

55066

GAZİ UNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTUSU

AYÇİÇEĞİ TOHUM KABUKLARININ ASİDİK HİDROLİZ
KİNETİĞİNİN İNCELENMESİ VE CANDIDA TROPICALIS KUEN 1022
MAYASININ, KSILOZDAN, KSİLİTOL ÜRETİMİNDE
KULLANILABİLİRLİĞİNİN ARAŞTIRILMASI

HANDE ÇAVUŞOĞLU

YÜKSEK LİSANS TEZİ
(KİMYA MÜHENDİSLİĞİ)

1996
ANKARA

Bu tezin yüksek lisans tezi olarak uygun olduğunu onaylarım.



Danışman

Doç.Dr. Nurdan SARAÇOĞLU

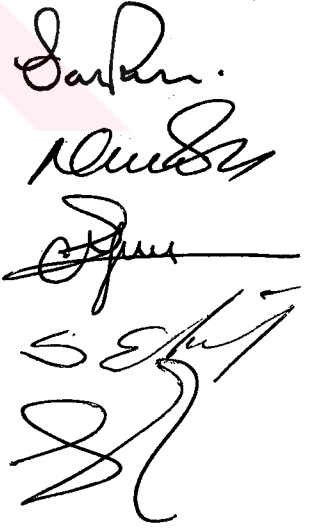


Ortak Danışman

Doç.Dr. Gönenc ARIN

Sınav Jürisi :

Başkan	:	Doç.Dr. Serpil TAKAÇ
Üye	:	Doç.Dr. Nurdan SARAÇOĞLU
Üye	:	Doç.Dr. Mübeccel ERGUN
Üye	:	Doç.Dr. Sabahat ERDOĞAN
Üye	:	Doç.Dr. Suna BALCI
Üye	:	



Bu Tez Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü
Tez Yazım Esaslarına Uygundur.



İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖZ	i
ABSTRACT	ii
TEŞEKKÜR	iii
KULLANILAN NOTASYON VE AÇIKLAMALARI	iv
KULLANILAN KISALTMALAR	v
TABLolarIN LİSTESİ	vi
ŞEKİLLERİN LİSTESİ	vii
EKLERİN LİSTESİ	ix
1. GİRİŞ	1
2. KURAMSAL TEMELLER	5
2.1. Hemiselülozlar	5
2.2. Aycıceği Bitkisinin ve Tohum Kabuklarının Özellikleri	8
2.3. Asidik Hidroliz	10
2.3.1. Hemiselüloz Hidrolizatının Kullanım Yerleri	14
2.4. Biyoreaktörler ve Fermentasyon	14
2.5. Kesikli Büyüme Kinetiği	16
2.6. Ksiloz	21
2.7. Ksilitol	21
3. LİTERATUR ARAŞTIRMASI	24
3.1. Lignoselülozik Maddelerin Hidrolizi ...	24

3.2. Fermentasyon Yöntemi ile Ksilitol	
Eldesi	26
4. DENEYSSEL ÇALIŞMA	30
4.1. Ayçiçeği Tohum Kabuklarının Asidik	
Hidrolizi	30
4.1.1. Ön İşlemler	30
4.1.1.1. Öğütme	30
4.1.1.2. Substratta Nem Tayini ...	31
4.1.1.3. Lignoselülozik Maddelerde	
Pentozan Tayini	31
4.1.2. Asidik Hidroliz Deneyleri	31
4.1.3. Analiz Yöntemi	33
4.1.3.1. İndirgen Şeker ve	
Glikoz Tayini	33
4.1.4. Asit Konsantrasyonlarının	
Düzeltilmesi	33
4.2. D-ksilozdan Candida Tropicalis Mayası	
Kullanılarak Fermentasyonla Ksilitol	
Üretimi	34
4.2.1. Mikroorganizma ve Kültür	
Şartları	34
4.2.2. Büyüme Ortamı	34
4.2.3. Fermentasyon Ortamı	35

4.3. Ayçiçeği Tohum Kabuklarının Hidrolizi ile Elde Edilen Hidrolizatın, Candida Tropicalis Mayası Kullanılarak Fermentasyonu ile Ksilitol Üretim Şartlarının Araştırılması	35
4.3.1. Hidrolizatın Hazırlanması	35
4.3.2. Mikroorganizma ve Kültür Şartları	36
4.3.3. Büyüme Ortamı	36
4.3.4. Fermentasyon Ortamı	37
5. AYÇİCEĞİ TOHUM KABUKLARININ ASİDİK HİDROLİZİ İÇİN KİNETİK MODEL	38
5.1. Kinetik Model	38
6. DENEYSEL SONUÇLAR	43
6.1. Ayçiçeği Tohum Kabuklarının Asidik Hidrolizi	43
6.2. Saf D-ksilozdan Fermentasyon Yöntemi ile Ksilitol Üretimi	51
6.3. Hidrolizat Kullanılarak Ksilitol Üretim Şartlarının İncelenmesi	53

7. TARTIŞMA VE SONUÇ	58
7.1. Ayçiçeği Tohum Kabuklarının Hidrolizi .	58
7.2. D-ksiloz ve Hidrolizattan Ksilitol Eldesi	66
7.3. Sonuç	67
8. ÖNERİLER	68
KAYNAKLAR	69
EKLER	74
ÖZGEÇMİŞ	110

AYÇIÇEĞİ TOHUM KABUKLARININ ASİDİK HİDROLİZ
KİNETİĞİNİN İNCELENMESİ VE CANDIDA TROPICALIS KUEN 1022
MAYASININ, KSİLOZDAN, KSİLİTOL ÜRETİMİNDE
KULLANILABİLİRLİĞİNİN ARAŞTIRILMASI
(Yüksek Lisans Tezi)

Hande ÇAVUŞOĞLU

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTUSU
Temmuz-1996

ÖZ

Uzun yıllar, hemiselüloz, bir çok orman ve tarım atıklarının karbonhidrat ve lignin içeriğinin %10-40'nı oluşturmalarına rağmen, yakıt ve kimyasal madde kaynağı olarak çok fazla ilgi çekmemiştir. Esas olarak pentozanların (ksilan) ve heksozların bir polimeri olan hemiselüloz, monomerleri olan ksiloz ve glikoz şekerlerine, ılımlı sıcaklıklarda seyreltik asit hidrolizi ile indirgenebilir.

Bu araştırmanın ilk bölümünde, özellikle ayçiçeği tohum kabuklarının asidik hidrolizi için uygulanabilecek bir kinetik modeli geliştirmek ve bu model ile ilişkili reaksiyon parametrelerini belirlemek amacıyla bir çalışma yürütülmüştür. Reaksiyon kinetiği, hemiselülozun iki fraksiyonunun paralel hidrolizinin, ksilozun ayrışması ile takip edildiği bir model ile ifade edilmiştir. 98-130°C'da ve %1-%5 (ağırlık/hacim) H₂SO₄ kapsayan şartlardaki kesikli reaktör verisinden kinetik parametreler belirlenmiştir. Reaksiyonların, birinci derece olduğu görülmüştür. İlgili hız sabitleri, Arrhenius eşitliğindeki frekans faktörüne bir asit teriminin eklenmesiyle, sıcaklık ve asit konsantrasyonu cinsinden ifade edilmiştir. N₁=1.55, N₂=1.396, N₃=0.777, E_{a1}=22062, E_{a2}=18726, E_{a3}=31950 kal/mol olarak hesaplanmıştır. Deney ve model sonuçları, tatminkar bir uyum içindedir.

Çalışmanın ikinci kısmında, sallamalı su banyosundaki erlenler ile yapılan deneylerle, Candida Tropicalis Kuen 1022 mayasının, ksilitol üretmek için, D-ksiloz ve ayçiçeği tohum kabuklarının hidrolizatının fermentasyonu için kullanılabilirliği araştırılmıştır. Bu maya ile, çok düşük (maksimum değer 4.717 g/lt) ksilitol verimi elde edilmiştir. Fermentasyon süresince gözlenen maksimum ksilitol konsantrasyonunun, başlangıç substrat konsantrasyonundan etkilenmediği görülmüştür. Candida Tropicalis ile fermentasyona ait bazı kinetik parametreler hesaplanmıştır.

Bilim Kodu : 603.02.01
Anahtar Kelimeler : Asidik Hidroliz, Ayçiçeği Tohum Kabuğu, Ksilitol
Sayfa Adedi : 110
Tez Yöneticisi : Doç.Dr. Nurdan SARAÇOĞLU,
Doç.Dr. Gönenç ARIN

KINETICS OF DILUTE ACID CATALYZED HYDROLYSIS OF SUN
FLOWER SEED HULLS AND INVESTIGATION OF THE USE OF
CANDIDA TROPICALIS KUEN 1022 YEAST FOR THE
PRODUCTION OF XYLITOL
(Msc.Thesis)

Hande ÇAVUŞOĞLU

GAZI UNIVERSITY
INSTITUTE OF SCIENCE AND TECHNOLOGY
July 1996

ABSTRACT

The hemicellulose fraction of biomass has not received much attention as a source of fuel or chemicals although hemicellulose accounts for 10 - 40 % of carbohydrate and lignin content of various forestry and agricultural residues for long years. Hemicellulose which is primarily a polymer of pentoses (xylan) and hexoses can be reduced to monomeric sugars xylose and glucose by dilute acid hydrolysis at moderate temperatures.

At the first part of this study, an investigation was undertaken to develop a kinetic model and to determine the associated reaction parameters specifically applicable for acid hydrolysis of two fragments in hemicellulose followed by decomposition of xylose. The kinetic parameters were determined from experimental batch reactor data covering conditions of 98-130°C and 1-5% (w/v) sulfuric acid. The reactions were found to be of first order. The respective rate constants were correlated with temperature and acid concentration using the Arrhenius equation with the addition of an acid term in the preexponential factor. $N_1=1.55$, $N_2=1.396$, $N_3=0.77$ $E_{a1}=22062$, $E_{a2}=18726$, $E_{a3}=31950$ cal/mol were obtained. The experimental and model results were in a satisfactory agreement.

At the second part of this work, the use of Candida Tropicalis Kuen 1022 yeast for the fermentation of D-xylose and sun flower seed hulls hydrolyzate to produce xylitol was also experimentally investigated in shaken flasks. With this yeast, very low xylitol yield was observed (max. value 4.717 g/lt). The maximum xylitol concentration observed during fermentation seemed to be unaffected by initial substrate concentration. Some kinetic parameters of xylose fermentation by Candida Tropicalis were also calculated.

Science Code : 603.02.01
Key Words : Acidic Hydrolysis, Sun Flower Seed,
Xylitol
Page Numbers : 110
Thesis Supervisor : Assoc.Prof. Nurdan SARAÇOĞLU,
Assoc.Prof. Gönenc ARIN

TEŞEKKÜR

Çalışmalarım boyunca yardımlarını esirgemeyen ve çok değerli katkılarıyla beni yönlendiren tez hocam Sayın Doç.Dr. Nurdan Saraçoğlu'na ve Doç.Dr. Gönenc Arın'a, deneysel çalışmalarım sürecinde yardımlarını esirgemeyen Sayın Hocam Dr. Ferda Mutlu'ya ve tüm çalışmalarım sürecinde maddi ve manevi desteğini esirgemeyen sözlüm M. Önder Örnek'e ve aileme teşekkür ederim.



KULLANILAN NOTASYON VE AÇIKLAMALARI

k	: Hız sabitleri, dak^{-1}
k_0	: Frekans faktörü
E_a	: Aktivasyon enerjisi, cal/mol
R	: Gaz sabiti, cal/mol.K
T	: Sıcaklık, K
t	: Zaman, dak
A_c	: Asit derişimi (Normalite)
N	: Asit derişimine göre mertebe
T_0	: Çalışma sıcaklıklarının ortalaması
S_0	: Başlangıç substrat miktarı, g/lt
μ	: Biyokütle için spesifik büyüme hızı, st^{-1}
Q_p	: Volumetrik üretim hızı, $\text{gl}^{-1}\text{st}^{-1}$
q_p	: Spesifik üretim hızı, $\text{gg}^{-1}\text{st}^{-1}$
$Y_{p/m}$: Ürün verimi, gg^{-1}
$Y_{x/m}$: Hücre verimi, gg^{-1}

KULLANILAN KISALTMALAR

H _k	:	Kolay hidrolizlenen hemiselüloz fraksiyonu
H _z	:	Zor hidrolizlenen hemiselüloz fraksiyonu
X	:	Ksiloz
F	:	Furfural
C.T.	:	<u>Candida Tropicalis</u>
C.G.	:	<u>Candida Guillermondii</u>
SDH	:	Sorbitaldehidrojenez
β-NAD	:	Nikotinamid-adenin di nükleotit
S	:	Substrat
F _k	:	Kolay hidrolizlenen hemiselülozun fraksiyonunun kesri

TABLOLARIN LİSTESİ

<u>Tablo</u>	<u>Sayfa</u>
Tablo 2.1. Lignoselülozik maddeler ve içerikleri.	5
Tablo 2.2. Ksilitolün fiziksel ve kimyasal özellikleri	22
Tablo 6.1. Değişik sıcaklık ve asit konsantrasyonlarındaki F_k	44
Tablo 6.2. Model parametreleri	44
Tablo 6.3. D-ksiloz ve hidrolizatın C.T. fermentasyonuna ait kinetik parametreler	52
Tablo 7.1. Kinetik model sonuçlarına göre hesaplanan hız sabitleri	62
Tablo 7.2. Lignoselülozik maddelerin asidik hidrolizi ile ilgili kinetik çalışmalar	64

SEKİLLERİN LİSTESİ

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
Şekil 1.1. Türkiye’de ayçiçeği üretimi	3
Şekil 2.1. Hemiselülozun, diğer bitki hücre duvarı bileşenleri ile ilişkisi	7
Şekil 2.2. Ayçiçeği tohum kabuğu duvarının kesiti	9
Şekil 2.3. %1 H ₂ SO ₄ için değişik sıcaklıklardaki ksiloz verimleri	12
Şekil 2.4. Derişik sülfirik asit ile lignoselülozların hidrolizinin basitleştirilmiş şeması	13
Şekil 2.5. Kesikli kültürde hücre büyümesinin kinetiği	18
Şekil 6.1. 98°C’da saf ksilozun furfurala ayrışması sırasında furfural konsantrasyonunun zamanla değişimi ...	45
Şekil 6.2. 120°C’da saf ksilozun furfurala ayrışması sırasındaki furfural konsantrasyonunun zamanla değişimi ...	46
Şekil 6.3. 130°C’da saf ksilozun furfurala ayrışması sırasındaki furfural konsantrasyonunun zamanla değişimi ...	47
Şekil 6.4. 98°C’da Ayçiçeği tohum kabuğunun asidik hidroliz sonuçları	48
Şekil 6.5. 120°C’da Ayçiçeği tohum kabuğunun asidik hidroliz sonuçları	49

Şekil 6.6. 130°C'da Ayçiçeği tohum kabuğunun asidik hidroliz sonuçları	50
Şekil 6.7. 50g/l D-ksiloz içeren fermentasyon ortamına ait deney sonuçları	54
Şekil 6.8. 70g/l D-ksiloz içeren fermentasyon ortamına ait deney sonuçları	55
Şekil 6.9. 100g/l D-ksiloz içeren fermentasyon ortamına ait deney sonuçları	56
Şekil 6.10. Hidrolizat ile hazırlanan fermentasyon ortamına ait deney sonuçları	57
Şekil 7.1. 98°C da D-Ksiloz'a ait deney ve model sonuçlarının görsel olarak karşılaştırılması	59
Şekil 7.2. 120°C da D-Ksiloz'a ait deney ve model sonuçlarının görsel olarak karşılaştırılması	60
Şekil 7.3. 130°C da D-Ksiloz'a ait deney ve model sonuçlarının görsel olarak karşılaştırılması	61

EKLERİN LİSTESİ

	<u>Sayfa</u>
EK-1 Lignoselülozik maddelerde pentozan tayin yöntemi	74
EK-2 DNS yöntemi ile indirgen şeker analizi ve kalibrasyon eğrisi	77
EK-3 Glikoz tayini analiz yöntemi	80
EK-4 98°C, 120°C, 130°C için glikoz analiz sonuçları	82
EK-5 98°C, 120°C, 130°C için furfurala ait model ve deney sonuçları	84
EK-6 98°C, 120°C, 130°C için asidik hidroliz deney ve model sonuçları	88
EK-7 Saf D-ksiloz ile hazırlanan büyüme ortamında Candida Tropicalis'e ait büyüme eğrisi	92
EK-8 Saf ksiloz ile yapılan fermentasyon için ksiloz, ksilitol ve biyokütle sonuçları ...	94
EK-9 Hidrolizat ile gerçekleştirilen fermentasyon sonuçları	96
EK-10 Candida Tropicalis'in hidrolizatla hazırlanan ortamda büyüme eğrisi	98
EK-11 Ksilitol analiz yöntemi	100
EK-12 Candida Tropicalis Kuen 1022 için kuru ağırlık analizi	103
EK-13 Model ifadesinden hesaplanan furfural değerleri	106

1. GİRİŞ

Lignoselülozik tarım atıklarının değerlendirilmesi özellikle bir tarım ülkesi olan Türkiye açısından büyük önem taşımaktadır. Tarımı, bir endüstri olarak düşünül-
düğünde, tükettiği enerjiden fazla enerji üreten, tek endüstri olduğu görülür.

Bitki atıklarının depoladıkları enerjinin kullanıl-
ması için bazı olasılıklar bulunmaktadır. Bunlar, gaz veya sıvı yakıt eldesi, şeker, etanol, furfural vb. kimyasal maddelerin üretimi ayrıca sindirilebilir hayvansal besin üretimidir.

Lignoselülozik maddeler selüloz, hemiselüloz, lignin gibi kısımlardan oluşurlar. Selüloz bir β -glikoz polimeridir ve kristal yapıya sahiptir. Hemiselüloz ise pentozların (esas olarak ksiloz ayrıca arabinoz ve riboz), hekzozların (glikoz, mannoz, galaktoz) ve üranik asitlerin polimeridir. Lignin ise değişik şekillerde bağlanmış fenil propan birimlerinden oluşur. Biyokütle-
nin yapısındaki selüloz ve hemiselüloz asidik yöntemle veya enzimatik yöntemle hidroliz edilebilirler. Selülozun, yüksek kristalinitesi hangi yöntemle olursa olsun, hidrolize olmasını engelleyen önemli bir faktördür. Ayrıca lignin ve hemiselüloz, enzimin, selüloza erişerek onu hidrolize etmesini fiziksel olarak engeller.

Hemiselülozların, selüloza nazaran daha kolaylıkla hidrolize edilebilmeleri, özellikle seyreltik asit hidrolizi ile ılımlı şartlarda, hemiselülozun esas yapısını

teşkil eden pentoz polimerinin (ksilan), monomer birimi olan ksiloza seçici olarak indirgenmesini mümkün kılar. Bu arada heksoz polimeri de glikoza parçalanır. Yüksek sıcaklıklarda ise ksiloz, furfurala glikoz ise hekzametil furfurala parçalanır.

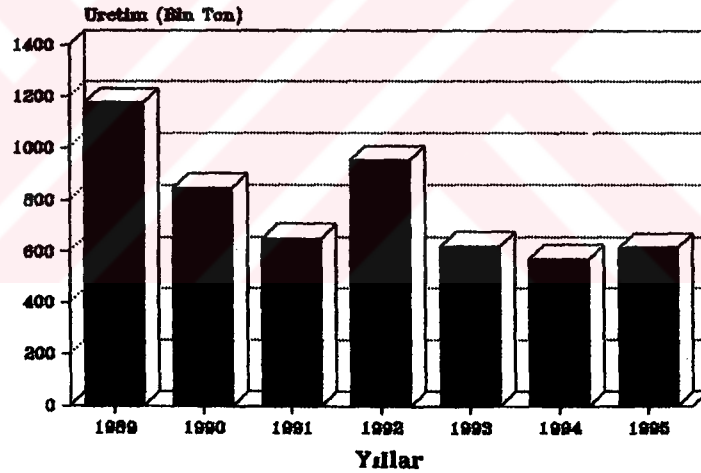
Uzun yıllar, biyokütleden hemiselüloz kesrinin ekstraksiyonunun, geride kalan biyokütle değerini artırdığı düşünülmüştür. Çünkü hemiselülozun ekstraksiyonundan sonra, selülozun hidrolizi kolaylaşmaktadır (Lee ve arkadaşları, 1978). Halbuki son yıllarda hemiselülozların hidrolizi ile elde edilen hidrolizatın ekonomik değeri olan ürünlere dönüştürülebilmesi büyük ilgi toplamaktadır (Parisi, 1989). Bu konuda önemli çabalardan biri de, D-ksiloz içeren hidrolizatın, bir beş karbonlu şeker alkolü olan ksilitole, fermentasyon yöntemiyle dönüştürülmesidir (Chen ve Gong, 1985). Öte yandan hidroliz sırasında oluşan bazı maddelerin, fermentasyonu inhibe ettiği de bilinmektedir (Leonard ve Hajny, 1945). Ksilitol üretimi için, bugüne kadar kullanılan ve D-ksilozun hidrojen ile indirgenmesi esasına dayanan kimyasal yöntem, uzun ayırma ve saflaştırma işlemlerini gerektirmektedir.

Bu nedenle, önemli ölçüde hemiselüloz içeren ligno-selülozik maddelerin hidrolizi ile elde edilen D-ksiloz şekerinin, biyolojik yöntemle ksilitole dönüşümü, diabetik hastalar için şeker yerine kullanılma potansiyeline sahip olan bu maddenin üretimi için yeni bir alternatif oluşturmaktadır.

Bitki atıkları açısından önemli bir zenginliğe sahip ülkemizde, ayçiçeği tohum kabuklarının, D-ksiloz ve ksilitol gibi ürünlerin elde edilmesinde kullanılması, ülke ekonomisi açısından bir değer taşımaktadır.

