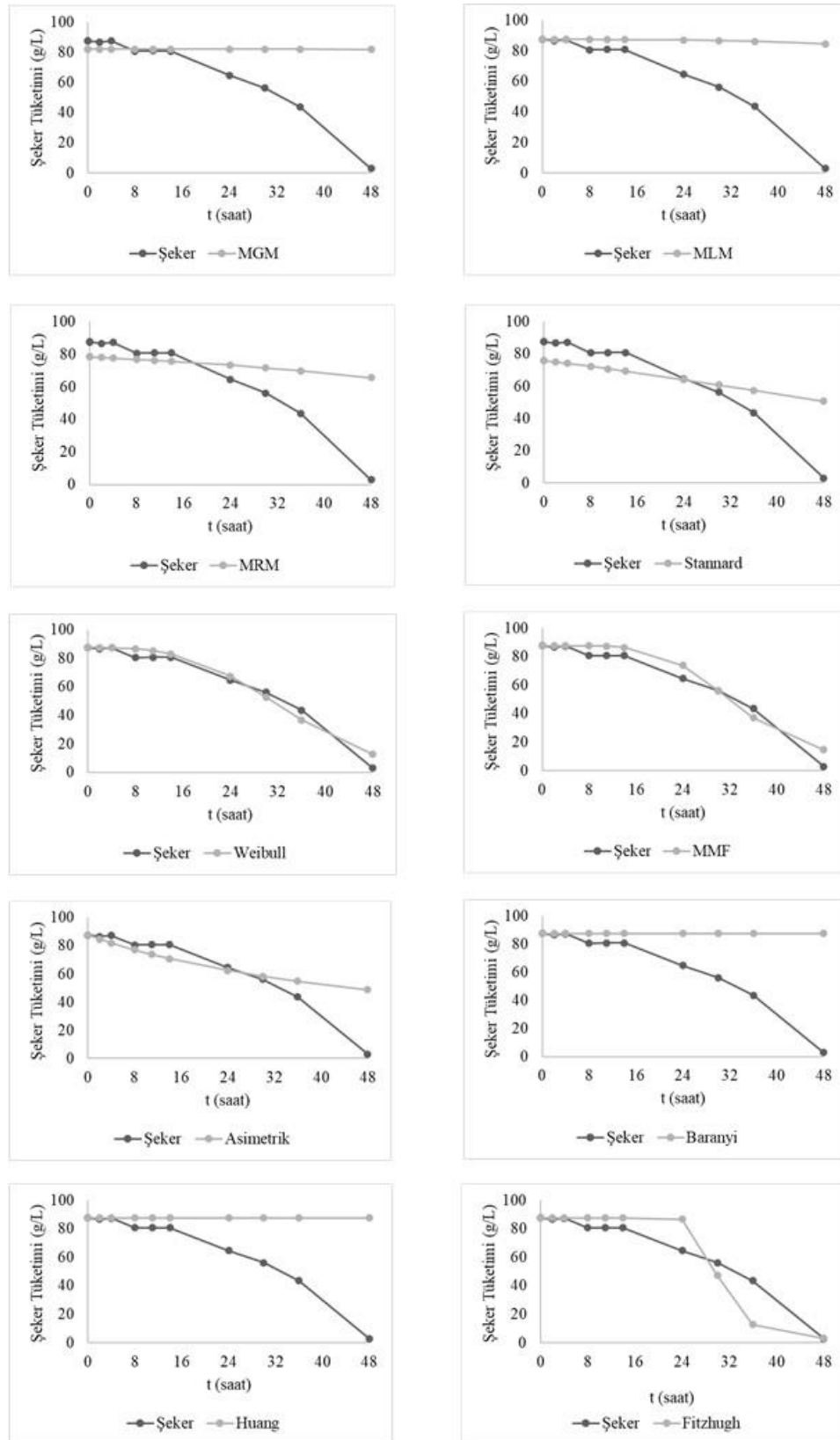
EK-37. 10 no'lu deneme fermentasyonundan elde edilen etanol üretiminin matematiksel modellerden elde edilen değerlerle karşılaştırılması



EK-38. 10 no'lu deneme fermentasyonundan elde edilen biyokütle gelişiminin matematiksel modellerden elde edilen değerlerle karşılaştırılması