Bilindiği gibi, Trakya bölgesi yıllardır Türkiye'nin yağ ambarı olarak kabul edilmektedir. Geleneksel yağ bitkisi ayçiçeği tohumudur. Türkiye'de ayçiçeği üretimi, iklim ve fiyat politikalarına bağlı olarak yılda 600000-1200000 ton arasında değişen miktarlarda olmaktadır. Şekil 1'de 1989-1995 ayçiçeği üretimi verilmektedir.

(Başbakanlık Devlet Planlama Teşkilatı Raporları)



Şekil 1.1 Türkiye'de ayçiçeği üretimi

Lignoselülozik maddelerin önemli ölçüde hemiselüloz kaynağı oluşturduğu düşünülürse ayçiçeği tohum kabuğu, D-ksiloz ve ksilitol üretimi için dikkate değer bir hammadde olarak kabul edilebilir.

Türkiye'nin önemli bir tarım ürünü olan ayçiçeği tohum kabuklarının değerlendirilmesinin amaçlandığı bu çalışma iki aşamadan oluşmaktadır. Araştırmanın ilk kısmında, ayçiçeği tohum kabuklarının değişik koşullardaki

asidik hidrolizi gerçekleştirilerek, D-ksiloz elde edilmiştir. Literatürde daha önce yapılmış hemiselüloz hidrolizi ile ilgili bazı kinetik çalışmalar bulunmakla beraber, bu maddelerin hidroliz edilen biyokütlenin cinsine özgün olduğu ve sınırlı reaksiyon şartlarını kapsadığı görölmüştür. Bu nedenle, deneysel hız verileri analizinden, özellikle ayiceği tohum kabuklarının hidrolizi ile D-ksiloz eldesi için kullanılabilecek, asit ve sıcaklık etkisini göz önüne alan, bir kinetik model geliştirilmiştir. Bu modelden, çalışmanın ikinci kısmında kullanılacak hidrolizatın, hazırlanması için uygun reaksiyon şartlarının seçilmesi konusunda da faydalanılmıştır.

Araştırmanın ikinci kısmında ise ksilitol üretimi için saf D-ksiloz veya hidrolizat karışımının fermentasyonunda, Candida Tropicalis Kuen 1022 mayasının kullanılabilirliği araştırılmıştır. Değişik koşullardaki verim ve fermentasyon kinetiği ile ilgili parametreler hesaplanmıştır.

2. KURAMBAL TEMELLER

2.1 Hemiselülozlar

Lignoselülozik doğal kaynakların temel bileşenleri selüloz, hemiselüloz, lignin, özütlenabilir maddeler ve inorganiklerdir.

Tablo 2.1'de doğadaki bazı lignoselülozik maddeler ve içerikleri görülmektedir (Parisi, 1989).

Tablo 2.1 Lignoselülozik maddeler ve içerikleri

	Selüloz	Hemiselüloz	Lignin
Kozalaklı ağaçlar	%40-50	%20-30	%25-35
Şeker Kamışı	%40	%30	%20
Yaprakları Dökülen Ağaçlar	%40-50	%30-40	%15-20
Mısır Koçanı	%45	%35	%15
Buğday Sapı	%30	%50	%15

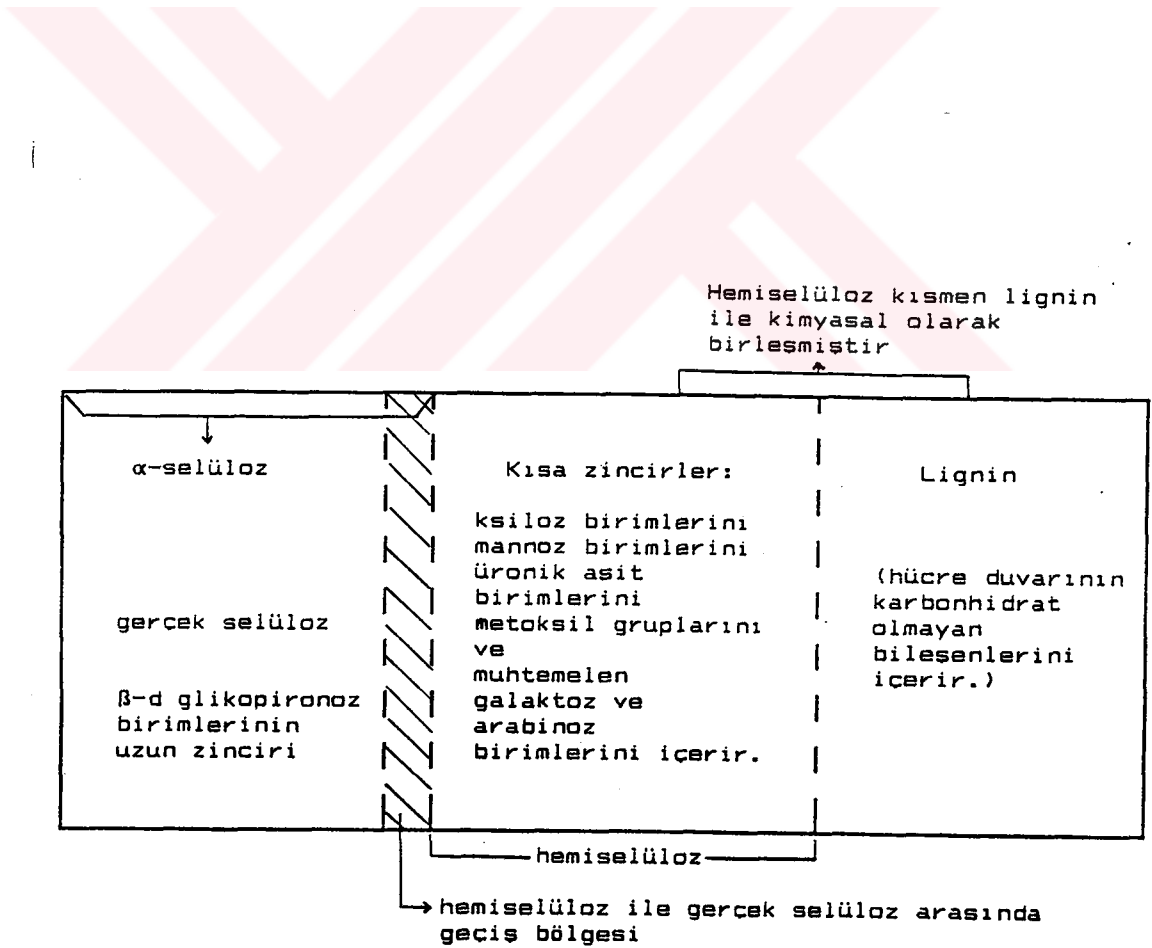
Lignoselülozik maddelerin selülozdan sonraki en önemli bileşenleri hemiselülozlardır. Selüloz dışında, çok sayıda polisakkarit bitkilerin hücre duvarında yer alır (Şekil 2.1). Bunların pek çoğu selülozla yakın ilişkili olmalarına rağmen, özellikleri açısından ondan farklılaşmaktadırlar. Selüloz gibi kristalik bir yapıya

sahip degildirler. Temel olarak hemiselülozlar olarak adlandırılan bu polisakkaritler, ksiloz, glikoz, galaktoz mannoz ve arabinozun dogrusal veya dallanmiş homopolimerleri ile heteropolimerleri şeklinedirler. Hemiselülozların polimerizasyon dereceleri nadiren 200'ü aşar. (Cowling ve Kirk, 1976). Hemiselülozlar kendilerini oluşturan şeker birimlerine göre; ksilanlar, mannanlar, arabinoksilanlar, glikomannanlar ve glikuranoksilanlar gibi adlar alırlar. Bitki hücre duvarını oluşturan homopolisakkaritler sınıfındaki hemiselülozlar, ksilanların ve mannanların β -1,4-bağlı şekilleridir. Heteropolisakkaritler sınıfındaki hemiselülozlar ise çoğunlukla arabinoksilanlar ve glikuranoksilanlardan oluşurlar (Aspinall, 1970).

Ksilanlar hemiselülozlar içinde nicelik açısından önemli bir yer alırlar, kara bitkilerinin ligninli dokularındaki hemiselüloz kısımlarının temel bileşenini oluştururlar. Ksilan, tamamen olmasa da büyük oranda anhidroksiloz birimlerinden meydana gelir. Bazı bitkilerin de L-arabinoz ve D-glukouronik asit birimlerini de içerdiği görülmektedir.

Tahıl sapları ile tohum kabuklarının kuru ağırlık olarak %20-30'u ksilandır (Aspinall, 1970). Selülozla birleşik halde buldukları gibi, ligninle de etkileşim içindedirler. Olgunlaşmış odunların %20-25 ve otların %15-20'si ile yumuşak odunların önemli bir kısmını ksilanlar, glikomannanlarla birlikte oluştururlar. Hemiselüloz grubunun temel bileşenini teşkil eden ksilanlar, bitkilerden alkali çözeltilerle özütlenebilirler.

Ksilan, genel anlamda pentozan olarak da gruplandırılır. Çünkü bir pentoz polimeridir ve en sık rastlanan pentozandır. Ksilan, bir glikoz olarak da sınıflandırılır, çünkü tamamen olmasa da büyük oranda modifiye olmuş şeker içerir. Hemiselülozların en önemli bileşeni olması nedeniyle, ksilan terimi aynı zamanda, hemiselüloz anlamında da kullanılabilir. Bu nedenle ksilan hemiselüloz ve pentozan terimleri, aynı ya da birbirinden çok az farklı maddeleri tanımlamak için birbirleri yerine kullanılabilirler (Whistler, 1953).



Sekil 2.1 Hemiselülozun, diğer bitki hücre duvarı bileşenleri ile ilişkisi

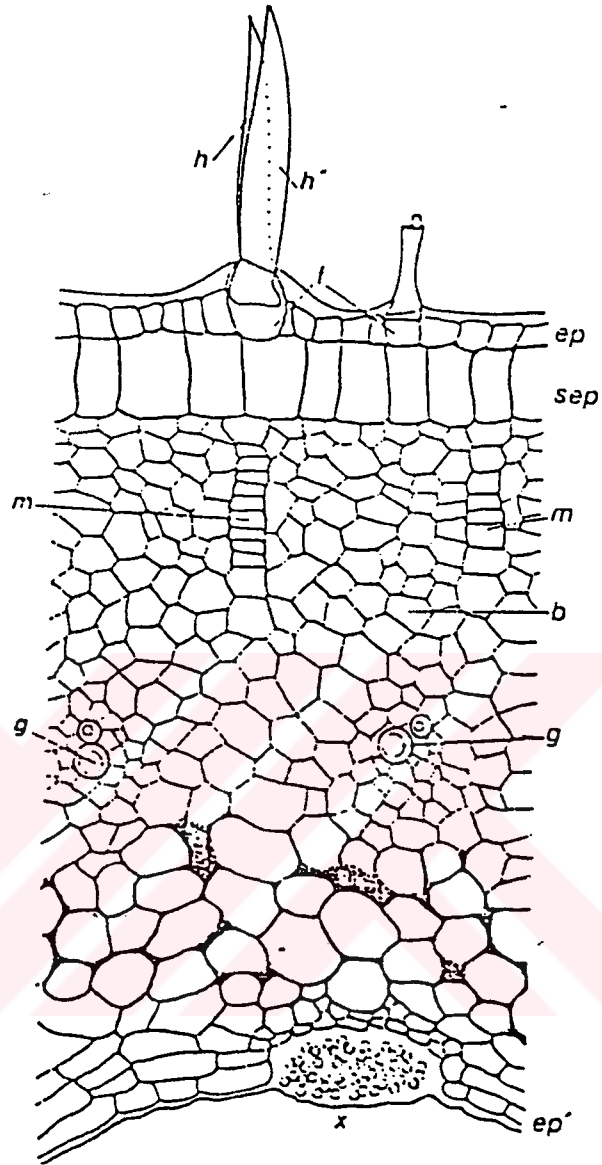
2.2 Ayçiçeği Bitkisinin ve Tohum Kabuklarının Özellikleri

Ayçiçeği, Asteraceae (compositae) familyasından bir yıllık bir bitkidir. Anayurdu Kuzey ve Güney Amerika olan ayçiçeğinin 1-5m uzunluğunda tüylü bir gövdesi, 7.5-30cm aralığında uzunluğu olabilen, kalın dişli, geniş yaprakları vardır. Çiçek başının eni, yabani olanlarda 7.5-15cm, kültürü yapılanlarda 30cm'den daha fazladır. Kömecin ortasındaki çiçekler kahverengi, sarı ya da mor, kenardakiler ise sarı renklidir.

Ekonomik değeri yüksek bir bitki olan ayçiçeğinin yaprakları hayvan yemi olarak kullanılır. Çiçeklerinden sarı renkli boyar madde, tohumlarından da yemeklik yağ elde edilir. Tohumlarda da %48'lere kadar ulaşabilen bu sarı renkli sıvı yağ, zeytinyağı ile eşdeğerli sayılan bir sofraya ve kızartma yağı olduğu kadar, yağlıboya ve sabun yapımında, ayrıca yağlama yağı olarak da kullanılır. Kurutularak ve kavrularak yenen tohumlardan bazı ülkelerde ekmek ya da kahveye benzer bir içecek yapılır. Tohumlardan yağ çıkarıldıktan sonra kalan küspe ise değerli bir hayvan yemidir.

Ayçiçeği kabuğundaki lignoselülozik bileşenlerin analizi Mutlu (1990) tarafından yapılmıştır.

Roth(1977) ayçiçeğinin kabuğunun yapısını Şekil 2.2 de görüldüğü gibi vermiştir. Epiderm hücrelerinin kalın dış duvarları ince bir kutikül ile kaplıdır. Boyuna dört köşeli olarak uzarlar ve enine kesite diktirler. İç duvarları incedir. Dış yüzeyde tüyler vardır, bunlar çoğunlukla çift, bazen tektir.



Şekil 2.2 Ayçiçeği tohum kabuğu duvarının kesiti:
 ep=epiderm; h-h'=çift tüy; sep=epiderm altı
 katman hücreleri; m=medulla ışınal hücre
 dizileri; b=orta tabaka; g=ksilem; ep'=iç
 epiderm; x=lif demetleri

Kabuk oluşurken önce epidermin altında hipoderm adı verilen tek tabaka halindeki hücreler gelişir. Hücreler ince duvarlı, büyük çekirdeklidir. Hipodermal katmanın altındaki orta katman bir eksene yerleşmiş, keskin köşeli ve çok kenarlı hücrelerden oluşur. Orta tabakada bu tabakayı düzenli aralıklara ayıran merkezden dışarı doğru tek tabaka halinde yer alan hücre demetleri bulunur.

Orta tabakanın dış kısmı armar tabakası adını alır. Bu hipoderme karşı olan dış kısımlar konik ve çengel şeklinde gelişerek bir sıra halinde hücreleri hipodermden ayırır. Aynı dış oluşumlar hücrenin merkezden dışarı doğru uzanan duvarlarında da görülür ve aralarında açıklıkların oluşmasına neden olur. Duvarlar önce kahverengi son olarak da siyaha döner. Sonunda katmanın hücre özelliği kaybolur. Hipoderm ile orta katman arasında düzensiz siyah kütlelerden oluşan bir madde kalır.

Hücrelerin iç tabakasını parankima oluşturur. Bu hücreler ince duvarlıdır, fakat sık değildir (Roth, 1977).

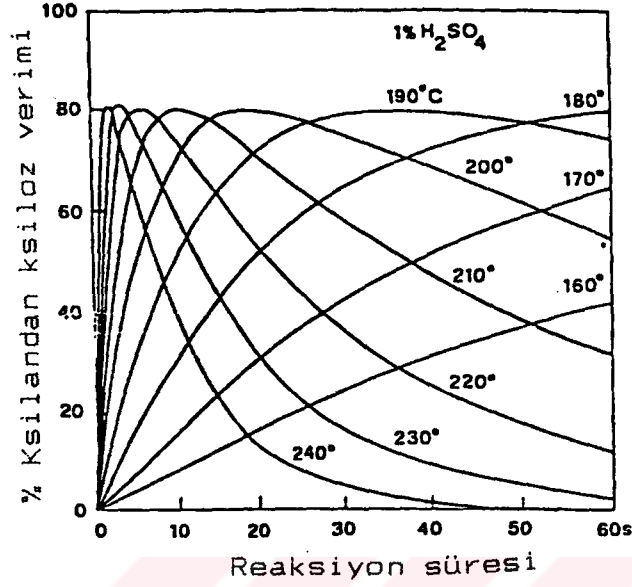
2.3 Asidik Hidroliz

Lignoselülozik maddelerin asidik hidrolizi hızlı ve basit bir reaksiyondur. Asidik hidroliz HCl, H₂SO₄ ya da HF kullanılarak yapılabilmektedir. Derişik asit ile gerçekleştirilen hidrolizde %100 ürün verimine yaklaşılırken, maliyet ve kullanılan asit artmaktadır. Buna karşılık seyreltik asitin, kullanımı basit olmasına rağmen ürün verimi çok düşük olmakta ve yan ürün oluşumu mikrobiyol aktivitenin inhibe olmasına neden olmaktadır.

İlk kez, Broconnot 1812'de derişik sülfirik asit ile selülozu hidrolizlemiştir (Parisi, 1989). Ancak 20. yüzyılın başında şeker çözeltilisinin üretimi için endüstriyel ölçekli hidroliz prosesleri kullanılmaya başlanmıştır. Bu amaçla 1910 yılında Ewen ve Tomlison Amerika'da sulu sülfirik asit prosesini kullanan bir fabrika kurmuşlardır. 1925 yılında derişik hidroklorik asit prosesleri ile çalışan ticari boyutlu bir tesis kurulmuştur. Bu proseslerin hemen hepsi, selüloz hidrolizi ile glikoz üretimini hedef almışlardır (Parisi, 1989).

Lignoselülozik yapıdaki, selülozun yavaş hidroliz hızı hidrojen bağları ile oluşmuş kristal yapı içinde sıkı bir biçimde tutulan glikoz halkalarının bükülmezliği ile açıklanabilir. Halbuki, diğer taraftan, hemiselülozların amorf yapıları, halkaların esnekliğini engellemediğinden hidroliz daha hızlı gerçekleşir. Bu nedenle amorf pentozların ve heksozanların asidik hidrolizi, düşük sıcaklıkta ve düşük asit konsantrasyonunda (örneğin %1 asit konsantrasyonu ve 150°C) mümkündür. Halbuki kimyasal dayanıklılığa sahip selüloz parçalanırken, seyreltik asit kullanıldığında 180°C'yi aşan sıcaklıklar veya daha düşük sıcaklıklarda konsantre asit kullanmak gerekir.

Diğer taraftan pentozanların hızlı hidrolizi sırasında, oluşan şeker, kolaylıkla furfurala parçalanabilir. Şekil 2.3'de %1 H₂SO₄ kullanıldığında değişik sıcaklıklardaki, ksilandan elde edilen ksiloz verimlerini göstermektedir.



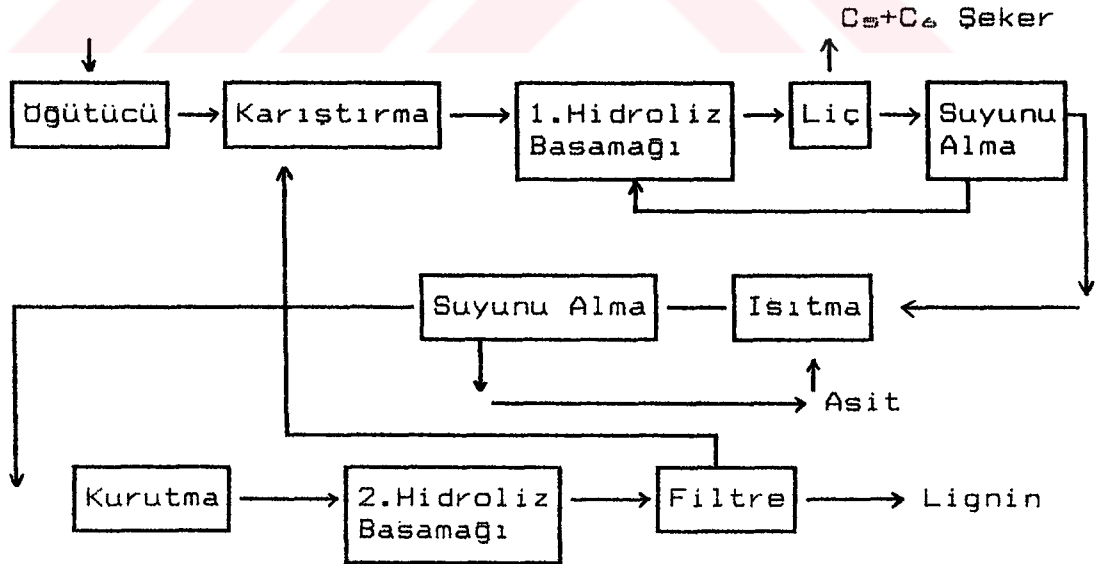
Sekil 2.3 Sıcaklık ve zamanın fonksiyonu olarak ksilanın asidik hidrolizi ile ksiloz verimi (Parisi, 1989)

Şekilde görüldüğü gibi seyreltik asit ile aynı verim değerini yüksek sıcaklıklarda daha kısa sürede elde etmek mümkündür. Ancak, bu durumda şekerin ayrışmadan reaktörden uzaklaştırılması gerekir.

Bu koşul, perkolasyon reaktörlerinin kullanılması ile yerine getirilebilir. Bu şekilde şeker ayrışması ile oluşan furfural vb. gibi ürünlerin, şekerlerin diğer bazı maddelere biyodönüşümünü inhibe etmeleri minimuma indirgenmiş olur (Parisi, 1989).