EK-39. 10 no'lu deneme fermentasyonundan elde edilen şeker tüketiminin matematiksel modellerden elde edilen değerlerle karşılaştırılması



EK-40. 10 no'lu deneme fermentasyonundan elde edilen etanol üretiminin matematiksel modellemesinde kullanılan parametreler

Parametre	Değer	Zaman (saat)	Etanol Üretimi (g/L)
A_0 (g/L)	0	0	0,000
A_m (g/L)	29,033	0	0,039
Q (g/L/h)	0,516	2	0,040
λ (h)	4,770	4	0,201
v_1	1,150	8	0,740
v_2	80,800	11	1,079
v_3	51	14	7,301
v_4	2	30	12,621
β	319	36	16,134
h_0 (g/L)	2,462	48	29,033
d	1		
T_L	11,206		
k_1	0,043		
k_2	0,030		
k_3	0,132		
k_4	1		
δ_1	3		
δ_2	5,500		
e	3,230		
a	4		

EK-41. 10 no'lu deneme fermentasyonundan elde edilen biyokütle gelişiminin matematiksel modellemesinde kullanılan parametreler

Parametre	Değer	Zaman (saat)	Biyokütle Gelişimi (g/L)
A_0 (g/L)	1,063	0	1,063
A_m (g/L)	3,315	0	1,138
Q (g/L/h)	0,0710	2	1,165
λ (h)	7,118	4	1,253
v_1	1,300	8	1,335
v_2	64	11	1,385
v_3	2,200	14	1,491
v_4	2	24	2,237
β	296	30	2,622
h_0 (g/L)	0,505	36	3,066
d	0,300	48	3,315
T_L	1,158		
k_1	0,037		
k_2	0,042		
k_3	0,061		
k_4	1		
δ_1	3		
δ_2	3,400		
e	2,700		
a	4		

EK-42. 10 no'lu deneme fermentasyonundan elde edilen şeker tüketiminin matematiksel modellemesinde kullanılan parametreler

Parametre	Değer	Zaman (saat)	Şeker Tüketimi (g/L)
A_0 (g/L)	2,909	0	87,560
A_m (g/L)	87,560	0	87,470
Q (g/L/h)	1,541	2	86,616
λ (h)	66,251	4	87,290
v_1	320	8	80,593
v_2	85	11	80,773
v_3	6000	14	80,728
v_4	2	24	64,638
β	319	30	56,189
h_0 (g/L)	102,121	36	43,587
d	1	48	2,909
T_L	56,855		
k_1	0,027		
k_2	0,030		
k_3	0,300		
k_4	1		
δ_1	3		
δ_2	5		
e	0,001		
a	4		

ÖZGEÇMİŞ

SELİME BENEMİR ERKAN

benemirerkan@gmail.com



ÖĞRENİM BİLGİLERİ

Yüksek Lisans 2017-2020	Akdeniz Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Antalya
Lisans 2013-2017	Akdeniz Üniversitesi Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Antalya

ESERLER

Uluslararası hakemli dergilerde yayımlanan makaleler

- 1- **Erkan, S.B.**, Gürler, H.N., Bilgin, D.G., Germec, M., Turhan, I. Production and characterization of tempehs from different sources of legume by *Rhizopus oligosporus*, *LWT-Food Science and Technology*, 119, 2019.
- 2- **Erkan, S.B.**, Basmak, S., Ozcan, A., Yilmazer, C., Gürler, H.N., Yavuz, G., Germec, M., Yatmaz, E., Turhan, I. Mannooligosaccharide production by β -mannanase enzyme application from coffee extract, *Journal of Food Processing and Preservation*, Accept 01 June 2020.
- 3- Germec, M., Gürler, H.N., Ozcan, A., **Erkan, S.B.**, Karahalil, E., Turhan, I. Medium optimization and kinetic modeling for the production of *Aspergillus niger* inulinase, *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 1-16, 2019.
- 4- Gürler, H.N., Yilmazer, C., **Erkan, S.B.**, Ozcan, A., Yatmaz, E., Oziyci, H.R., Karhan, M., Turhan, I. Applicability of recombinant *Aspergillus sojae* crude mannanase enzyme in carrot juice production, *Journal of Food Processing and Preservation*, Accept 09 May 2020.
- 5- **Erkan, S.B.**, Yatmaz, E., Germec, M., Turhan, I. Effect of furfural concentration on ethanol production by using *Saccharomyces cerevisiae* in an immobilized-cells stirred-tank bioreactor with glucose-based medium and mathematical modelling, *Journal of Food Processing and Preservation*, Accept 15 May 2020.