Bugün kullanılan endüstriyel ölçekli, lignoselülozik maddelerin asidik hidroliz proseslerinde, hemiselülozların hidrolizi, ön hidroliz ya da birinci hidroliz basamağı olarak yer alır. Bunlara örnek olarak derişik sülfirik asit kullanan, A.B.D. Alabama eyaletindeki

Tennessee Valley Authority pilot tesisini gösterilebilir (Parisi, 1989). Bu prosesin basitleştirilmiş akım şeması Şekil 2.4'de gösterilmiştir. Akım şemasında görüldüğü gibi, birinci hidroliz basamağı, hemiselülozların hidrolizini kapsar ve bu işlem, ikinci basamak sonunda oluşan asitlendirilmiş ürün akımı ile gerçekleştirilir. Bu şekilde hemiselülozlar, beş ve altı karbonlu şekerlerine dönüşür. Hemiselülozlar uzaklaştırıldıktan sonra kalan katı ile hidroliz işlemine devam edilir. Katı, yıkanır, 85°C'da %10 neme kadar kurutulur ve derişik sülfirik asit ilavesiyle, selüloz hidrolizi 140°C'da 30 dakika süre içerisinde tamamlanır. Bu şekilde, hemiselüloz hidrolizinden oluşabilecek inhibitörlerin oluşumu da minimuma indirgenmiş olur.



Şekil 2.4 Konsantre sülfirik asit ile lignoselülozların hidrolizinin basitleştirilmiş şeması

2.3.1 Hemiselüloz Hidrolizatının Kullanım Yerleri

Hemiselüloz hidrolizatının kullanım yerlerinden biri etanol üretimidir. Pentoz içeren bir ortamın mikroorganizmalar kullanılarak etanole dönüşümü sağlanmaktadır. Bu mikroorganizmalara örnek olarak Pachysolen Tanophilus Pichio Stipitis, Candida Shehatee, Clostridium Thermosaccherolyticum verilebilir. Yine etanol üretimi için başka bir yöntem de ksilozun ksiluloza ilk dönüşümünün *S. Cerevisiae* ile yapılabilmesidir.

Hemiselüloz hidrolizat ürünlerinden biri de furfuraldır. Furfural, pentozanın asidik hidrolizinin bir yan ürünüdür. Geri kazanımı ve saflaştırılması kolaydır. Furfuralın günümüzdeki önemi özellikle yağ endüstrisinde, çözücü olarak kullanılmasıdır.

Hemiselüloz hidrolizatının diğer bir kullanım alanı ise ksilozdan, ksilitol ve furonik poliollerin üretimidir. Furonik polioller, hidro alkolik ortama sahip aktif metilenik grupların reaksiyonu ile ksilozdan elde edilirler. Bunlar bazı kimyasal maddeler için ara ürün oluştururlar. Ayrıca eczacılık kimyasında ve yeni poliüretanlar için yüksek termal kararlılık gösteren formülasyonlar da kullanılırlar (Parisi, 1989).

2.4 Biyoreaktörler ve Fermentasyon

Canlı hücrelerin ekonomik değere sahip kimyasal ürünlerin üretimindeki kullanımı gittikçe artan bir öneme sahiptir. 2000 yılında biyosentez yoluyla üretilen kim-

yasal maddelerin, tarım ürünlerinin ve gıda maddelerinin pazar değeri 17 milyar dolara erişmiş olacaktır. Biyodönüşümlerin avantajlarını şöyle özetleyebiliriz.

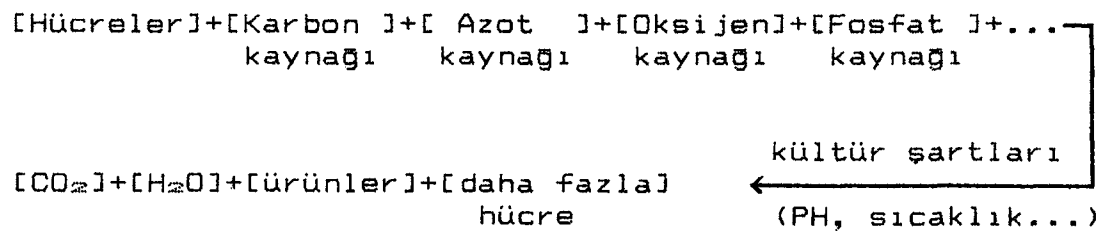
1) İlimli reaksiyon koşulları (basınç ve sıcaklık açısından)

2) Yüksek verim (örneğin; glikozun "Aspergillusniger" le glikonik aside %100 dönüşmesi)

3) Organizmaların bir reaksiyonda birbirini takip eden basamakları katalize edebilecek çok sayıda enzime sahip olmaları ve en önemlisi organizmaların "stereospesifik katalizörler" olarak davranmalarıdır (Fogler, 1992).

Biyosentezde, biyokütle diye de adlandırılan mikroorganizma hücreleri besinleri, büyümek ve daha fazla hücre üretmek için kullanırlar. Besinlerin enerji ve biyoürünlere bu dönüşümü, bu hücrenin bir seri reaksiyonla çok sayıda farklı enzimleri kullanarak metabolik maddeleri üretmesiyle meydana gelir. Bu ürünler, ya hücre içinde kalırlar ya da hücreden salgılanırlar.

Genelde aerobik organizmanın büyümesi şu denklemi takip eder:



Kültür ortamı büyüme için gerekli olan diğer kimyasal maddelerle birlikte bütün besinleri (karbon, azot, vb.) içerir.

Biyoreaktörler, mikroorganizmanın ekildiği, ürün elde edildiği ve spesifik reaksiyonların gerçekleştirildiği bir kap veya organizmaların aerobik ve anaerobik şartlarda büyüdüğü ortam şeklinde ifade edilir.

Fermentör veya biyoreaktör denilen bir kap içerisinde mikroorganizmaların salgıladıkları enzimlerin etkisi ile biyokütle ve ürün elde edilmesine de fermentasyon denilmektedir.

Fermentasyon ürünleri üç tip proses ile oluşurlar.

- 1) Biyokütle elde etmeyi amaçlamış prosesler
- 2) Hücre içi veya dışında, enzim ya da metabolit gibi ürünlerin hücreler tarafından üretilmesi
- 3) Fermentasyon ortamına eklenen bir maddenin biyodönüşümü

2.5 Kesikli Büyüme Kinetiği

Büyüme hücrenin bütün kimyasal bileşenlerinin düzenli artışı olarak ifade edilir ve bu sırada popülasyonda artış olur. Mikroorganizmanın büyüme şekli şartlara ve ortama bağlıdır. Bir tek hücreli mikroorganizmanın sıvı süspansiyon kültüründeki büyümesi, aynı mikroorganizmanın bir katı destek ortamında veya immobilize ortam üzerinde büyümesinden farklıdır.

Kesikli kültür sistemleri, kapalı bir ortamda ya da kapalı bir sistemde optimum sıcaklık, pH, redoks potansiyeli koşulları altında çalışan ve büyümeyi destekleyen uygun bir ortamı içeren fermentör veya erlen içinde büyümeyi ifade eder. Bu büyüme ortamın esas bileşenlerin-

den birinin yok olmasıyla veya toksik maddenin birikimi gibi nedenlerle çevre şartlarının değişmesine kadar devam eder. Kesikli bir ortamda büyüme eğrisi Şekil 2.5'de verildiği gibidir. Bu sırada gözlenen fazlar şöyle açıklanabilir (Fogler, 1992).

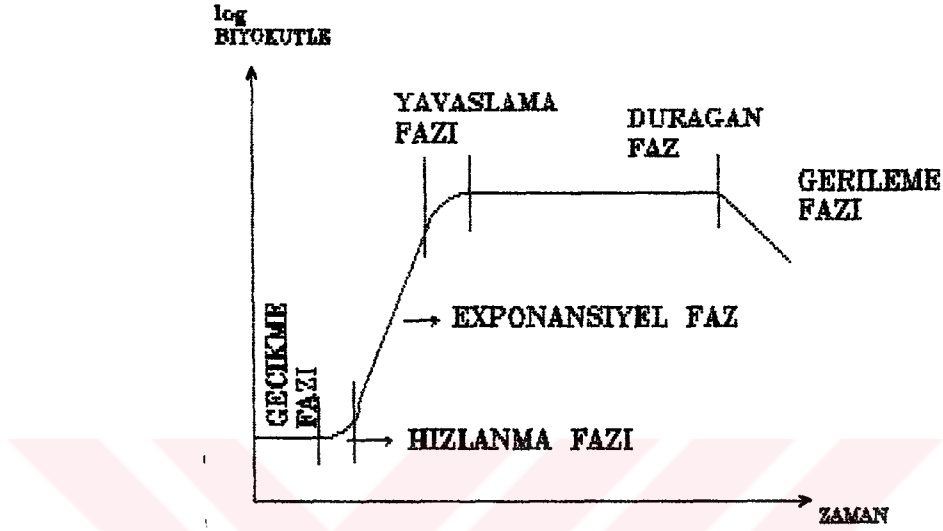
"Gecikme fazı" diye adlandırılan fazda, hücre konsantrasyonunda net bir artış gözlenmez. Bu aşamada hücreler enzimleri sentezleyerek ve üremeye başlamak için hazırlanarak yeni çevrelerine alışır. Hücreler, besini hücre içine alacak taşıyıcı proteinleri sentezlemek ve hücrelerin genetik materyallerini tekrarlamak gibi bazı görevleri de yerine getirirler. Bu fazın süresi hücrelerin alındığı büyüme ortamı ile içine aşılandıkları reaksiyon ortamının benzerliğine ya da farklılığına bağlıdır. Eğer bu iki ortam benzerse, bu faz neredeyse hiç görülmez.

"Exponansiyel faz" hücrenin büyüme hızı hücre konsantrasyonu ile orantılı olduğu için bu adı alır. Bu aşamada hücreler maksimum hızda bölünürler, çünkü metabolizmayı sağlamak için bütün enzimler görevdedirler ve hücreler besinleri daha verimli kullanırlar.

"Durağan faz" denilen bir sonraki aşamada hücreler bir veya daha fazla besinin, hücre büyümesini sınırladığı bir sürece erişirler. Bu durağan dönem sırasında büyüme hızı besinlerin ve gerekli metabolitlerin tükenmesi sonucu sıfırdır.

"Gerileme fazı" ise ölüm dönemi olan final aşamasıdır. Canlı hücre konsantrasyonunda bir azalma meydana gelir. Bu düşüş ya toksik maddelerin birikimi ya da

besinin tükenmesi sonucudur.



Sekil 2.5 Kesikli kültürde hücre büyümesinin kinetiği

Mikrobiyol hücrelerin büyümesi otokatalitiktir. Tek hücreli organizmaların exponansiyel büyümesi sırasında kuru hücre ağırlığı düzenli aralıklarla iki katına çıkar (Schragg, 1991).

x_0 ; başlangıçtaki kuru biyokütle ağırlığı

t ; geçen süre

t_d ; kuru hücre ağırlığının iki katına çıkması için geçen süre ise t süresi sonunda, biyokütle ağırlığı:

$$x_t = x_0 2^{t/t_d} \quad (2.1)$$

Bu ifadenin iki tarafının logaritmasını alındığında;

$$\ln(x_t/x_0) = \frac{t}{t_d} \ln 2 \quad (2.2)$$

Düzenlendiğinde;

$$\frac{\ln x_t - \ln x_0}{t} = \frac{\ln 2}{t_d} = \frac{0.693}{t_d} \quad (2.3)$$

Buna göre; $\ln(x_t - x_0)$ 'a karşı, t grafiğe geçirilirse

$$\frac{0.693}{t_d} = \mu \quad (2.4)$$

μ spesifik büyüme hızını ifade eder.

Eğer ürünler mikrobiyal hücrelerin büyümesi sırasında oluşuyorsa ürün birikim hızı aşağıdaki şekilde ifade edilir.

$$\begin{aligned} \left[\begin{array}{c} \text{Ürün} \\ \text{birikim} \\ \text{hızı} \end{array} \right] &= \left[\begin{array}{c} \text{ürün} \\ \text{oluşum} \\ \text{hızı} \end{array} \right] - \left[\begin{array}{c} \text{ürün} \\ \text{bozulma} \\ \text{hızı} \end{array} \right] \\ \frac{dP}{dt} &= q_p x - \beta P \end{aligned}$$

q_p ; spesifik ürün oluşum hızı ($gg^{-1}h^{-1}$)

P ; ürün (g/lt)

β ; ürün bozulma hızı (denaturasyon) ($gg^{-1}h^{-1}$)

x ; biyokütle hücre konsantrasyonu (g/lt)

Ürün kararlı yapıdaysa ifade şu şekli alır;

$$\frac{dP}{dt} = q_p x \quad (2.6)$$

Ürün oluşum hızı, volümetrik veya spesifik olarak tanımlanmaktadır. Spesifik ürün oluşum hızı, hücre konsantrasyonundan bağımsızdır ve aşağıdaki ifade ile hesaplanır.

$$q_p = \frac{1}{x} \frac{dP}{dt} \quad (2.7)$$

Volümetrik ürün oluşum hızı ise hücre konsantrasyonuna bağlıdır ve istenilen ürünün sentez hızını ifade eder.

$$Q_p = \frac{dP}{dt} \quad (2.8)$$

Q_p ; volümetrik ürün oluşum hızı ($g \text{ lt}^{-1} \text{ s}^{-1}$)

Biyokütle ve ürün verimleri ise şöyle tanımlanır.

$Y_{p/m}$ ürün verimini (substratın ürüne dönüşümünü),

$Y_{x/m}$ biyokütle verimini (harcanan substrata karşı oluşan biyokütlenin kesrini) göstermektedir.

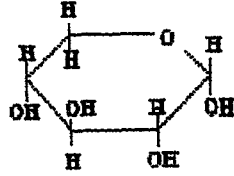
Normalde bu verimler, belirli bir periyot için toplam biyokütle miktarının ya da oluşan ürünün ölçülmesiyle elde edilirler.

$$Y_{x/m} = \frac{\Delta x}{\Delta s} \quad Y_{p/m} = \frac{\Delta P}{\Delta s} \quad (2.9)$$

ifadeleri ile hesaplanırlar (Schragg, 1991).

2.6 Ksiloz

Ksiloz, ampirik formülü $C_5H_{10}O_5$ olan beş karbonlu şekerdir. Tadı sakkarozun yarısıdır ve kokusuzdur.



α - D - ksiloz

Koch 1886 yılında odundan saf olarak ksiloz elde etmiş ve o zamandan beri bu madde sayısız bitki çeşitinden üretilmeğe devam etmiştir. Ksiloz, çeşitli tahıllardan, kamıştan, odundan, bitki kabuklarından ve bitkilerin çeşitli kısımlarından elde edilmiştir. Koch odunu alkali çözeltiyle ekstrakte ederek ksilan hazırlamış, alkolle muamele edilen ksilan çöktürülmüş ve ksiloza hidrolizlenmiştir.

2.7 Ksilitol

Ksilitol doğal olarak bulunabilen, besinlerde tatlandırıcı olarak kullanım alanı gittikçe artan bir şeker alkolüdür. Ksilitol, ksiloz şekerinin pentavalent alkolüdür. Ampirik formülü $C_5H_{12}O_5$ 'dir. Tablo 2.2'de ksilitolün fiziksel ve kimyasal özellikleri gösterilmiştir.

Ksilitolün tatlılık derecesi sakkarozaya eşdeğerdir. Ksilitol insanlarda insülin gerektirmeden metabolize edilebildiği için şeker hastaları için enerji kaynağı olabilen bir tatlandırıcıdır. Ayrıca bakteriyel olarak metabolize edilemediğinden çocuk ciklet ve çikolatala-

rında tatlandırıcı olarak kullanıldığında, diş çürümele-
rine neden olmamaktadır (Emodi, 1978).

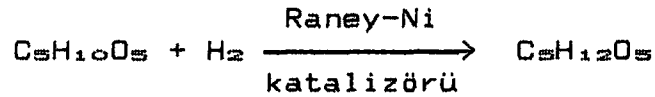
Tablo 2.2 Ksilitolün fiziksel ve kimyasal özellikleri
(Emodi, 1978)

Ampirik Formülü	$C_5H_{12}O_5$
Yapı	$ \begin{array}{ccccccc} & & H & & OH & & H \\ & & & & & & \\ HOCH_2 & - & C & - & C & - & C & - & CH_2OH \\ & & & & & & \\ & & OH & & H & & OH \end{array} $
Molekül Ağırlığı	152.1
Görünüm	Kristal Toz
Renk	Beyaz
Tat	Tatlı
Koku	Kokusuz
Tatlılık Derecesi	Sakkaroz Eşit
Erime Noktası	93.4 - 94.7°C
Kaynama Noktası	216°C
Suda Çözünürlük (20°C)	64.2 g/100ml
Etanolde Çözünürlük	1.2 g/100ml
Metanolde Çözünürlük	6.0 g/100ml

Doğada ksilitol bazı meyve ve sebzelerde bulunmak-
tadır. Bu kaynaklarda az miktarda bulunan ksilitolün
kantitatif ekstraksiyon işlemi zordur ve ekonomik de-
gildir.

Ksilitol üretiminin ilk basamağı, mısır koçanı,
kağıt hamuru, pamuk tohumu kabuğu, kayın ve diğer sert
odun yongası vb. gibi değişik kaynaklardan elde edilen

ksilanın, hidrolizidir. Daha sonra elde edilen D-ksiloz, hidrojenasyon ile ksilitole dönüştürülür (Wisniak, 1974). Hidrojenasyon reaksiyonu, bazik sulu çözeltili reaktörde 100-145°C sıcaklıkta 5MPa kadar olan basınçlarda Raney-Ni katalizörü eşliğinde gerçekleştirilir.



Hammaddelerin hemiselülozik fraksiyonlarının, değişik şekerlerin polimerlerini içermesi, kimyasal proses sonucunda oluşan yan ürünlerin ksiloz veya ksilitolden uzaklaştırılması için, büyük ölçüde ayırma ve saflaştırma işlemleri gerektirmektedir (Melaja ve Hamalanen, 1977). Bu da ksilanlardan kimyasal yöntemle ksilitol üretim veriminin düşük (%50-60) ve oldukça pahalı olmasına neden olmaktadır.

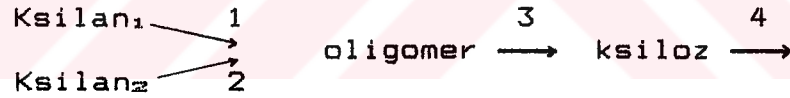
Son yıllarda, ksilitolün fermentasyon ve biyokatalitik proses ile elde edilmesi, özellikle indirgenme basamağının daha düşük sıcaklıklarda ve basınçta mümkün olması nedeni ile büyük ilgi toplamaktadır (Meleja A. ve Hamalairn L., 1977). Enterobacterliquefaciens (Yoshitake ve arkadaşları, 1976), Corynebacterium sp (Yoshitake ve arkadaşları, 1971) gibi bakteriler ile Candida Tropicalis, (Gong ve arkadaşları, 1981) ve Candida Pelliculosa vb. (Kitpreechavanich ve arkadaşları, 1984) bazı mantarlar bu amaçla denenmiştir.

3. LİTERATUR ARAŞTIRMASI

3.1 Lignoselülozik Maddelerin Hidrolizi

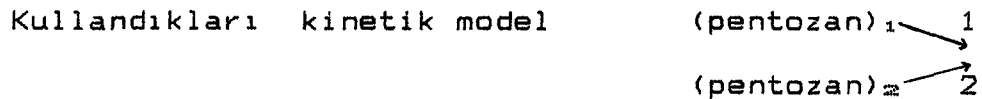
Kobayashi ve Sakai (1956), yaptıkları çalışmada materyal olarak "Buna" kullanmışlardır. Asidik hidrolizi 74-147°C 'de ve %1-16 H₂SO₄ ile gerçekleştirmişlerdir. Hemiselülozu zor ve kolay hidrolizlenebilen olmak üzere iki kısma ayırmışlardır. Aktivasyon enerjisi ve frekans faktörünü hesaplamışlardır.

Mehlberg ve Tsao (1979), çalışmalarında materyal olarak mısır koçanını seçmişlerdir. 0.2-3.2 M HCl ile düşük sıcaklıklarda 50-92°C'da asidik hidrolizi gerçekleştirmişlerdir.



şeklinde bir kinetik model kullanmışlardır. Bu modeldeki hız sabitlerine ait preeksponansiyel faktörleri ve aktivasyon enerjilerini bulmuşlardır.

Beck ve Wang (1982), araştırmalarında hemiselülozun kinetik analizini yapmışlardır. Materyal olarak pamuk çekirdeğini kullanmışlardır. Asidik hidrolizi 125-165°C ve %0.5-2 ağırlıkça H₂SO₄ ile gerçekleştirmişlerdir.



şeklinde olup, hız sabitlerini asit konsantrasyonuna ve katıdaki pentozanın ağırlık kesrine bağlı olarak ifade etmişlerdir.

Cahela ve arkadaşları (1983), çalışmalarında kızıl meşeye ait Veeraraghavan ve arkadaşları (1982) tarafından 140-160°C'da 0.2-0.1% ağırlıkça H₂SO₄ ile elde edilen kesikli hidroliz verisine

Ksilan $\xrightarrow{1}$ ksiloz $\xrightarrow{2}$ şeklindeki bir kinetik model uyarlamışlardır. Hız sabitlerini, asit konsantrasyonunun fonksiyonu olarak ifade etmişlerdir, aktivasyon enerjilerini bulmuşlardır.

Bhandari ve arkadaşları (1984), mısır sapının asidik hidrolizini izotermal olmayan reaksiyon şartlarında incelemişlerdir. 160-240°C arasında değişen sıcaklık şartlarında, 0.49-1.47% ağırlıkça H₂SO₄ ile reaksiyonu gerçekleştirmişlerdir. Basit birinci derece seri reaksiyon modeline göre analiz ettikleri verilerden, kinetik parametreleri elde etmişlerdir. Preekspansiyel faktörün asit konsantrasyonu ile arttığını görmüşler, her hız sabiti için bu iki parametre arasında bir bağıntı elde etmişlerdir.

Molaney ve arkadaşlarının (1985), çalışmalarında huş ağacı (betnlapapyrifera) ksilanın ve asetil grubunun seyreltik sülfirik asit (0.04-0.18M) ile kesikli hidroliz kinetiği 100-170°C'da incelenmiştir. Ksilanın %85'inin uzaklaştırıldığında, selülozun sadece %5'inin hidrolizlendiği görülmüştür. Hız verisi, ksilanın hızlı ve yavaş reaksiyon veren iki kesrinin

ksilan₁ \rightarrow 1 paralel reaksiyonuna
ksilan₂ \rightarrow 2

dayandırılarak analiz edilmiştir.

Kim ve Lee (1987), kızıl meşe hemiselülozunun 1:1.6 katı/sıvı oranında asidik hidroliz kinetiğini, 120-140°C arasında 1-5% ağırlıkça H₂SO₄ ile incelemişlerdir. Reaksiyon kinetiğini, hemiselülozun iki fraksiyonunun paralel reaksiyon sonucunda ksiloza dönüşmesi ve bunu takiben ksilozun ayrışması şeklinde modellemişlerdir. Modeldeki hız sabitlerini, asit konsantrasyonunun ve sıcaklığın fonksiyonu şeklinde ifade etmişlerdir. Model sonuçları, iki paralel hidroliz basamağının, ksilozun ayrışma basamağına göre, asit konsantrasyonuna ve sıcaklığa daha hassas olduğunu ortaya koymuştur. Ayrıca biyokütlenin önemli ölçüde sülfirik asiti nötralize ettiği görülmüştür.

3.2 Fermentasyon Yöntemi ile Ksilitol Eldesi

Chen ve Gong (1981), çalışmalarında mutasyona uğramış Candida Tropicalis HXP2 mayasını kullanarak D-ksilozdan, %90 verimle ksilitol elde etmişlerdir. Böylece test edilen, bir çok maya içinde Candida Tropicalis HXP2 'nin ksilitol üretmek için en iyi mikroorganizma olduğunu ortaya koymuşlardır. Ayrıca D-glikoz, D-fruktoz ve sakkaroz substrat olarak kullanıldığında aynı maya ile etanolünde üretilebileceğini göstermişlerdir.

Chen ve Gong (1985) yaptıkları çalışmada, şeker kamışı hidrolizatı ile hidroliz ortamına alıştırmış Candida-sp β-22 mayası kullanarak ksilitol üretmişlerdir. Maya, yeast-ekstrakt, malt-ekstrakt, pepton içeren ortamlarda büyütülmüş ve fermentasyon, sallamalı su banyosunda gerçekleştirilmiştir. 105.33 g/l D-ksiloz

içeren örnekte maksimum ksilitol konsantrasyonu 96 saat sonunda 94.74 g/l olarak gözlenmiştir.

Vongsuvanlert ve Tanı(1989), çalışmalarında Candida Boidinii 2201 mayası kullanarak D-ksilozdan ksilitol üretimini incelemişlerdir. Çalışmada, mayanın D-ksiloz ortamına ekilmesi ile 4-5 günlük bir çalışma sürecinde ksilitol üretiminin maksimum değere ulaştığı tespit edilmiştir. Ksilitol miktarı Bessler metodu kullanılarak ölçülmüş, başlangıç PH değeri 7 olduğunda ise en iyi büyümenin olduğu sonucuna varılmıştır. 100g/l D-ksiloz içeren ortamda; 48.5 g/l ksilitol elde edilmiştir.

Nishio ve arkadaşları (1989), çalışmalarında immobilize Candida Pelliculosa ve Methanobacterium sp. HU kullanarak D-ksilozun ksilitole dönüşümünü araştırmışlardır. Çalışma bir kolon reaktörde iki organizmanın doldurulması ile sürekli bir sistemde iki haftada gerçekleştirilmiştir. Bir çok immobilize teknikleri arasında foto-kroslinkable reçine polimerleri seçilmiştir. Sonuçta foto-kroslinkable reçine polimeri kullanıldığında %20 dönüşüm, kalsiyum aljinat jel kullanıldığında %10 dönüşüm elde edilmiştir.

Roberto ve arkadaşları (1990), çalışmalarında Candida Guilliermondii ile şeker kamışından ksilitol üretimini incelemişlerdir. Beş maya arasında yapılan araştırmada Candida Guilliermondii 'nin ksilitol üretimi için daha ümit verici olduğu tespit edilmiştir. Çalışmada yedi değişik PH ayarlaması $Ca(OH)_2$, CaO, KOH gibi maddelerle yapılmış, en yüksek verim $Ca(OH)_2$ ile elde edilmiştir. PH'ın önce 10'a kadar artırılıp, sonra 6.5'a

düşürülmesinin ksilitol verimini olumlu etkilediği görülmüştür. Bu şekilde furfuralın ve ağır metallerin uzaklaştırıldığı öne sürülmüştür. Ayrıca fazla titre etmenin fenolik bileşikleri uzaklaştırmak gibi bir faydası olduğu belirtilmiştir. Sonuçta 70 g/l ksiloz içeren hidrolizattan 0.48 g/g ksilitol elde edilmiştir.

Dahiya (1990), yapmış olduğu çalışmada Petromyces Albertensis mayasını ksiloz içeren bir ortama ekmiş ve ksilitol üretmiştir. Amonyum asetatın, ksilitol üretimini artırıcı yönde etkilediği ve yeast ekstraktın en uygun besi kaynağı olduğu görülmüştür. Maksimum ksilitol veriminin, başlangıç D-ksiloz miktarının 100 g/lt olduğunda elde edildiği görülmüştür.

Furlan ve arkadaşları (1991), çalışmalarında D-ksilozun, Candida Parapsilosis ile fermentasyonunu sürekli kültür kullanarak gerçekleştirmişlerdir. Candida Parapsilosis'in avantajı etanol oluşumu olmadan ksilitolün elde edilmesidir. Sentetik bir ortamda ksilitol üretiminin biyokütlenin büyümesi ile direkt olarak eşleştiğini ve O_2 'nin etkili olduğunu ortaya koymuştur. $K_{L,a}$ değeri kültür ortamında dinamik metotla ölçülmüştür. İki sürekli kültürde ayrı ayrı çalışılmış havalandırma ve karıştırma hızları sabit tutulurken seyrelme hızı değiştirilmiş, seyrelme hızı ve karıştırma hızı sabit tutulurken havalandırma hızı değiştirilmiştir. Sonuçta ksilitol oluşumunun büyümeye bağımlı olduğu, üretim hızının seyrelme hızı ile değişmediği gözlenmiştir.

Meyrial ve arkadaşları (1991), yaptıkları çalışmada Candida Guillermondii ile D-ksilozdan fermentasyonla

ksilitol üretimini incelemişlerdir. Çalışmada kullanılan mikroorganizmanın glikoz, mannoz, galaktozu, bunlara karşılık gelen polialkollere dönüştürmediği, sadece arabinozu, arabitole fermente ettiği görülmüştür. D-ksilozun Candida Guillermondii ile başlangıç derişimi 110 g/l'i aştığı zaman Candida Guillermondii yüksek verimle ksilitol elde edilmiştir. C.Guillermondii D-ksiloz içeren bir ortama ekildiğinde gecikme fazı olmadığı ve ksilozun tamamen harcandığı gözlenmiştir.

Horitsu ve arkadaşları (1992), yapılan çalışmada D-ksilozun, Candida Tropicalis ile fermentasyonunda kültür şartlarının ksilitol üretim hızına etkilerini araştırmışlardır. Bu amaçla, yeast ekstrakt miktarı, ksiloz derişimi ve havalandırma hızı (k_La) gibi üç parametre bağımsız değişken olarak seçilmiş ve 2^3 faktoriyel deneysel tasarım (factorial experimental design) yöntemiyle optimum üretim şartları belirlenmiştir. Optimum koşullardaki, maksimum üretim hızı 2.67 g/l.h olarak saptanmıştır.

4. DENEYSEL ÇALIŞMA

Ayçiçeği tohum kabuklarının değerlendirildiği bu çalışma iki bölümden oluşmaktadır. Birinci bölümde ayçiçeği tohum kabuklarının asidik hidrolizi ile D-ksiloz eldesi, kinetik açıdan incelenmiştir. İkinci bölümde ise D-ksiloz ve hidrolizattan Candida Tropicalis Kuen 1022 mayası kullanılarak fermentasyonla ksilitol üretimi amaçlanmıştır.

4.1 Ayçiçeği Tohum Kabuklarının Asidik Hidrolizi

4.1.1 Ön İşlemler

4.1.1.1 Öğütme

Ayçiçeği tohum kabukları, asidik hidroliz çalışmasına başlamadan önce öğütülmüştür. Öğütmedeki esas amaç asidin tohum kabuklarındaki polimerik yapıya daha kolay ulaşmasını sağlamaktır.

Ayçiçeği tohum kabuklarının öğütme işlemi bir çekiçli değirmende yapılmıştır. Öğütülen ayçiçeği tohum kabuklarının elek analizi sonucunda, 10-20mesh arasında kalan kısım hidroliz deneyleri için kullanılmıştır. Bu boyut, ortamın akışkanlığı göz önüne alınarak saptanmıştır.

4.1.1.2 Substratta Nem Tayini

Nem tayini için öğütülerek hazırlanan ayçiçeği tohum kabukları 105°C 'da ki fırında 4 saat tutulmuştur. Daha sonra örnekteki nem miktarı hesaplanmıştır.

$$\% \text{ Uçucu madde} = \frac{\text{Ağırlık kaybı (g)}}{\text{Örnek ağırlığı (g)}}$$

Sonuçta hazırlanan örnekte %9 nem olduğu hesaplanmıştır. Çalışmalar kuru baz temel alınarak yapılmıştır.

4.1.1.3 Lignoselülozik Maddelerde Pentozan Tayini

Bu analiz ayçiçeği tohum kabuğunda bulunan pentozan miktarını hesaplamak için yapılmıştır. Kullanılan yöntemin esası, biyokütlerdeki pentozanların derişik HCl ile furfurala dönüştürülmesini ve distilat şeklinde toplanan furfuralın kolorimetrik olarak orsinal-ferrik klorür ile tayinine dayanmaktadır. Yapılan deneysel çalışma sonunda ayçiçeği tohum kabuğunda ksilanın %18.92 oranında olduğu saptanmıştır. Analiz yöntemi, Ek-1'de verilmiştir.

4.1.2 Asidik Hidroliz Deneyleri

Bölüm 4.1.1.1 'de anlatıldığı gibi hazırlanan ayçiçeği tohum kabukları ile hidroliz deneylerine başlamadan önce katı-sıvı oranı seçilmiştir. Bu oranı belirlerken dikkat edilen nokta ortamın akışkanlığıdır. Bu amaçla ayçiçeği tohum kabuklarının asit ile tam olarak ıslandığı 1/3 katı-sıvı oranı seçilmiştir. Bu orana göre her

seferinde 0.5gr katı üzerine 1.5ml asit eklenerek çalışmalar yapılmıştır.

Asidik hidroliz için %1, %3, %5 (ağırlık/hacim) konsantrasyonundaki H_2SO_4 kullanılmıştır. 98°C 'daki hidroliz deneyler su banyosunda, 120°C ve 130°C'daki deneyler ise yağ banyosunda yapılmıştır. 1cm çapında, 10cm boyundaki cam tüpler, kesikli reaktör olarak kullanılmıştır.

Ayçiçeği tohum kabukları öğütüldükten sonra, belirlenen ağırlıkta tüplere konulmuş üzerine önceden ısıtılmış asit eklenip cam tüplerin ağızları oksijen kaynağı ile kapatılmıştır. Tüpler yağ banyosuna konulmadan önce, deney sıcaklığına kadar ısıtılmış ön ısıtma yağ banyosuna sepetler içinde daldırılarak 25-30 sn tutulmuş ve hemen sabit sıcaklığa ayarlanmış diğer yağ banyosuna geçirilmiştir. Bu işlemi yapmaktaki esas amaç sabit sıcaklığa ayarlanmış yağ banyosunun sıcaklığını düşürmektir.

Bu şekilde su veya yağ banyosuna yerleştirilen tüplerde hidroliz reaksiyonu başlatılmıştır. Farklı zamanlarda tüplerden biri alınarak soğuk su banyosuna atılarak hidroliz reaksiyonu durdurulmuştur. Yaklaşık 120 dk. örnek alınmaya devam edilmiştir. Örnek için alınan tüpün ağzı kesilmiş, saf su ile yıkanarak içindeki ayçiçeği tohum kabukları alınmıştır. İstenilen oranda seyrelme yapılarak, mavi bant süzgeç kağıdından süzülmüştür. Daha sonra alınan örnekteki toplam indirgen şeker analizleri yapılmıştır.

4.1.3 Analiz Yöntemi

4.1.3.1 İndirgen Şeker ve Glikoz Tayini

Ayçiçeği tohum kabuklarının asidik hidrolizinde ksilanın D-ksiloza indirgendiği bunun yanı sıra selülozun da glikoza indirgenmiş olabileceği düşünülmüştür. İndirgen şeker analizi bu iki şekeri toplam olarak ölçmektedir. İndirgen şeker tayini ve kalibrasyon eğrisi Ek-2'de verilmektedir (Miller, 1959).

Glikoz tayini enzimatik yöntemle dayanmaktadır. Analizde glikoz enzimi kullanılmaktadır. Yöntemin esası Ek-3'dedir. Ayçiçeği tohum kabuklarının asidik hidrolizinden hesaplanan glikoz değerleri Ek-4'de verilmiştir. Toplam indirgen şeker değerinden, belirli bir zaman aralığı için bulunan glikoz miktarı çıkartılarak ksiloz konsantrasyonları bulunmuştur. (Ek-6)

4.1.4 Asit Konsantrasyonlarının Düzeltilmesi

Bir çok biyokütle gibi ayçiçeği tohum kabuklarının asitler üzerinde nötrleştirme etkisi olabileceği düşünülerek gerçek asit konsantrasyonunun bulunması için bir takım deneyler yapılmıştır.

1.5ml asit ve 0.5g ayçiçeği tohum kabuğu ile iki paralel örnek 30 dakika bekletilip, 100ml'ye seyreltilmiştir. Ayrıca sadece 1.5ml asit alınıp, yine 100ml'ye seyreltilmiştir. Hazırlanan bu örnekler üzerine fenol-ftalein eklenip 0.05N NaOH ile titre edilmiştir. Buna göre düzeltilmiş asit derişimleri %1 H₂SO₄ için %0.9565

H₂SO₄, %3 H₂SO₄ için %2.8716 H₂SO₄, %5 H₂SO₄ için %4.7938 H₂SO₄ olarak saptanmıştır.

4.2 D-Ksilozdan *Candida Tropicalis* Mayası Kullanılarak Fermentasyonla Ksilitol Üretimi

4.2.1 Mikroorganizma ve Kültür Şartları

Mikroorganizma olarak *Candida Tropicalis* Kuen 1022 mayası kullanılmıştır. Bu maya liyofilize halinde İstanbul Üniversitesi Mikrobiyoloji Bölümü Kültür Koleksiyonundan alınmıştır.

Yeast, pepton, ksiloz (YPD) eğik agar ortamına ekim yapılmıştır. Bu ortam (ağırlık/hacim olarak) %2 D-Ksiloz, %0.5 polipepton, %0.5 yeast ekstrakt içermektedir. 1N HCl ile PH=5 'e ayarlanmıştır. Hazırlanan ekim ortamı 121°C'de 15 dakika otoklavda steril edilmiştir. *Candida Tropicalis* hazırlanan ekim ortamına steril şartlarda ekilmiştir (Horitsu, 1992). 25 saat 29°C'de inkübatörde mikroorganizmaların üremesi için bekletilmiştir.

4.2.2 Büyüme Ortamı

Büyüme ortamı 3g/l Bakto-yeast ekstrakt, 3g/l Bakto malt ekstrakt, 5 g/l bakto-pepton, 10g/l D-ksiloz içermektedir. Ortamın PH'ı 5 değerine 1N HCl asit ile ayarlanıp, otoklavda 121°C'de 15dakika sterilize edilmiştir. Su ile süspansiyeye edilen *Candida Tropicalis* mayası steril şartlarda bu ortama ekilmiştir. 250ml erlene konulan ve ağzı pamukla kapatılan 100ml büyüme ortamı, 24 saat

manyetik karıştırıcıda 30°C'da karıştırılarak bekletilmiş, mikroorganizmanın büyümesi 600nm'de kontrol edilmiştir (Chen, 1985).

4.2.3 Fermentasyon Ortamı

50g/l, 70g/l, 100g/l D-ksiloz içerecek şekilde hazırlanan örneklerin içine 20g/l derişimini sağlayacak miktarda yeast ekstrakt ilave edilmiştir. 1N HCl ile PH=6'ya ayarlanmıştır. Hazırlanan örnekler 121°C'de 15dakika otoklavda steril edilmiştir. Örnekler üzerine 20 ml büyüme ortamı ilave edilip, toplam hacim 100ml'ye tamamlanmıştır. 250ml erlenlere konulan örneklerin pamuk tıkaçla ağızları kapatılıp sallamalı su banyosunda 140 rpm'de 30°C'de fermentasyon gerçekleştirilmiştir. Belirli zaman aralıklarında örnek alınarak indirgen şeker ve ksilitol analizleri yapılmıştır. Ayrıca 600nm absorbanslar okunarak biyokütle büyümesi kontrol edilmiştir.

4.3 Aycıceği Tohum Kabuklarının Hidrolizi ile Elde Edilen Hidrolizatın, Candida Tropicalis Mayası Kullanılarak Fermentasyonu ile Ksilitol Üretim Şartlarının Araştırılması

4.3.1 Hidrolizatın Hazırlanması

Aycıceği tohum kabukları çekiçli değirmende öğütölmüş daha sonra elek analizinin 10-20 mesh boyutlarındaki fraksiyonu ile çalışılmıştır. Hidrolizat, 1/3 katı/sıvı

oranında, %5 H₂SO₄ (ağırlık/hacim) ile 98°C'de 3 saat hidroliz sonucunda hazırlanmıştır. Bu koşullar, kinetik çalışmaların sonucu göz önüne alınarak özellikle furfural konsantrasyonunun 1g/lt altında kalmasını sağlayacak şekilde seçilmiştir. Hidrolizat süzölmüş ve PH değeri önce Ca(OH)₂ ile önce 10'a kadar artırılmış daha sonra HCl ile 6'ya düşürülmüştür. PH ayarlaması yapılırken oluşan çökelti her seferinde süzgeç kağıdından süzülerek ayrılmıştır (Roberto, 1990). Hazırlanan hidrolizatta, D-ksiloz konsantrasyonu 66.01 g/l olarak ölçülmüştür.

4.3.2 Mikroorganizma ve Kültür Şartları

Hidrolizat su ile yarı yarıya seyreltilerek YPD eğik agar ortamının hazırlanmasında kullanılmıştır. Bu ortam (ağırlık/hacim olarak) %0.5 polipeptan, %0.5 yeast ekstrakt içerir. Hazırlanan ekim ortamı 121°C'da 15 dakika otoklavda sterilize edilip, Candida Tropicalis mayası hazırlanan ortama steril şartlarda ekilmiştir. 48 saat 29°C'de inkübatörde mikroorganizmaların üremesi beklenilmiştir. Bu yöntemle mikroorganizmanın, hidrolizat ortamına uyum sağlaması temin edilmeye çalışılmıştır (Horitsu, 1992).

4.3.3 Büyüme Ortamı

20ml hidrolizat 1/3 oranında seyreltilmiş, bu ortama, 3g/l Bakto-yeast ekstrakt, 5g/l bakto-peptan eklenmiş ve 60ml büyüme ortamı 250ml'lik erlene konulmuştur. Hazırlanan ortam otoklavda 121°C'de 15dakika sterilize edilmiştir. Su ile süspansiyeye edilen ekim ortamının

daki Candida Tropicalis mayası steril şartlarda büyüme ortamına ekilmiştir. 24 saat manyetik karıştırıcıda 30°C'da karıştırılarak, mikroorganizmanın büyümesi beklenilmiştir. Ortamın absorbanı 600nm'de UV. spektrofotometrede okunarak mikroorganizmanın büyümesi kontrol edilmiştir (Chen, 1985).

4.3.4 Fermentasyon Ortamı

PH 6'ya ayarlanan hidrolizatın içine 20g/l konsantrasyonu sağlayacak şekilde yeast ekstrakt eklenip, 121°C'de 15dakika steril edilmiştir. Ayrıca büyüme ortamından hacim olarak %20'sini kapsayacak ilave yapıldıktan sonra 100ml'ye tamamlanan örnek 250ml'lik erlene konulup ağzı pamukla kapatılmıştır. Aerobik şartlarda, 140rpm 30°C'de sallamalı su banyosunda fermentasyon gerçekleştirilmiştir. Zamana karşı örnekler alınarak indirgen şeker ve ksilitol analizleri yapılmıştır. Ayrıca mikroorganizma büyümesi 600nm'de UV. spektrofotometrede absorbanlar ölçülerek takip edilmiştir.