Ulusal bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitaplarında basılan bildiriler

1- Erkan, S.B., Yatmaz, E., Germec, M., Turhan, I. Effects of furfural concentration on ethanol production, *International Conference on Agronomy and Food Science and Technology*, Istanbul, Turkey, June 20-21, 2019.

2- Erkan, S.B., Ozcan, A., Yilmazer, C., Gürler, H.N., Karahalil, E., Germec, M., Yatmaz, E., Turhan, I. The effects of mannanase activity on viscosity in different gums, *International Conference on Agronomy and Food Science and Technology*, Istanbul, Turkey, June 20-21, 2019.

3- Erkan, S.B., Ozcan, A., Yilmazer, C., Gürler, H.N., Yavuz, G., Yatmaz, E., Turhan, I. Mannooligosaccharide production by mannanase enzyme application from coffee extract, *International Conference on Agronomy and Food Science and Technology*, Istanbul, Turkey, June 20-21, 2019.

4- Gürler, H.N., Erkan, S.B., Ozcan, A., Yilmazer, C., Karahalil, E., Germec, M., Yatmaz, E., Turhan, I. A scale up processing with different microparticle agent for mannanase fermentation in bioreactor, *International Conference on Agronomy and Food Science and Technology*, Istanbul, Turkey, June 20-21, 2019.

5- Gürler, H.N., Yilmazer, C., Erkan, S.B., Ozcan, A., Yatmaz, E., Turhan, I. Effect of mannanase enzyme treatment on yield, beta carotene content and turbidity in the carrot juice production, *International Conference on Agronomy and Food Science and Technology*, Istanbul, Turkey, June 20-21, 2019.

6- Yilmazer, C., Erkan, S.B., Ozcan, A., Gürler, H.N., Yavuz, G., Yatmaz, E., Turhan, I. Mannooligosaccharides production from different gums using mannanase, *International Conference on Agronomy and Food Science and Technology*, Istanbul, Turkey, June 20-21, 2019.

7- Erkan, S.B., Gürler, H.N., Bilgin, D.G., Germec, M., Turhan, I. Sensory evaluation and texture profile analysis of tempehs, *3rd International Congress on Food Technology*, Kapadokya, Turkey, October 10-12, 2018.

8- Gürler, H.N., Erkan, S.B., Bilgin, D.G., Germec, M., Turhan, I. Some chemical and physicochemical properties of the tempehs, *3rd International Congress on Food Technology*, Kapadokya, Turkey, October 10-12, 2018.

9- Bilgin, D.G., Erkan, S.B., Gürler, H.N., Germec, M., Turhan, I. Organic acid profiles of Tempeh produced alternative resources by fermentation, *3rd International Congress on Food Technology*, Kapadokya, Turkey, October 10-12, 2018.

PROJELER

1- Alternatif kaynaklardan fermentasyonla tempeh üretimi, TÜBİTAK-2209/A, Proje yürütücüsü, Tamamlandı.

2- Mikrobiyal mannanaz üretimi için biyoreaktörde ölçek büyütme işlemleri, Üretilen enzimin saflaştırılması, gıda endüstrisinde uygulanabilirliği ve ekonomik analizi, TÜBİTAK, 115O051, Araştırmacı, Devam ediyor.

3- Kalsiyum aljinatta immobilize edilmiş *Saccharomyces cerevisiae* hücreleri ile etanol üretimi üzerine inhibitör maddelerin etkisinin belirlenmesi, BAP-Yüksek Lisans, FYL-2019-4699, Araştırmacı, Devam ediyor.

4- Katı kültür fermentasyonunda *Aspergillus niger* ile inülinaz ve fruktooligosakkarit üretimi, BAP K. Araştırma, FKA- 2019-4686, Araştırmacı, Devam ediyor.

5- Seçici Lazer Sinterleme teknolojisi ile üretilen üç boyutlu (3D) kürelerin hücre immobilizasyonu ve etanol fermentasyonunda kullanımı, BAP N. Araştırma, FBA-2020-5099, Araştırmacı, Devam ediyor.