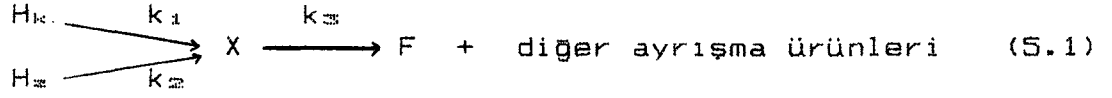
5. AYÇİÇEĞİ TOHUM KABUKLARININ ASİDİK HİDROLİZİ İÇİN KİNETİK MODEL

Bu bölüm ayçiçeği tohum kabuklarının asidik hidrolizi için geliştirilen kinetik modeli içermektedir. Model ve model kapsamındaki parametreler tanımlandıktan sonra, parametrelerin elde edilmesinde kullanılan yöntem açıklanmıştır.

5.1 Kinetik Model

Literatürde hemiselüloz hidrolizi ile ilgili geliştirilen bir çok kinetik model bulunmaktadır. Hidroliz reaksiyonu oldukça karmaşıktır ve hemiselüloz yapısı bitkiden bitkiye değişmektedir. Literatürde, değişik lignoselülozik maddeler için önerilen kinetik modellerin bir çoğunda hemiselülozun iki fraksiyonu olduğu kabul edilmiştir. Kolay hidrolizlenen fraksiyon (H_k) ve zor hidrolizlenen fraksiyon (H_x). Nikitin (1960) hemiselülozun yapısındaki bu heterojenliğe ilk dikkat çeken araştırmacıdır. Daha sonra bir çok araştırmacı, bir çok lignoselülozik madde için bu fraksiyonların hemiselüloz içindeki yüzdesini saptamıştır (Veeraraghavan ve arkadaşları, (1982); Molaney ve arkadaşları, (1985); Kim ve Lee, (1987)). Ayçiçeği tohum kabukları ile ilgili bu tür bir bilgiye literatürde rastlanmamıştır. Ksilan, daha önce de belirtildiği gibi hemiselülozun esasını oluşturur. Bu nedenle bu çalışmadaki, kinetik model, hemiselülozdaki ksilan temel alınarak oluşturulmuştur. Buna göre

ayçiçeği tohum kabuklarının, asidik hidroliz reaksiyonunun aşağıdaki modele göre ifade edilebileceği önerilmiştir.



Burada H_k ; hemiselülozun kolay hidrolizlenebilen fraksiyonu

H_z ; hemiselülozun zor hidrolizlenebilen fraksiyonu

X ; ksiloz

F ; furfural 'ı göstermektedir.

Bu modelde her bir basamağın birinci derece olduğu varsayımına göre hız ifadeleri yazılırsa;

$$\frac{dH_k}{dt} = -k_1 H_k \quad (5.2)$$

$$\frac{dH_z}{dt} = -k_2 H_z \quad (5.3)$$

$$\frac{dX}{dt} = k_1 H_k + k_2 H_z - k_3 X \quad (5.4)$$

Ksiloz için diferansiyel denklem çözüldüğünde, ksilozu zamana göre veren ifade elde edilir.

$$X = \frac{k_1 H_k}{k_3 - k_1} e^{-k_1 t} + \frac{k_2 H_z}{k_3 - k_2} e^{-k_2 t} - \frac{k_1 H_k}{k_3 - k_1} e^{-k_3 t} - \frac{k_2 H_z}{k_3 - k_2} e^{-k_3 t} \quad (5.5)$$

H_k ve H_z başlangıçtaki ksilan içindeki kesirleri cinsinden ve zamana bağlı olarak, aşağıdaki gibi ifade edilebilirler.

$$H_k = F_k H_0 e^{-k_1 t} \quad (5.6)$$

$$H_z = (1 - F_k) H_0 e^{-k_2 t} \quad (5.7)$$

Burada H_0 ; başlangıçtaki ksilan miktarı

F_k ; kolay hidrolizlenen hemiselülozun fraksiyonunun kesrini gösterir.

(5.6) ve (5.7), denklem (5.5)'de yerine konulduğunda ksilozu zamana bağlayan ifade aşağıdaki şekle dönüşür.

$$X = \frac{k_1 F_k H_0}{k_3 - k_1} (e^{-k_1 t} - e^{-k_3 t}) + \frac{(1 - F_k) k_2 H_0}{k_3 - k_2} (e^{-k_2 t} - e^{-k_3 t}) \quad (5.8)$$

Yukarıdaki ifadedeki hız sabitleri sıcaklığın ve asit derişiminin bir fonksiyonudur.

$$k_i = k_{oi} (Ac)^{Ni} \exp(-E_{ai} / RT) \quad (5.9)$$

k_{oi} ; frekans faktörü

Ac ; asit derişimi (normalite)

Ni ; asit derişimine göre mertebe

E_{ai} ; aktivasyon enerjisi (kal/mol)

Nonlineer regrasyon yöntemiyle belirlenmesi gereken parametreler arasındaki bağımlılığı kırmak için T sıcaklıkları bir merkezi T_0 sıcaklığına göre ortalananmıştır (Himmelblau, 1970). Bu yöntemden yeniden parametre tanımlama denmektedir.

$$k_i = k_{oi} (Ac)^{Ni} e^{-E_{ai} / RT_0} e^{E_{ai} / R (1/T_0 - 1/T)} \quad (5.10)$$

$$k_i = k_{oi} e^{-E_{ai} / RT_0} (Ac)^{Ni} e^{-E_{ai} / R (1/T - 1/T_0)} \quad (5.11)$$

$$k_i = k_{oi}' (Ac)^{Ni} e^{-E_{ai} / R (1/T - 1/T_0)} \quad (5.12)$$

Burada T_0 sıcaklığı çalışma sıcaklıklarının ortalaması olarak alınmıştır.

Bu modele göre her hız sabiti için üç parametrenin (k_{0i} , N_i , E_{ai}) ve F_k 'nin saptanması gerekir. Nonlineer regresyonla bulunacak parametre değerlerinin, güvenilirliğini artırabilmek için ayrışma reaksiyonunun



bağımsız olarak incelenmesine karar verilmiştir.

Bu amaçla saf ksilozun ($X_0=50g/l$), %5, %3, %2, %1 H_2SO_4 ile ayrışma reaksiyonu $98^\circ C$, $120^\circ C$, $130^\circ C$ 'de Bölüm 4'de anlatılan deneysel sistemde gerçekleştirilmiştir. Farklı zamanlarda alınan örneklerdeki furfural konsantrasyonları UV. spektrofotometrede $276nm$ 'de okunan absorbans ölçümlerinin saf furfuralın absorbans değeri ile karşılaştırılmasıyla bulunmuştur.

Furfurala ait hız eşitliği;

$$\frac{dF}{dt} = k_3 X \quad (5.14)$$

şeklinde ifade edilip, diferansiyel denklem düzenlendiğinde, furfuralın konsantrasyonunun zamanla değişimi,

$$F = X_0 (1 - e^{-k_3 t}) \quad (5.15)$$

şeklinde elde edilir. Burada X_0 , başlangıç ksiloz konsantrasyonunu göstermektedir. Bu ifadedeki k_3 , eşitlik (5.12) şeklinde yazılarak üç ayrı asit konsantrasyonunda ve üç ayrı sıcaklıktaki elde edilen deneysel verilerin tümü bir nonlineer regresyon paket programı Plot-50 kullanılarak eşitlik (5.15)'e uyarlanmıştır. Tüm verile-

rin bu aynı anda uyarlanmasıdan k_{03} , N_3 ve E_{a3} elde edilmiştir.

Her derişim ve sıcaklık için k_3 'ler yukarıdaki modelden hesaplanmıştır. H_0 değeri başlangıç ksilan değerinden bulunmuştur. Hidroliz reaksiyonu süresince F_k 'nin sabit olduğu varsayımı yapılarak, üç asit derişimi ve üç sıcaklık için elde edilen hidroliz reaksiyon verisi, bağımsız olarak eşitlik (5.8)'e uyarlanıp, her deney için bir F_k değeri bulunup, bunların ortalaması daha sonraki analiz için kullanılmıştır.

Böylece son aşamada, daha önce bulunan parametrelerin kullanılmasıyla geri kalan parametreler, ayçiçeği tohum kabuklarının asidik hidrolizi ile ilgili dokuz ayrı deneyde elde edilen, ksiloz konsantrasyonu verisinin eşitlik (5.8)'e nonlineer regrasyon yöntemiyle uyarlanmasından elde edilmiştir. Bu işlem sırasında k_1 ve k_2 eşitlik (5.12) şeklinde yazılmış, bu şekilde k_{01} , N_1 , E_{a1} , k_{02} , N_2 ve E_{a2} elde edilmiştir.

6. DENEYSEL SONUÇLAR

6.1 Ayçiçeği Tohum Kabukları Asidik Hidrolizi

Ayçiçeği tohum kabukları bazı ön işlemlere tabii tutulduktan sonra hidroliz deneyleri gerçekleştirilmiştir. Hidroliz deneyleri 98°C, 120°C ve 130°C olmak üzere üç ayrı sıcaklık ve %1 (0.96), %3 (2.87), %5 (4.79) H₂SO₄ üç ayrı asit derişiminde yapılmıştır. Daha sonra D-ksilozun furfurala ayrışması 98°C, 120°C, 130°C ve %1, %2, %3, %5 H₂SO₄ ile gerçekleştirilmiştir. Bu deneyde başlangıç D-ksiloz konsantrasyonu 50g/l olarak alınmıştır.

Elde edilen deney sonuçları Bölüm 5'de anlatıldığı gibi önerilen kinetik modele uyarlanmıştır. Öncelikle modeldeki k_0 , N_0 , E_{a0} değerleri bulunmuştur. Başlangıç ksilan değeri, ayçiçeği tohum kabuklarında yapılan pentozan tayininden 70.4g/l olarak hesaplanmıştır. Kolay hidrolizlenen hemiselülozun fraksiyonunun kesri F_k , her asit derişimi ve her sıcaklık için ayrı ayrı elde edilmiş, ortalamaları olan 0.86 değeri daha sonraki analizler için kullanılmıştır. Tablo 6.1'de her asit derişimi ve sıcaklık için bulunan F_k değerleri görülmektedir.

Tablo 6.1 Değişik sıcaklık ve asit konsantrasyonlarındaki F_k

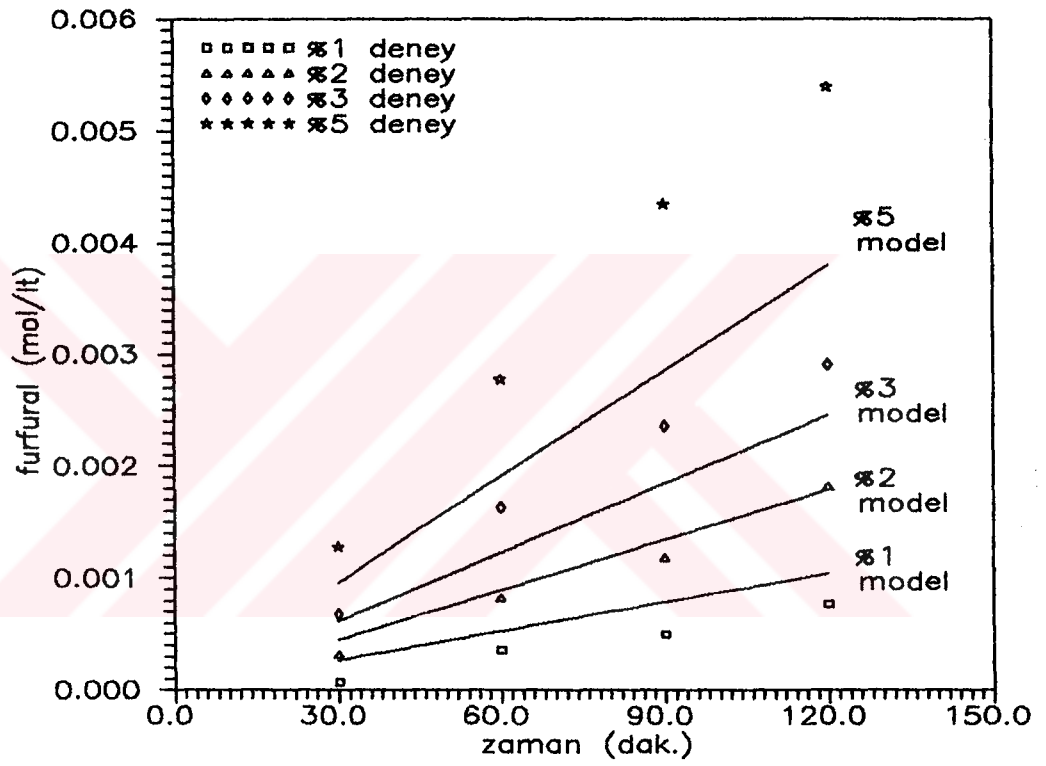
	F_k %5 H_2SO_4	F_k %3 H_2SO_4	F_k %1 H_2SO_4
98°C	0.79	0.69	0.94
120°C	0.93	-	-
130°C	0.92	0.90	0.88

Bu değerler bulunduktan sonra ko_1 , Ea_1 , N_1 , ko_2 , Ea_2 , N_2 değerleri bulunmuştur. Sonuçta önerilen model ile ilgili elde edilen kinetik parametreler Tablo 6.2'de gösterilmektedir.

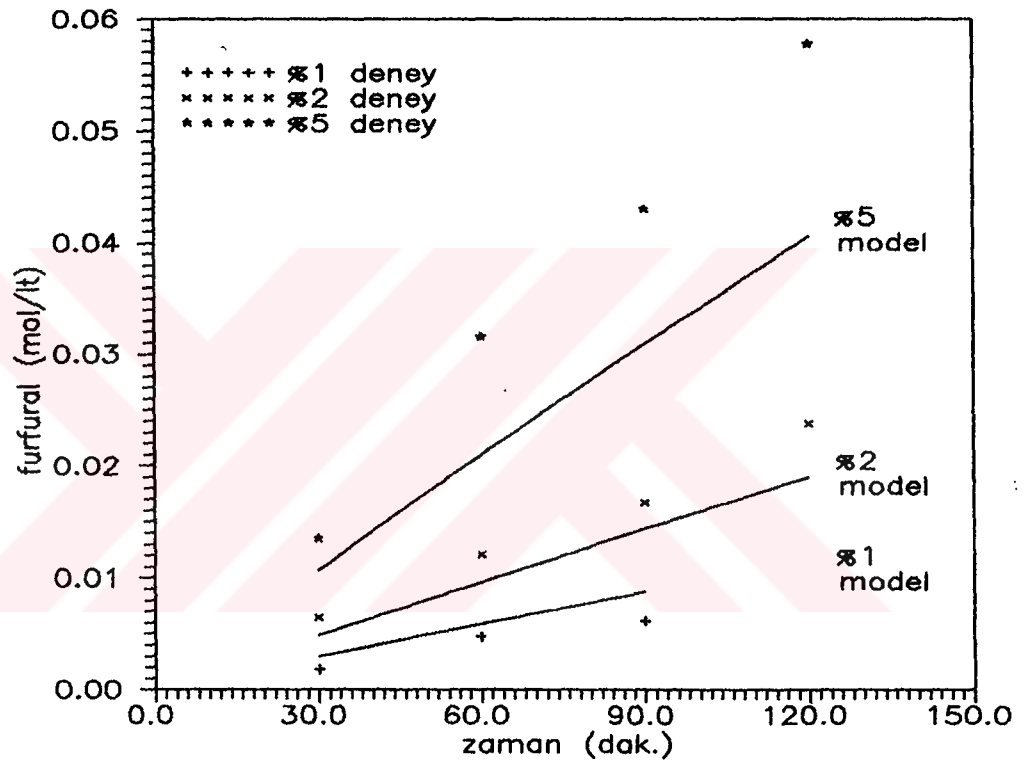
Tablo 6.2 Model parametreleri

k_i	N_i	E_{ai} (kal/mol)	ko_1 dak ⁻¹ (normalite) ^{-N_i}
1	1.5509	22062	4.1606×10^{24}
2	1.3866	18726	1.4379×10^{20}
3	0.777	31950	5.6907×10^{32}

98°C, 120°C ve 130°C'de saf D-ksilozun furfurala ayrışması sırasındaki modelden bulunan furfural derişimleri ile deneysel furfural konsantrasyonlarının karşılaştırılması şekil 6.1, 6.2, 6.3'de gösterilmiştir. Ayrıca bulunan kinetik parametrelerin kullanılmasıyla hesaplanan hidroliz reaksiyonunun ilerleyişi ve deneysel ksiloz konsantrasyonlarının karşılaştırılması Şekil 6.4, 6.5, 6.6'da verilmektedir. Görüleceği gibi deneysel sonuçlar noktalar halinde, model sonuçları ise kesiksiz çizgiler halindedir. Bütün bu karşılaştırmalar ayrıca, tablolar halinde Ek-5 ve Ek-6 'da sunulmuştur.



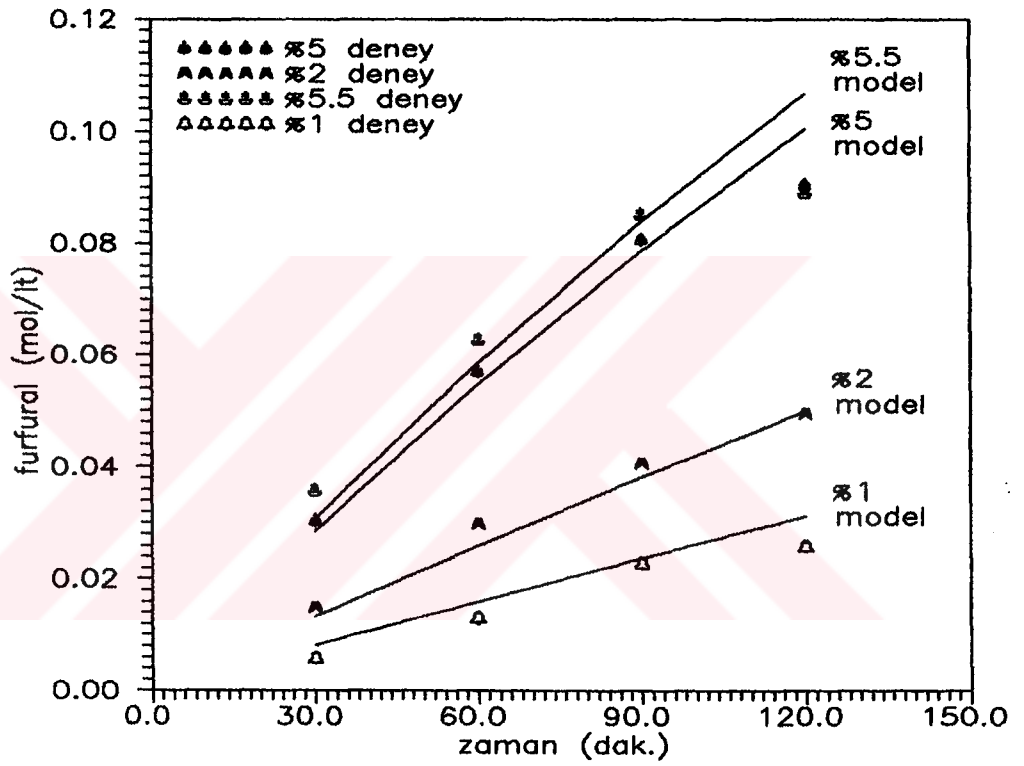
Sekil 6.1 98°C saf ksilozun furfurala ayrışması sırasında furfural konsantrasyonunun zamanla değişimi



X

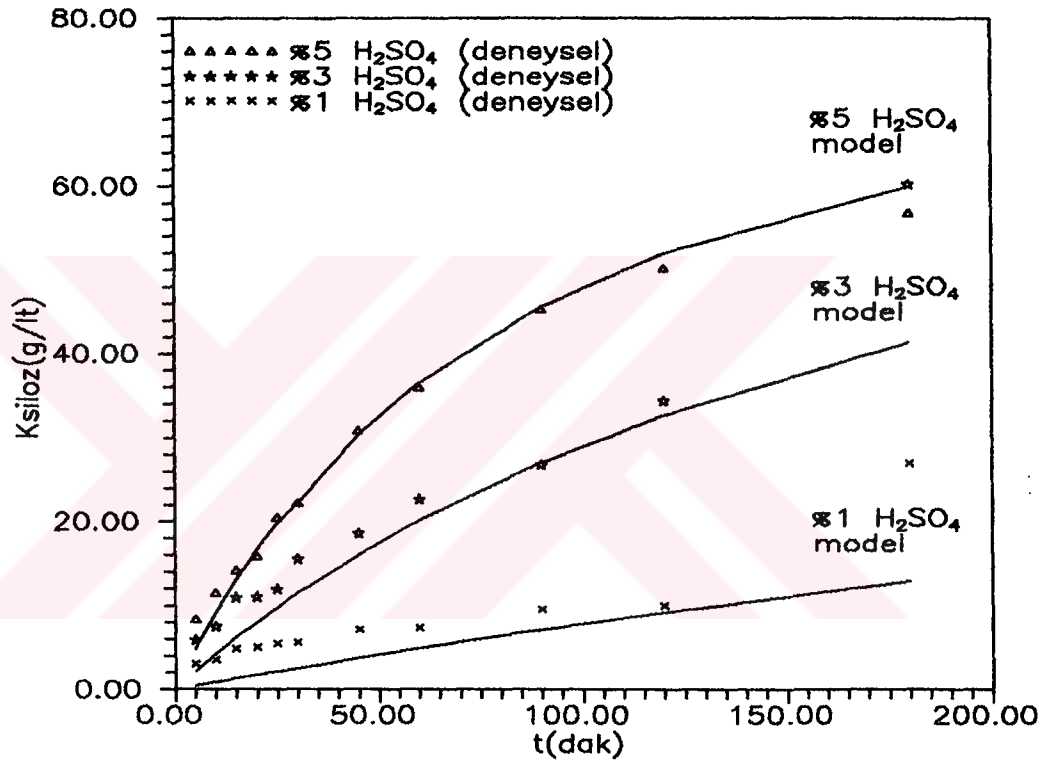
Değişik Asit konsantrasyonu

Şekil 6.2 120°C saf ksilozun furfurala ayrışması sırasında furfural konsantrasyonunun zamanla değişimi

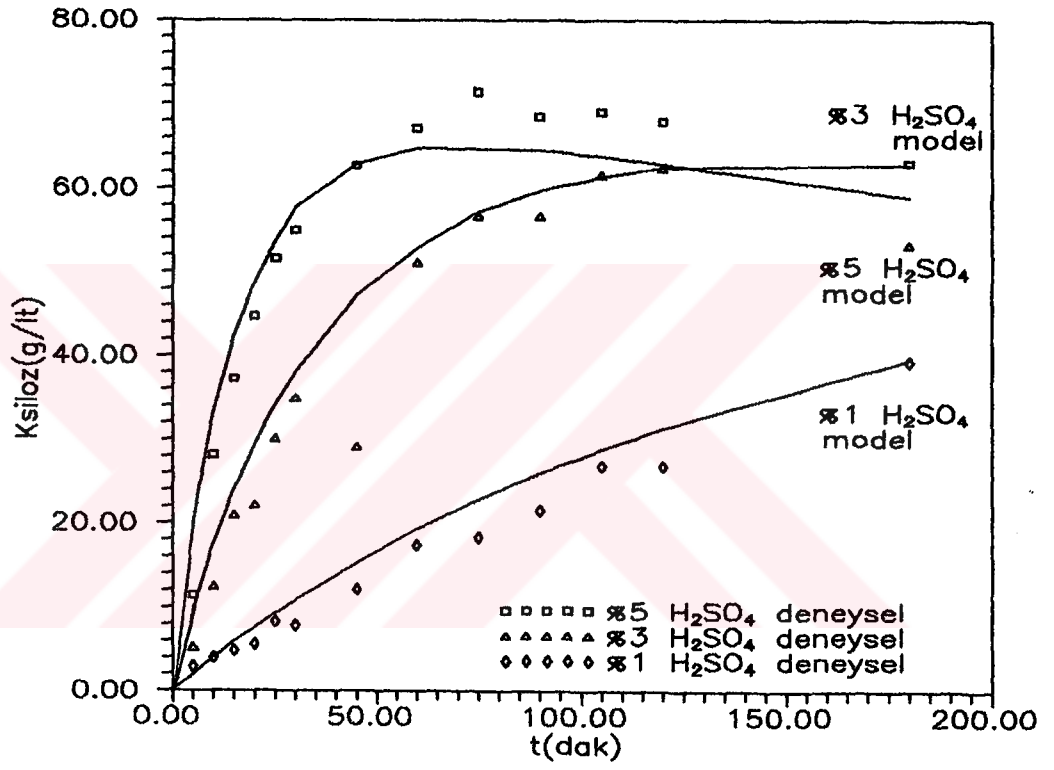


Şekil 6.3 130°C saf ksilozun furfurala ayrışması sırasında furfural konsantrasyonunun zamanla değişimi

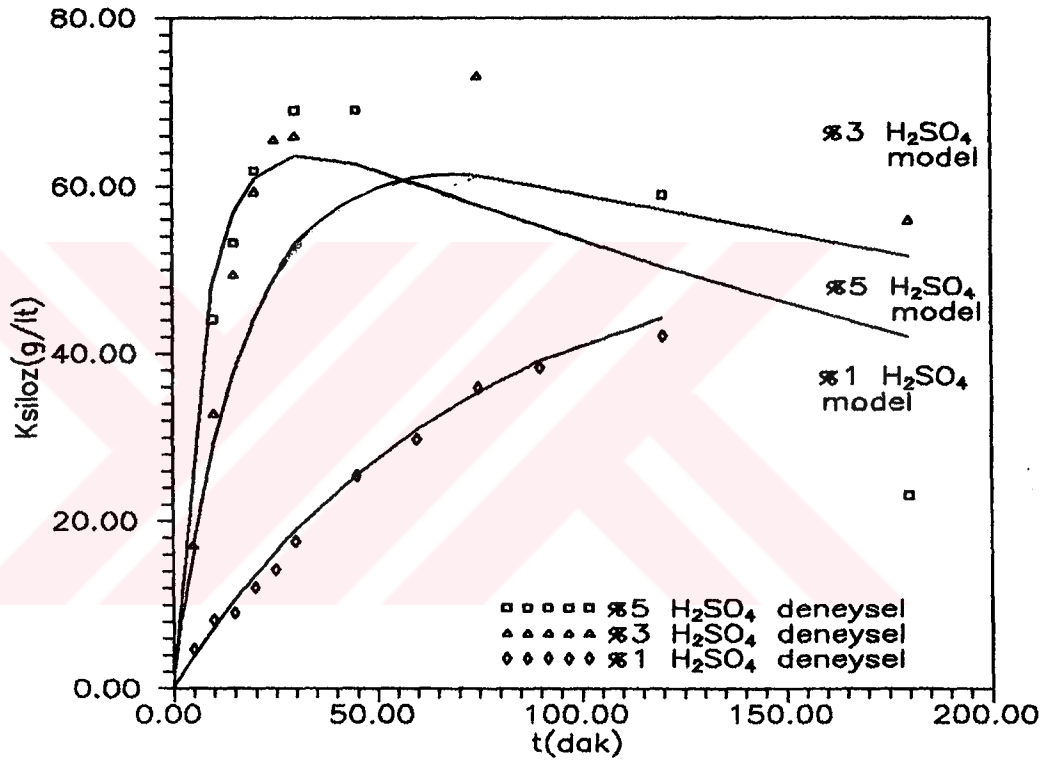
Değişik
45 x
konsantrasyon



Şekil 6.4 98°C da ayçiçeği tohum kabuklarının asidik hidroliz sonuçları



Şekil 6.5 120°C da ayçiçeği tohum kabuklarının asidik hidroliz sonuçları



Şekil 6.6 130°C da ayçiçeği tohum kabuklarının asidik hidroliz sonuçları

6.2 Saf D-ksilozdan Fermentasyon Yöntemi ile Ksilitol Üretimi

Bölüm 4'de anlatıldığı gibi mikroorganizma önce YPD eğik agar ortamına ekilmiş, sonra büyüme ortamına süspansiyone edilerek, 9. saatte fermentasyon ortamına geçilmiştir. Büyüme, 600nm'deki absorbanslar ölçülerek takip edilmiştir. Ek-7'de biyokütlenin zamanla değişimi görülebilir.

Büyüme ortamından aşılama yapılarak başlatılan fermentasyon sırasında 50g/l, 70g/l, 100g/l başlangıç D-ksiloz konsantrasyonunu içeren fermentasyon ortamlarından 6.saat, 24.saat, 48.saat, 72.saat ve 96.saat sonunda örnekler alınarak indirgen şeker ve ksilitol analizleri yapılmıştır. Aynı zamanda biyokütle büyümesi yine 600nm'de absorbans ölçümüyle kontrol edilmiştir. Şekil 6.7, Şekil 6.8, Şekil 6.9 sıra ile 50g/l, 70g/l ve 100g/l için ksiloz, ksilitol ve biyokütlenin fermentasyon süresince zamanla değişimini göstermektedir. Ek-8'de sonuçlar tablolar halinde sunulmuştur. Fermentasyon kinetiği ile ilgili bazı parametreler ise Tablo 6.3'de verilmiştir.

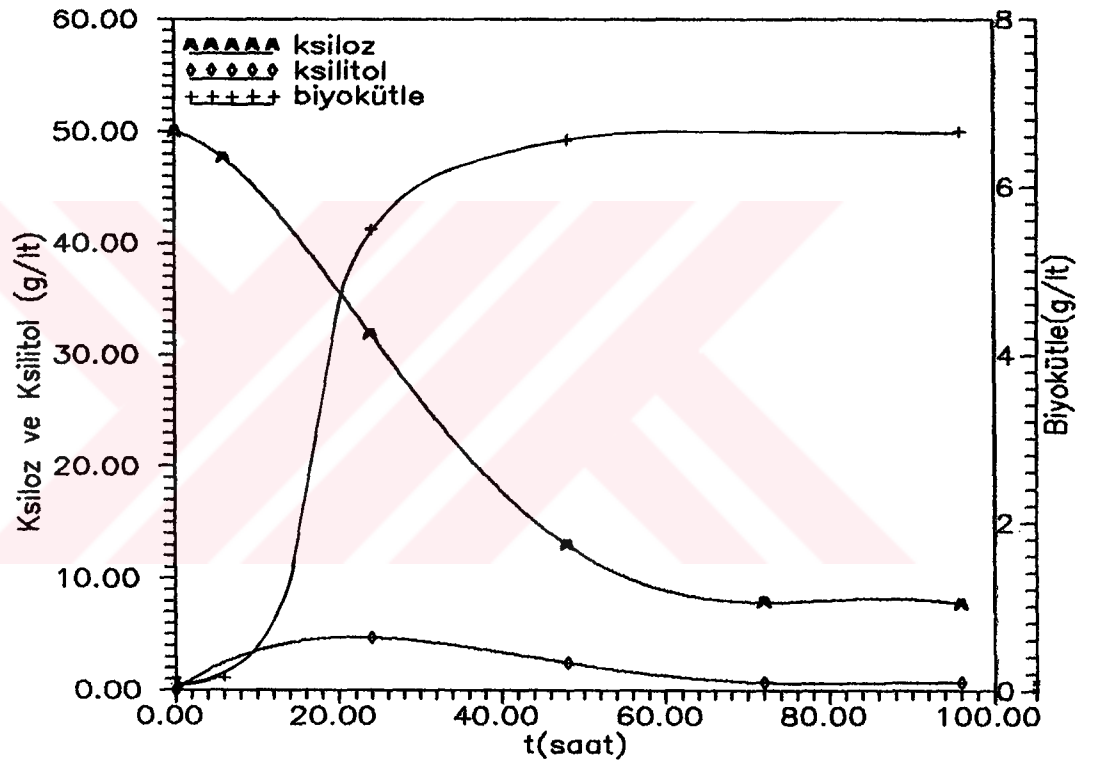
96 saat sonunda ortamda hala her üç başlangıç konsantrasyonu için harcanmamış D-ksiloz kaldığı görülmüştür. Elde edilen maksimum ksilitol miktarı 4.72g/l'dir.

Tablo 6.3 D-ksiloz ve hidrolizatın *Candida Tropicalis* ile fermentasyonuna ait kinetik parametreler

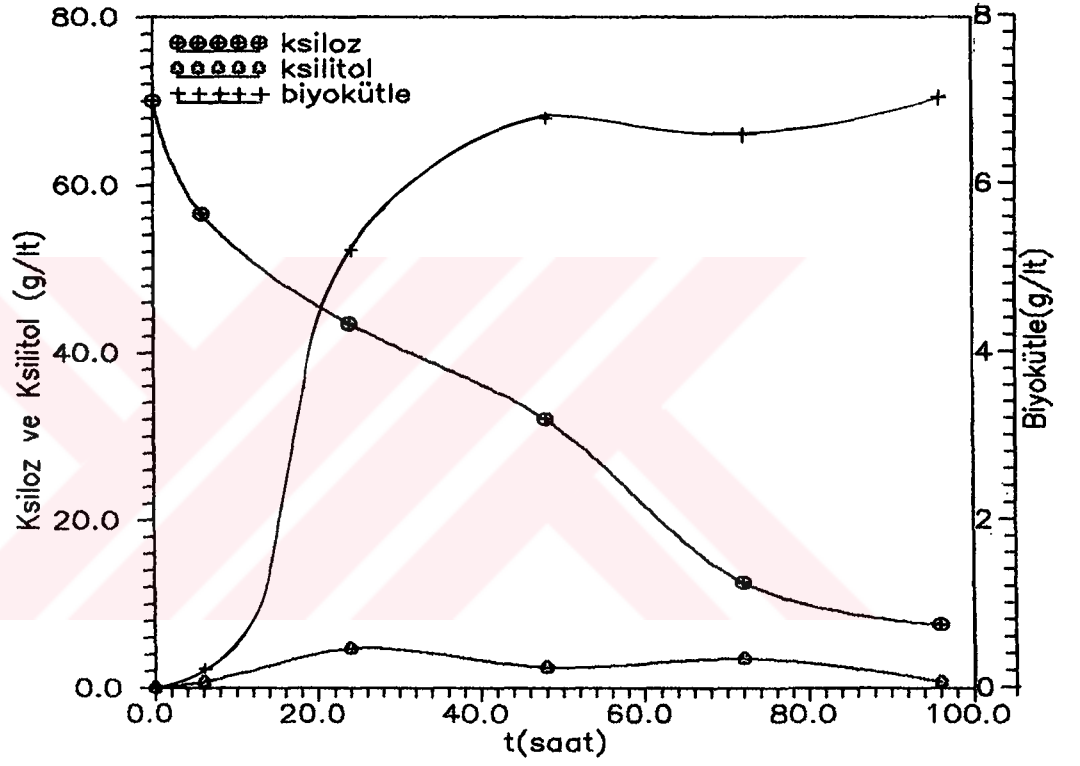
So	Fermentasyon Suresi t (saat)	μ (saat ⁻¹)	Qp (g ⁻¹ st ⁻¹)	qp (gg ⁻¹ st ⁻¹)	Yp/s (gg ⁻¹)	Yx/s (gg ⁻¹)
50 g/lt	24	0.205	0.1964	0.09177	0.2596	0.3016
70 g/lt	24	0.18467	0.1964	0.09698	0.1777	0.196
100 g/lt	48	0.0728	0.09827	0.02380	0.07468	0.1177
Hidrolizat (66.01 g/lt)	24	0.2245	0.2194	0.05719	0.11268	0.1755

6.3 Hidrolizat Kullanılarak Ksilitol Üretim Şartlarının İncelenmesi

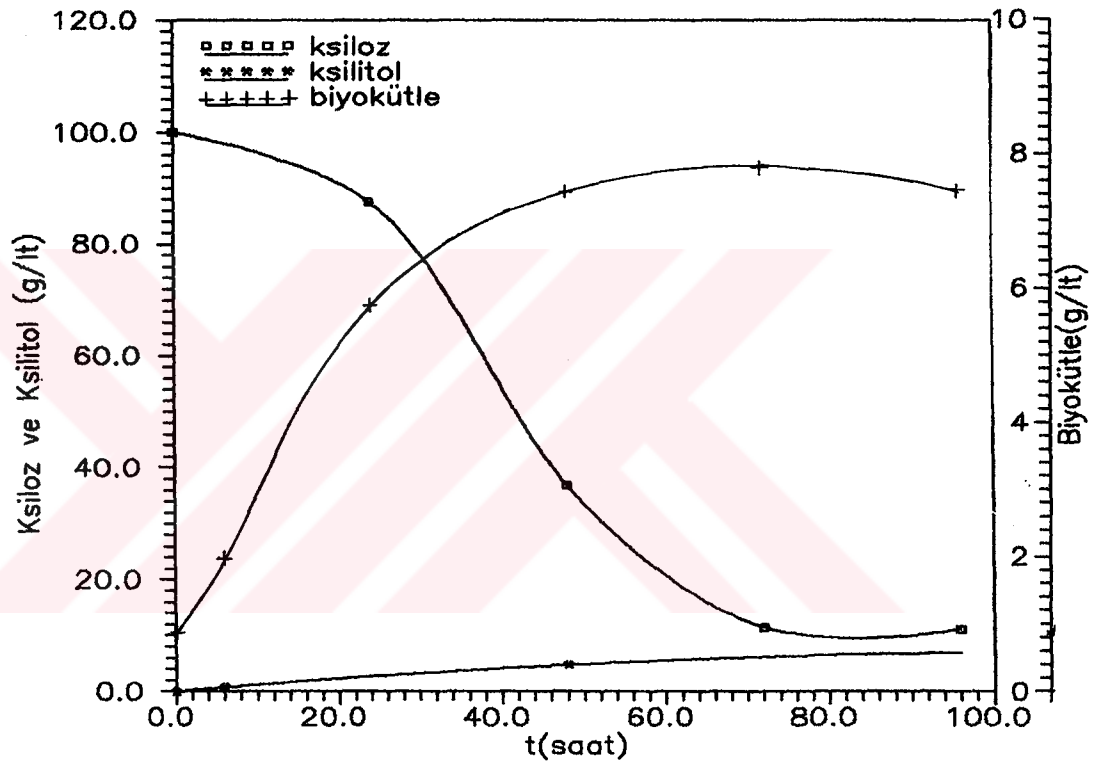
Bölüm 4'de anlatıldığı gibi hidrolizat hazırlanmıştır. Hazırlanan hidrolizat ile yine YPD eğik agar, büyüme ve fermentasyon ortamları hazırlanmıştır. Büyüme ortamından 10. saatte fermentasyon ortamına ekim yapılmıştır. 96 saat boyunca belirli zaman aralıklarında alınan örneklerde ksilitol ve şeker analizleri yapılmıştır. Bu süre zarfında ksiloz konsantrasyonunun 66.01g/l'den 10.41g/l'ye kadar düştüğü, buna karşılık ksilitolün en çok 4.717g/l'ye ulaştığı görülmüştür. Şekil 6.10, ksiloz, ksilitol ve biyokütlenin zamanla değişimini göstermektedir. Ek-9'da sonuçlar tablo halinde sunulmuştur. Ek-10'da hidrolizat ile hazırlanan büyüme ortamının Candida Tropicalis için büyüme eğrisi verilmiştir. Yine, hidrolizatın, fermentasyonu ile ksilitol üretimine ait bazı kinetik parametreler Tablo 6.3'de gösterilmektedir.



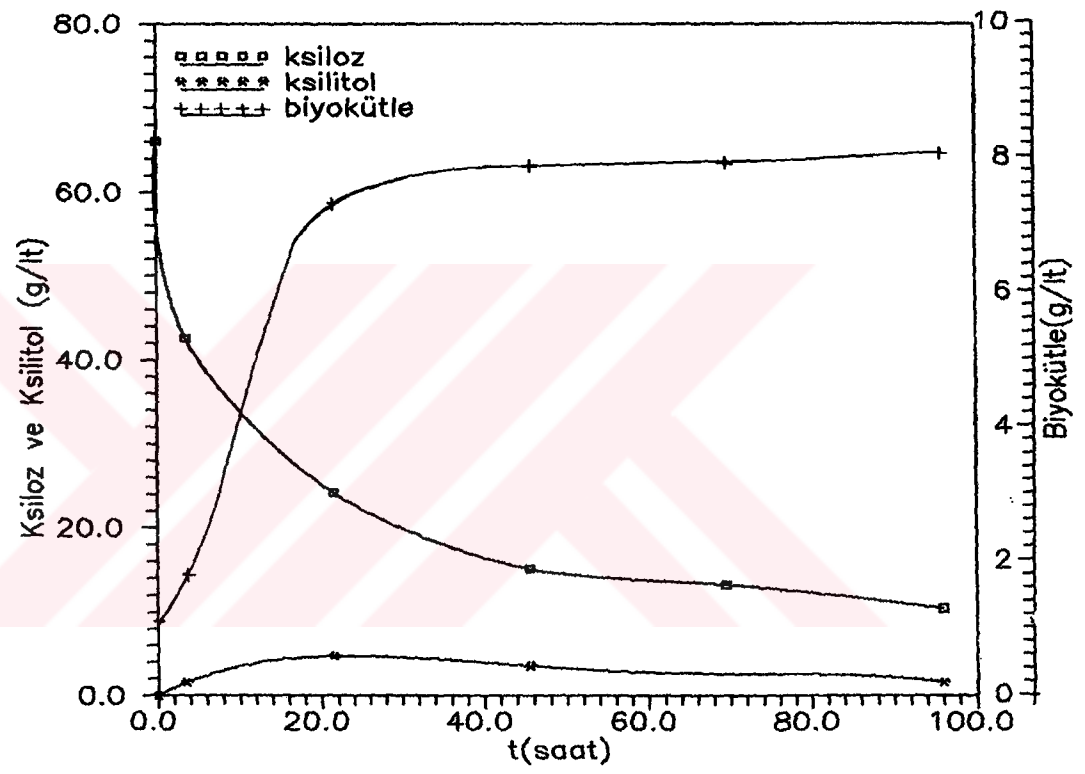
Şekil 6.7 50 g/lt D-ksiloz içeren fermentasyon ortamına ait deney sonuçları



Şekil 6.8 70 g/lt D-ksiloz içeren fermentasyon ortamına ait deney sonuçları



Şekil 6.9 100 g/lt D-ksiloz içeren fermentasyon ortamına ait deney sonuçları



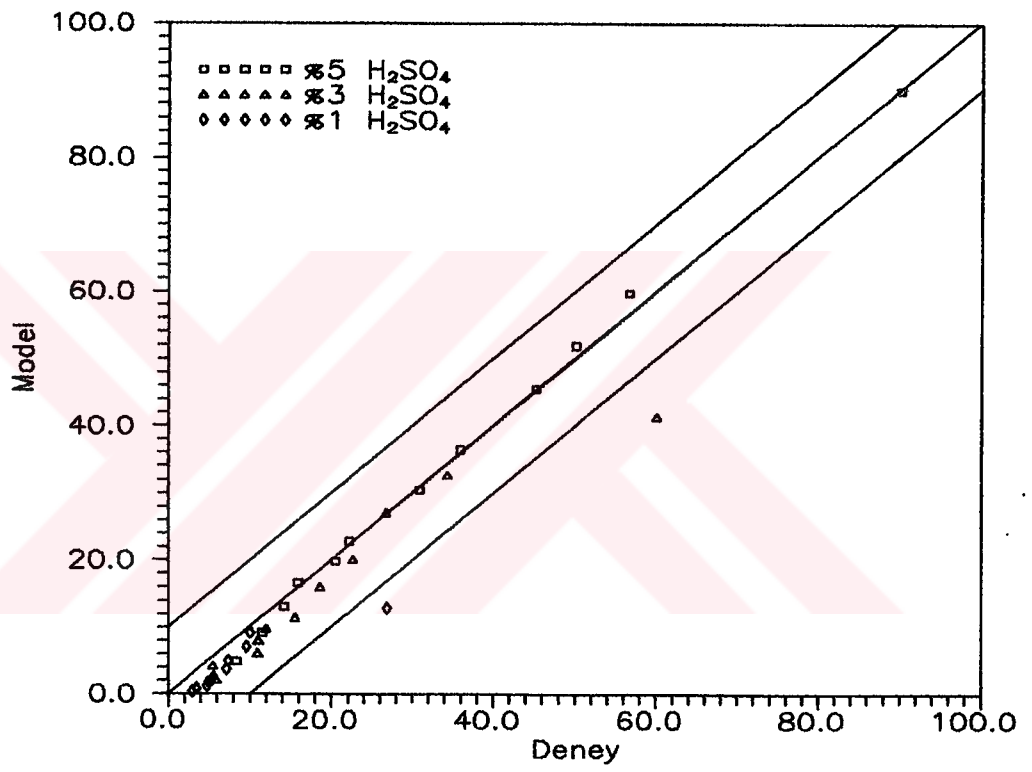
Sekil 6.10 Hidrolizat ile hazırlanan fermentasyon ortamına ait deney sonuçları

7. TARTIŞMA VE SONUÇ

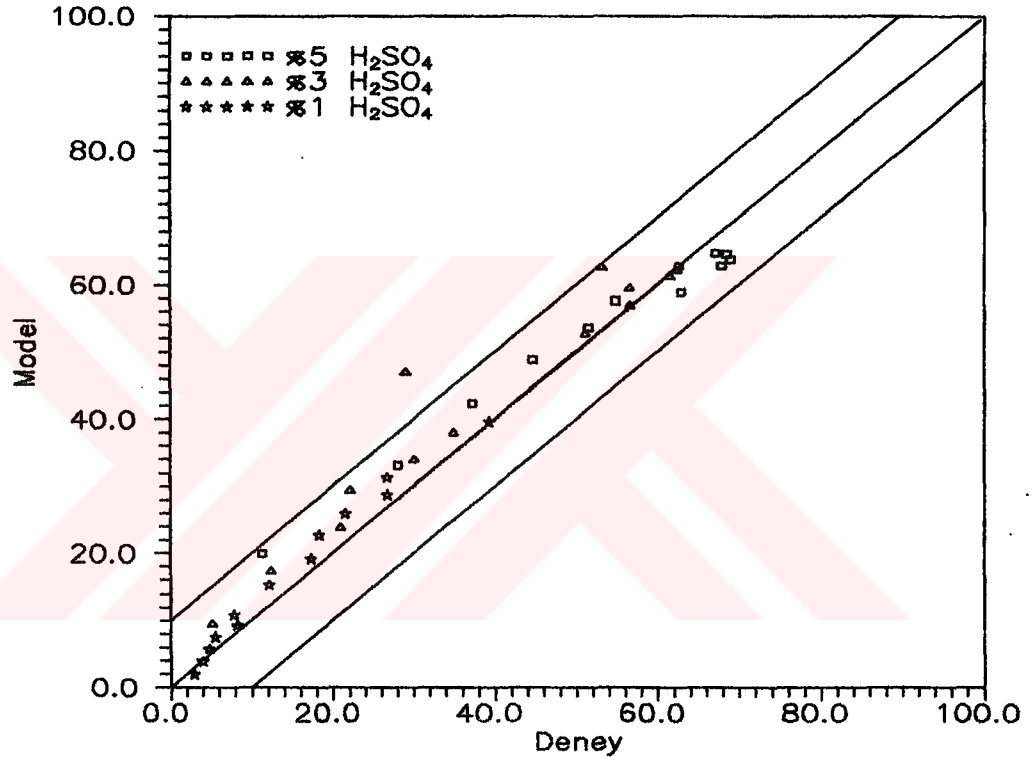
7.1 Ayçiçeği Tohum Kabuklarının Hidrolizi

Ayçiçeği tohum kabuklarının asidik hidrolizi ile ilgili bu çalışmada geliştirilen model, büyük ölçüde deneysel veriyi iyi bir şekilde tahmin etmektedir. Model ile deneysel verinin uyumunu göstermek için Şekil 7.1, 7.2 ve 7.3 'de görsel test grafikleri çizilmiştir. Her üç grafikte de görüleceği gibi, deneysel ve model sonuçları arasındaki fark, bir kaç istisna dışında, genelde deney ve model sonuçları arasındaki fark 10 mertebesi içinde kalmaktadır. 98°C daki deneysel ve model sonuçları diğer iki sıcaklıktaki verilerden daha iyi uyum içindedir. 120°C ve 130°C daki deneylerde ise, düşük asit konsantrasyonunda (%1 H₂SO₄) kinetik modelin, ksiloz konsantrasyonunu, daha düşük asitlere göre daha iyi tahmin ettiği söylenebilir. Yüksek sıcaklık ve konsantre asitlerde gözlenen farklılığın, bir çok nedeni olabilir. Bu şartlar altında yapılan deneysel ve analiz hatalarının daha büyük olduğu düşünülebilir. Ayrıca biyokütlenin yine aynı koşullardaki, nötürleştirme kapasitesinin tahminindeki yanılgılar da, bu sonucu doğuran etkenlerden olabilir.

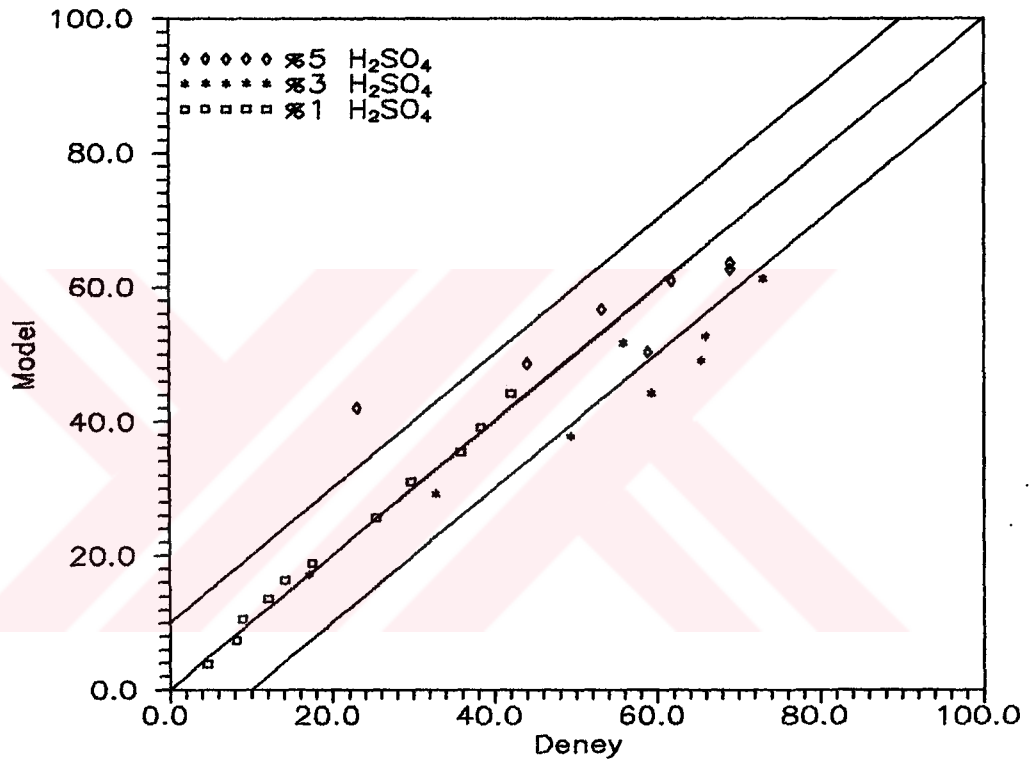
Bütün bunlara ilave olarak, bilgisayarda çözüm yapılırken, aynı anda üç ayrı sıcaklık ve üç ayrı asit konsantrasyonuna ait tüm veriyi bir kerede önerilen non-lineer kinetik modeli uyarlamaktan kaynaklanan güçlük-



Şekil 7.1 98°C da D-Ksiloz'a ait deney ve model sonuçlarının görsel olarak karşılaştırılması



Şekil 7.2 120°C da D-Ksiloz'a ait deney ve model sonuçlarının görsel olarak karşılaştırılması



Şekil 7.3 130°C da D-Ksiloz'a ait deney ve model sonuçlarının görsel olarak karşılaştırılması

ler de göz önüne alınmalıdır.

Tablo 7.1'de elde edilen model sonuçlarına göre hesaplanan hız sabiti değerleri verilmiştir. Görüldüğü gibi değişik koşullarda k_1 'in değeri her zaman için k_2 'den daha büyüktür. Bu da, hemiselülozun kolay hidrolizlenen kesrine ait hidroliz basamağının, ona paralel olan ikincisine nazaran, daha yüksek reaksiyon hızına sahip olduğu sonucunu doğurmaktadır. Bu durum da, daha yüksek hızla harcanan hemiselüloz kesri tükendiğinde, biyokütledeki ksilanın toplam harcama hızında yavaşlama olacağı sonucunu düşündürmektedir.

Tablo 7.1 Kinetik model sonuçlarına göre hesaplanan hız sabitleri

98°C			
	%1 H ₂ SO ₄	%3 H ₂ SO ₄	%5 H ₂ SO ₄
k_1 (dk ⁻¹)	3.3215x10 ¹⁰	1.8273x10 ¹¹	4.0453x10 ¹¹
k_2 (dk ⁻¹)	1.3862x10 ⁹	6.3657x10 ⁹	1.2954x10 ⁹
k_3 (dk ⁻¹)	2.4049x10 ¹³	5.6504x10 ¹³	8.4139x10 ¹³
120°C			
	%1 H ₂ SO ₄	%3 H ₂ SO ₄	%5 H ₂ SO ₄
k_1 (dk ⁻¹)	1.7738x10 ¹¹	9.75x10 ¹¹	2.1604x10 ¹²
k_2 (dk ⁻¹)	5.7463x10 ⁹	2.6389x10 ⁹	5.3803x10 ⁹
k_3 (dk ⁻¹)	2.7214x10 ¹⁴	6.3940x10 ¹⁴	9.52116x10 ¹⁴
130°C			
	%1 H ₂ SO ₄	%3 H ₂ SO ₄	%5 H ₂ SO ₄
k_1 (dk ⁻¹)	3.57x10 ¹¹	1.9672x10 ¹²	4.355x10 ¹²
k_2 (dk ⁻¹)	1.0418x10 ⁹	4.7845x10 ⁹	9.7369x10 ⁹
k_3 (dk ⁻¹)	7.5113x10 ¹⁴	1.7647x10 ¹⁵	2.6279x10 ¹⁵

Ama elimizde, hidroliz sırasında biyokütlerde kalan ksilan veya çözültide bulunan furfural verisi olmadığından bunu deneysel sonuçlarla karşılaştırma imkanı yoktur.

Bir önceki bölümde, Tablo 6.2'de verilen kinetik modele ait parametreler incelendiğinde, hemiselülozun hidrolizine ait paralel basamaklardan, birinci basamağın hem sıcaklığa, hem de asit derişimine diğerinden daha hassas olduğu görülmektedir. Literatürdeki bazı çalışmaların sonuçları da bu yöndedir (Tablo 7.1). Kinetik model içindeki, üç reaksiyon basamağı içinde ksilozun ayrışma basamağı, sıcaklık etkilerine en duyarlı ama asit konsantrasyonuna diğerlerinden daha az duyarlı basamak olarak gözükmektedir.

Bu çalışmada geliştirilen kinetik model, literatürde bulunan başka lignoselülozik maddelerle ilgili kinetik modellerle Tablo 7.2'de karşılaştırılmıştır. Modellerin ve biyokütlenin cinsinin farklı olması parametrelerin direk karşılaştırılmasına imkan vermemektedir. Örneğin, söz konusu modellerin bazılarında reaksiyon kinetiği birinci derece seri reaksiyon modeliyle açıklanmaya çalışılmıştır (Cahela ve arkadaşları, 1983; Bhandari ve arkadaşları, 1984).

Literatürde ayçiçeği tohum kabukları ile yapılan bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu çalışmanın sonuçlarını belki hemiselülozun iki farklı reaksiyonunu göz önüne alan model sonuçlarıyla karşılaştırmak daha anlamlı olacaktır (Beck ve Wong, 1982; Mehlberg ve Tsao, 1979; Maloney, Chapman ve Baker, 1985; Kim ve Lee, 1987).

Tablo 7.2 Lignoselülozik maddelerin asidik hidrolizi ile ilgili kinetik çalışmalar

Kaynak	Materyal Sıcaklık H2SO4 (% veya M)	Kinetik Model	Frekans faktörü [(dak) ⁻¹ (asit konsantrasyonu) ^{-N_a}]	Aktivasyon enerjisi (kal/ mol)
Kobayashi ve Sakai, (1956)	buna. 74-147°C 1-16%	(pentozan) _k → ¹ (pentozan) ₂ → ²	2.56 x 10 ¹⁵ C ¹⁻¹⁵ 5.75 x 10 ¹⁴ C ¹⁻¹⁵	3.09 x 10 ⁴
Beck ve Wang, (1982)	pamuk çekirdeği 125-165°C 0.5- 2%	(pentozan) _k → ¹ (pentozan) ₂ → ²	3.55 x 10 ¹⁰ C ¹⁻²⁰ 10.85C ⁰⁻³⁶	1.833x10 ⁴ 0.562x10 ⁴
Cahela Lee ve Chambers, (1983)	kızıl meşe 140-160°C 0.1-0.2%	ksilan ¹ → ksiloz ²	4.0 x 10 ¹⁰ C ⁰⁻⁸ 7.3 x 10 ¹⁰ C ⁰⁻⁴⁸	1.562x10 ⁴ 2.533x10 ⁴
Mehlberg ve Tsao (1979)	mısır koçanı 50-90°C 0.2-3.2 M	(ksilan) _k → ¹ (ksilan) ₂ → ² oligomer ³ → ksiloz ⁴	1.72 x 10 ²⁵ 7.86 x 10 ¹⁷ 4.31 x 10 ¹⁷ 1.36 x 10 ¹²	4.2 x 10 ⁴ 3.4 x 10 ⁴ 3.1 x 10 ⁴ 2.6 x 10 ⁴
Bhandari MacDonald & Bakhshi (1984)	mısır sapı izotermal olmayan 0.49-1.47%	ksilan ¹ → ksiloz ²	[7.64-3.68/C]x10 ²⁰ [4.6-1.95/C]x10 ¹⁴	4.1 x 10 ⁴ 3.2 x 10 ⁴
Maloney Chapman & Baker, (1985)	huş ağacı 100-170°C 0.04-0.18mol	(ksilan) _k → ¹ (ksilan) ₂ → ²	2.267 x 10 ¹⁴ C ^h 1.163 x 10 ¹⁷ C ^h	3.026x10 ⁴ 3.74 x 10 ⁴
Kim ve Lee (1987)	kızıl meşe 120-140°C 1.0-5.0%	ksilan _k → ¹ ksiloz ³ ksilan ₂ → ²	1.04 x 10 ¹⁴ C ^{h1-14} 6.0 x 10 ¹² C ^{h1-14} 1.77 x 10 ¹¹ C ^{h10}	2.87 x 10 ⁴ 2.82 x 10 ⁴ 2.69 x 10 ⁴
Dunlop ve Peters	saf ksiloz	ksiloz → ¹	2.96 C _{H+} x 10 ¹⁵	3.20 x 10 ⁴
Bu çalışma	ayçiçeği tohum kabuğu 98-120-130°C %1-3-5	ksilan _k → ¹ ksiloz ³ ksilan ₂ → ²	4.1606x10 ²⁴ Ac ¹⁻⁵⁵ 1.4378x10 ²⁰ Ac ¹⁻³⁹ 5.6907x10 ³² Ac ⁰⁻⁷⁷	2.206x 10 ⁴ 18726x 10 ⁴ 31950x 10 ⁴

Bu çalışmada, iki paralel hidroliz basamağına ait aktivasyon enerjisi değerleri, Beck ve Wang (1982) dışında yukarıda sayılan araştırmacıların buldukları aktivasyon enerjilerinden daha küçüktür. Buna karşılık ksilozun ayrışma basamağı için elde edilen aktivasyon enerjisi değeri Dunlop ve Peters (1959), Bhandari ve arkadaşları (1984) ile oldukça uyumludur. Yine yukarıda değinilen çalışmalarda, hız sabitlerinin asit konsantrasyonuna bağımlılığı çok farklı şekillerde ifade edildiğinden, bu konuda bir karşılaştırma yapmak anlamlı değildir.

Bölüm 6'da verilen şekil 6.4, 6.5, 6.6 incelendiğinde, 130°C'da ve %5 H₂SO₄ ile yapılan hidroliz deneyinde, maksimum teorik ksiloz verimine (70.4 g/lt) büyük ölçüde yaklaşıldığı ama diğer koşullarda verimin daha düşük kaldığı görülecektir.

Bunun yanında, hidroliz reaksiyonu sırasında maksimum D-ksiloz konsantrasyonuna erişme süresi sıcaklığın ve asit konsantrasyonunun artışı ile kısalırken, yine aynı koşullarda, bu noktadan sonra furfurala ayrışma çok daha hızla gerçekleşmekte ve ksiloz konsantrasyonu büyük hızla azalmaktadır. Şekil 6.4, 6.5, 6.6.

Hidrolizat ile yapılacak fermentasyon çalışmasına başlamadan önce hidrolizatın hazırlanmasının çok önemli olduğu ortaya çıkmıştır. Kinetik modele göre hesaplanan furfural konsantrasyonları Ek 13'de sunulmuştur. Bu sonuçlardan yararlanılarak, D-ksiloz derişiminin mümkün olduğunca yüksek, diğer yandan furfural derişiminin 1g/lt'den düşük olduğu şartlar tespit edilmiştir. Furfuralın 1g/lt'ye kadar zehirleyici etkisinin olmadığı

literatürde verilmiştir (Roberto ve arkadaşları, 1990).

7.2 D-ksiloz ve Hidrolizattan Ksilitol Eldesi

Literatürde, fermentasyon sırasında hidrolizat içinde bulunabilecek, furfural, asetat ve ligninden kaynaklanan fenolik bileşiklerin mikroorganizmalar için zehirli olabileceği belirtilmiştir. Bu zehirleri, mümkün olduğunca ortamdaki uzaklaştırabilmek için bazı önlemlerin alınması gereklidir (Lee ve McCaskey, 1983 ; Frazer ve McCaskey, 1989).

Hidrolizat, yukarıdaki bölümde anlatıldığı şekilde model sonuçlarına göre furfural konsantrasyonunun 1g/lt' den az olması beklenen, 98°C'de, %5 H₂SO₄ ile 3 saatlik hidroliz sonucunda elde edilmiştir.

Buna ilave olarak hidrolizatın nötürleşmesi için literatürde tavsiye edilen yöntem uygulanmıştır. Bu amaçla PH önce Ca(OH)₂ ile 10'a kadar artırılmış sonra asitle 6'ya düşürülmüştür. Bu işlem sırasında hidrolizat içindeki, fenolik bileşiklerin ve asetatın çöktürme yoluyla uzaklaştırılması mümkün olduğunca sağlanmıştır.

Gerek saf D-ksiloz, gerek hidrolizatla yapılan çalışma sonucunda başlangıç D-ksiloz konsantrasyonunun, elde edilen maksimum ksilitol miktarını pek etkilemediği gözlenmiştir.

Ayrıca, bu durum *Candida Tropicalis* Kuen 1022 mikroorganizmasının D-ksilozun ksilitol üretiminde, yetersiz kaldığı sonucunu da düşündürmektedir. Ankara Üniversitesi mikrobiyoloji kültür koleksiyonundan temin edilen *Candida Guillermondii*'de yine ksilitol üretiminde etkili

olmadığı görülmüştür.

Ksilitol üretiminin düşük olmasının bir başka nedeni de, başlangıçtaki biyokütle miktarının az olmasından kaynaklanabilir. Bu başlangıç değerinin saptanmasında , literatürdeki çalışmalar göz önüne alınmış olmasına rağmen kullandığımız mikroorganizmanın, D-ksilozu fermente etme yeteneğinin kısıtlı olması nedeniyle, bu başlangıç değeri, yetersiz kalmış olabilir.

7.3 Sonuç

Bu çalışmada ayçiçeği tohum kabuklarının asidik hidroliz için, biyokütledeki iki ksilan fraksiyonunun birinci derece iki paralel reaksiyonla ksiloza hidrolizini, bunu takiben ksilozun furfural ve diğer ayrışma ürünlerine dönüşümünü içeren bir kinetik model geliştirilmiştir. Kinetik modelde yer alan hız parametreleri, sıcaklık ve asit konsantrasyonu cinsinden ifade edilmişlerdir. Model, çalışılan asit ve sıcaklık koşullarında, deney sonuçları ile tatmin edici bir uyum içindedir.

Çalışmanın ikinci kısmında Candida Tropicalis Kuen 1022 mayasının saf D-ksiloz ve hidrolizattan fermentasyonla ksilitol elde edilmesindeki kullanılabilirliği araştırılmıştır. Düşük ksilitol verimini artırmak için bu konuda daha çok araştırma yapılması gerekmektedir.

8. ÖNERİLER

— Hidroliz deneyleri dolgulu kolon şeklinde bir düzende gerçekleştirilebilir. Bu şekilde, oluşan D-ksiloz'un furfurala dönüşmeden reaktörü terk etmesi sağlanabilir.

— Ksilitol üretimi için fermentasyon ortamına ilave edilen başlangıç biyokütle miktarı daha yüksek alınabilir.

— Ksilitol üretim verimini artırmak için, C.T. Kuen 1022 mayası UV. ışınına tutularak mutasyona uğratılıp, genetik yapısı değiştirilerek fermentasyon için daha uygun hale getirilebilir ya da tümüyle yeni tür bir mikroorganizma ile çalışma yapılabilir.

— Çalışma bir fermentör sisteminde gerçekleştirilerek havalandırma hızı kontrol edilebilir. Böylece havalandırma hızının ksilitol verimine etkisi araştırılabilir.

— Bu çalışmada ksilitol analizi için, çok pahalı olan enzimatik yöntem kullanılmıştır. Bu durum, çalışmanın maliyetini büyük ölçüde artırdığından, yapılan deney sayısına büyük ölçüde sınırlama getirmektedir. Bunun yerine, şeker analizleri ve ksilitol analizi, literatürde de daha yaygın şekilde kullanıldığı gibi HPLC sıvı kromatografisi cihazında, daha ekonomik bir şekilde gerçekleştirilebilir.

KAYNAKLAR

- Aspinall, G.O., "Polysaccharides", Pergamon Press, Headington Hill Hall. Oxford 431-438. (1970)
- Bassler, K.H., Method of Enzymatic Analysis, 2nd Ed, III, 1381 - 1384, In Bergmer, H.U. (ed), Academic Press, New York (1974)
- Beck, S.R. and Wang, T., "Kinetic Analysis of Hemicellulose in Cotton Gin Residues", presented at AIChE National Meeting Orlando, FL, February, (1982)
- Bhandari, N., MacDonald, D.G. and Bakshshi, N.N., "Kinetic Studies of Corn Stover Saccharification Using Sulphuric Acid", Biotechnol.Bioeng. 26,320 (1984)
- Cahela, D.R., Lee, Y.Y. and Chambers, R.D., "Modeling of Percolation Process in Hemicellulose Hydrolysis", Biotechnol.Bioeng., 25, 3 (1983)
- Chen, L.F. and Gong, C.S. and Tsao, G.T., "Quantitative Production of Xylitol From D-Xylose by a High Xylitol Producing Yeast", Biotech. Lett., 3, 3, 125-130, (1981)
- Chen, L.F. and Gong, C.S., " Fermentation of Sugarcane Baggase Hemicellulose Hydrolysate to Xylitol by a Hydrolysate Acclimatized Yeast", J. of Food Sci., 50, 2226 (1985)
- Cowling, E.B. and Kirk, T.K., "Properties of Cellulose and Lignocellulosic Materials as Substrates for Enzymatic Conversion Processes", Biotechnol.Bioeng. Symp. 6: 95-123 (1976)

- Dahiya, J.S., " Xylitol Production by *Petromyces Albertensis* Grow on Medium Containing D-Xylose",
Can J. Microbiol, 37, 14-18, (1991)
- Emodi, A., "Xylitol Its Properties & Food Applications",
Food Technol., 32, 20-32, (1978)
- Fogler, H.S., " Elements of Chemical Reaction
Engineering", 2nd Ed., Prentice Hall, Inc., New
Jersey, 675, (1992)
- Frazer, F.R., McCaskey, T.A., "Wood Hydrolyzate
Treatments for Improved Fermentation of Wood Sugars
to 2,3-Butanediol" Biomass, 18, 31-42 (1989)
- Furlan, S.A., Boulloud P., Strehaiano P., " Study of
Xylitol Formation From Xylose Under Oxygen Limiting
Conditions", Biotech.Lett., 13, 3, 203-206,
(1991)
- Himmelblau, D.M., "Process Analysis by Statistical
Methods", Wiley, New York, 194, (1970)
- Horitsu, H., Yahashi, Y., Takamizawo, K., Kawai, K.,
Suzuki, T. and Watanabe, N., "Production of Xylitol
From D-xylose by *Candida Tropicalis*: Optimization
of Production Rate", Biotech. Bioeng., 40,
1085-1091, (1992)
- Kim, S.B. and Lee, Y.Y., "Kinetics of Hardwood
Hemicellulose Hydrolysis", Biotechnol. Bioeng.
Symp., 17, 71 (1987)
- Kitpreechavanich, V., Hayashi, M., Nishio, N. and Nagai
S., "Conversion of D-Xylose into Xylitol by Xylose
Reductase from *Candida Pelliculosa* Coupled with the
Oxidoreductase System of Methanogen Strain", HU.,

- Biotech. Lett., 6, 651-656, (1984)
- Kobayashi, T. and Sakai, Y., Bull. Agric. Chem. Soc. Jpn., 20(I), 1 (1956)
- Koch, P. Erg Puss 25 , 657 (1886)
- Lee, Y.Y., Lin, C.M., Johnson, T. and Chambers, R.P. "Selective Hydrolysis of Hardwood Hemicellulose Hydrolysis", Biotechnol.Bioeng. and Symp., 8, 75, (1978)
- Lee, Y.Y., McCaskey, T.A., "Hemicellulose Hydrolysis and Fermentation of Resulting Pentoses to Ethanol" TAPPI J., 66, 102-7 (1983)
- Leonard, R.H. and Hajny, G.J., "Fermentation of Wood Sugars to Ethyl Alcohol" Ind. Eng. Chem. 37, 390, (1945)
- Maloney, M.T., Chapman, T.W. and Baker, A.J., "Dilute Acid Hydrolysis of Paper Birch: Kinetics Studies of Xylan and Acetyl Group Hydrolysis", Biotech.Bioeng., 27, 355, (1985)
- Mehlberg, R.L., Tsao G.T., "Low Liquid Hemicellulose Hydrolysis of Hydrochloric Acid" 178th ACS National Meeting, Washington DC, September, (1979)
- Meleje, A. and Hömlöiren, L., Process for Making Xylitol U.S. Patent 4008285, (1977)
- Meyrial, V., Delgeners, T.P., Moletta, R. and Navarro, J.M., "Xylitol Production From of D-Xylose by Candida Guillermodii : Fermentation Behaviour" Biotech. Lett., 13, 4, 281-286, (1991)
- Miller, G.L., "Use of Dinitrosalicylic Acid Reagent for Determination of Reducing Sugar", Analytical

Chem., 31. 426-430, (1959)

Mutlu, S.F., "Ayciçeği Bitkisinin Sap ve Tohum Kabuklarının Enzimatik Yöntemlerle Şekere Dönüşümü", Doktora Tezi, A.Ü. Kimya Bölümü, (1990)

Nikitin N.I., "The Chemistry of Cellulose and Wood" Isreal Program for Scientific Translations, Jerusalem, Israel, (1960)

Nishio, N., Suyawo, K., Hayase, N., and Nagai, S., "Conversion of D-Xylose in Xylitol by Immobilized Cells *Candida Pelliculosa* and *Methanobacterium* sp. HU" J. Ferment. and Bioeng., 67, 5, 356-360, (1989)

Parisi, F., "Advances in Lignocellulosics Hydrolysis and in the Utilization of the Hydrolyzates", Advances in Biochemical Engineering, Biotechnology 38, (M.E) A. Riechter, Springer. Verleg Berlin Heidelberg, (1989)

Roberto, I.C., Felipe, M.G.A., Lasis, L.S., "Utilization of Sugar Cane Bagesse Hemicellulosic Hydrolyzate by *Candida Guillermondii* for Xylitol Production", Bioresource Tech., 36, 271-275, (1991)

Roth, I., "Fruits of Angiosperms", Encyc. Plant. Anat. 10, 258-290, Gebruder Borntraeg Berlin and Stuttgart (1977)

Schragg, A.H., "Bioreactors in Biotechnology", Ellis Horwood Lim., West Sussex , 45, (1991)

TAPPI Standart, Pentosansin wood and Pulp TAPPI 223, 03.78 (1978)

Veeraraghavan, R.P., Chambers, Myles, M., and Lee, X.X., "Kinetic Modeling and Reactor Development for

Hemicellulose Hydrolysis", presented at AIChE.
National Meeting , Orlando, Florida, Feb., (1982)

Vongsuvanlert, V., Toni, Y., " Xylitol Production by a
Methanol Yeast *Candida Boidinii* no 2201" J.Ferment.
and Bioeng., 67, 1, 35-39, (1989)

Whistler, R.L., Smart, C.L., "Polysaccharide Chemistry",
Academic Press Inc. Publishers, Newyork, 114,(1953)

Wisniak, J., Herskowitz, J., Leibowitz, R., and Stein,
S., "Hydrogenation of Xylose to Xylitol",
Ind. Eng. Chem. Prod. Res. Develop, 13, 75, (1974)

Yoshitake, J., Ohiwa, H., and Shimamura, M., "Production
of Polyalcohol by *Corynebacterium* sp." Part I,
production of pentitol from aldopentose, Agric.
Biol. Chem. 35, 905-911, (1971)

Yoshitake, J., Shimamure, M., Ishizaki H., and Irie, Y.,
"Xylitol Production by *Enterobactor Liquefacienc*",
Agric. Biol. Chem., 40, 1493-1503, (1976)

EK-1

Lignoselülozik Maddelerde Pentozan Tayini

Analiz Yöntemi

Pentozan Tayini

Belirteç ve Maddeler

1. Hidroklorik asit, 3.85+0.05N (%13.5) 315ml derişik HCl (sp. gr. 1.18-1.19) damıtık su ile 1000ml'ye tamamlanır.
2. Orsinal belirteci, 0.4g orsinal $\text{CHCl}_3(\text{OH})_2$ ve 0.5g $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 11N HCl çözülür. (91.5ml derişik HCl 1000ml'ye seyreltilir)
3. Sodyum klorür, NaCl kristalleri
4. Etanol %95 $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ aldehitsiz. Etanol metanolle denature edilmiş olmalıdır.
5. Ksiloz $\text{C}_5\text{H}_{10}\text{O}_5$ saf.
6. Kırılmış buz.

Örnek

0.1mg duyarlılıkta tartılır. 0.1-0.3g arasında örnek tartılır.

Deneyin Yapılışı

1. Örnek kaynama balonuna konulur ve üzerine 20g NaCl, 100ml 3.85N HCl ve birkaç kaynama taşı eklenir. Balon damıtma düzenegine bağlanır ve asit seviyesi işaretlenir. Ayırma hunisine 250ml 3.85N HCl eklenir.
2. Dakikada 2.5ml distilat olacak şekilde ısı uygulanır. Distilat buz banyosuna batırılmış 250ml'lik balon jöjeye toplanır.

3. Damıtma sırasında kaynama balonundaki 100ml seviyesi korunur, bu nedenle damla damla asit eklenir. Damıtma 90+5dk'da 225+10ml distilat toplanacak şekilde devam eder.
4. Distilatın sıcaklığı 20°C'ye getirilir. 3.85N HCl ile 250ml'ye tamamlanır. 5ml distilat 50ml'lik balon jojeye aktarılır. 25ml orsinal belirteci eklenir, karıştırılır, su banyosunda 60+5dk 25+1°C'de bekletilir.
5. 60dk sonunda 50ml çizgisine kadar etanol eklenir, karıştırılır ve su banyosunda 60+5dk bekletilir ve 630nm'de absorbanı ölçülür (Tappi, 1978).

Bilinen derişimdeki ksiloz çözeltisi (10-100mg arası) ile yukarıdaki deney tekrar edilerek absorbtivite değeri bulunur. Referans olarak 5 ml 3.85N HCl çözeltisine de aynı işlemler uygulanır (Tappi, 1978).

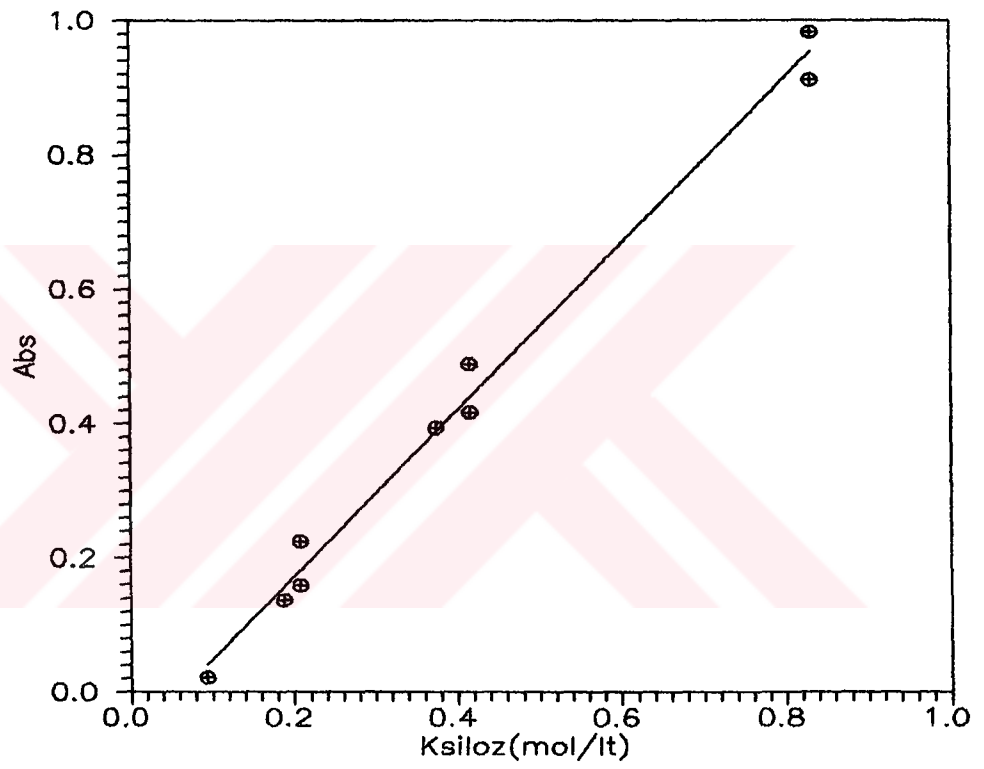
EK-2

**DNS Yöntemiyle İndirgen Şeker Analizi
ve
Kalibrasyon Eğrisi**

DNS Yöntemi ile İndirgen Şeker Tayini

%1 3.5-dinitrosalisilik asit, %0.2 fenol, %0.05 sodyum sülfid, %20 Rochelle tuzu içerecek şekilde tartılan yukarıdaki maddeler %1 NaOH çözeltisinde çözüldüler. Hazırlanan bu çözeltiye DNS belirteci adı verilmiştir. DNS belirteci içerdiği sülfidin atmosferik oksijen tarafından oksitlenmesi ile bozunur. Tekrar sülfid eklemek gerekir. Bunu engellemek için, DNS belirteci sülfidsiz hazırlanıp, kullanılacağı zaman, gereken ölçüde sülfid eklenir.

2mg'dan fazla indirgen şeker içermeyen 1ml'lik çözelti 20ml'lik test tüpüne aktarılarak, üzerine 3ml DNS belirteci eklenir. Kaynayan su banyosunda 5dk tutulan tüp üzerine 10ml distile su eklenir. Absorbanlar 550nm'de çift ışın yollu görünür bölge spektrofotometrede ölçülmüştür. Standart olarak ksiloz kullanılmıştır (Miller, 1959). Kalibrasyon eğrisi Şekil Ek-2.1'de verilmiştir.



Şekil Ek-2.1 indirgen şeker tayini için kalibrasyon eğrisi

EK-3

Glikoz Tayini Analiz Yöntemi

Glikoz Tayini

Hidroliz sırasında örneklerden 0.5ml alınır. Örnekler üzerine 5ml glikoz enzimi ilave edilir. Glikoz enzimi Sigma'nın glikoz tayini setinden hazırlanmıştır. Glikoz enzimi, enzim solüsyonu ve renk belirteç solüsyonunun karışımından elde edilmiştir. Bu elde edilen enzim 2-8°C'da 1 ay özelliğini kaybetmeden durabilmektedir. Enzim solüsyonu sette bulunan bir kapsülün distile su ile çözülmesiyle hazırlanmıştır. Üzerine 1.6ml renk belirteç solüsyonu ilave edilmiştir. Örnekler üzerine glikoz enzimi ilave edildikten sonra karıştırılıp, 38°C'ye ayarlanmış inkübatöre konulur. Yarım saat sonra inkübatörden çıkarılan örnekler 30dk içinde UV-spektrofotometrede 450nm'de köre karşı okuma yapılır. Glikoz miktarı aşağıdaki ifade ile hesaplanır.

$$\text{Glikoz (mg/dl)} = \frac{\text{Atest} * \text{seyrelme}}{\text{Astandart} * 20} * 100$$



EK-4

98°C, 120°C, 130°C için Glikoz Analiz Sonuçları

Tablo Ek-4.1 98°C asidik hidrolizde glikoz değerleri

t (dk)	%1 H ₂ SO ₄ Glikoz (g/l)	%3 H ₂ SO ₄ Glikoz (g/l)	%5 H ₂ SO ₄ Glikoz (g/l)
60	0.35989	0.1799	0.5141
120	0.154241	0.514	0.745
180	0.33400	0.6426	0.745

Tablo Ek-4.2 120°C asidik hidrolizde glikoz değerleri

t (dk)	%1 H ₂ SO ₄ Glikoz (g/l)	%3 H ₂ SO ₄ Glikoz (g/l)	%5 H ₂ SO ₄ Glikoz (g/l)
60	0.7969	0.9511	1.31
120	0.7712	0.82262	2.236
180	0.3856	0.874	2.776

Tablo Ek-4.3 130°C asidik hidrolizde glikoz değerleri

t (dk)	%1 H ₂ SO ₄ Glikoz (g/l)	%3 H ₂ SO ₄ Glikoz (g/l)	%5 H ₂ SO ₄ Glikoz (g/l)
60	1.3367	1.619	3.41902
120	0.7712	2.185	4.8329
180	1.02827	4.2416	14.524

EK-5

98°C, 120°C, 130°C için Furfurala Ait Model ve Deney
Sonuçları

Tablo Ek-5.1 98°C için furfural model ve deney sonuçları

	MODEL F (mol/l)	DENEY F (mol/l)	MODEL F (mol/l)	DENEY F (mol/l)
t (dak.)	%1	%1	%2	%2
30	0.00026	0.00007	0.00045	0.00032
60	0.00052	0.00035	0.00089	0.00083
90	0.00078	0.00050	0.00134	0.00118
120	0.00105	0.00077	0.00179	0.00182

	MODEL F (mol/l)	DENEY F (mol/l)	MODEL F (mol/l)	DENEY F (mol/l)
t (dak.)	%3	%3	%5	%5
30	0.00061	0.00068	0.00095	0.00128
60	0.00123	0.00163	0.00191	0.00278
90	0.00184	0.00236	0.00286	0.00435
120	0.00245	0.00291	0.00380	0.00539

Tablo Ek-5.2 120°C için furfural model ve deney sonuçları

	MODEL F (mol/l)	DENEY F (mol/l)	MODEL F (mol/l)	DENEY F (mol/l)
t (dak.)	%1	%1	%2	%2
30	0.00295	0.00182	0.00487	0.0064
60	0.00587	0.00475	0.00966	0.0121
90	0.00877	0.00616	0.01438	0.0167
120			0.01904	0.0238

	MODEL F (mol/l)	DENEY F (mol/l)
t (dak.)	%5	%5
30	0.01064	0.01354
60	0.02095	0.03156
90	0.03090	0.04296
120	0.04055	0.05775

Tablo Ek-5.3 130° için furfural model ve deney sonuçları

	MODEL F (mol/l)	DENEY F (mol/l)	MODEL F (mol/l)	DENEY F (mol/l)
t (dak.)	%1	%1	%2	%2
30	0.00808	0.00588	0.01326	0.01497
60	0.01596	0.01307	0.02598	0.02978
90	0.02364	0.02288	0.03819	0.04063
120	0.03114	0.02589	0.04991	0.04958

	MODEL F (mol/l)	DENEY F (mol/l)	MODEL F (mol/l)	DENEY F (mol/l)
t (dak.)	%5	%5	%5.5	%5.5
30	0.02854	0.03040	0.03065	0.03583
60	0.05462	0.05708	0.05846	0.06273
90	0.07844	0.0806	0.08368	0.08511
120	0.1002	0.0903	0.10657	0.08898

EK-6

98°C, 120°C, 130°C için Asidik Hidroliz Deney ve Model
Sonuçları

Tablo Ek-6.1 98°C'de hidroliz için deney ve model sonuçları

	DENEY D-ksiloz (g/lt)	MODEL D-ksiloz (g/lt)	DENEY D-ksiloz (g/lt)	MODEL D-ksiloz (g/lt)	DENEY D-ksiloz (g/lt)	MODEL D-ksiloz (g/lt)
t(dak)	%5 H ₂ SO ₄	%5 H ₂ SO ₄	%3 H ₂ SO ₄	%3 H ₂ SO ₄	%1 H ₂ SO ₄	%1 H ₂ SO ₄
5	8.367	4.8318	5.8605	2.1489	3.0060	0.4319
10	11.514	9.1668	7.5135	4.1904	3.5346	0.8589
15	14.182	13.078	10.928	6.1323	4.8017	1.2809
20	15.900	16.625	11.035	7.9818	4.9547	1.6980
25	20.511	19.859	11.994	9.7455	5.4089	2.1103
30	22.181	22.818	15.554	11.429	5.5412	2.5178
45	30.928	30.381	18.608	16.055	7.1772	3.7185
60	35.995	36.439	22.668	20.136	7.3625	4.8758
90	45.327	45.533	26.768	27.031	9.5799	7.0782
120	50.175	51.935	34.394	32.661	10.029	9.1465
180	56.730	59.858	60.140	41.355	26.919	12.923

Tablo Ek-6.2 120°C'de hidroliz için deney ve model sonuçları

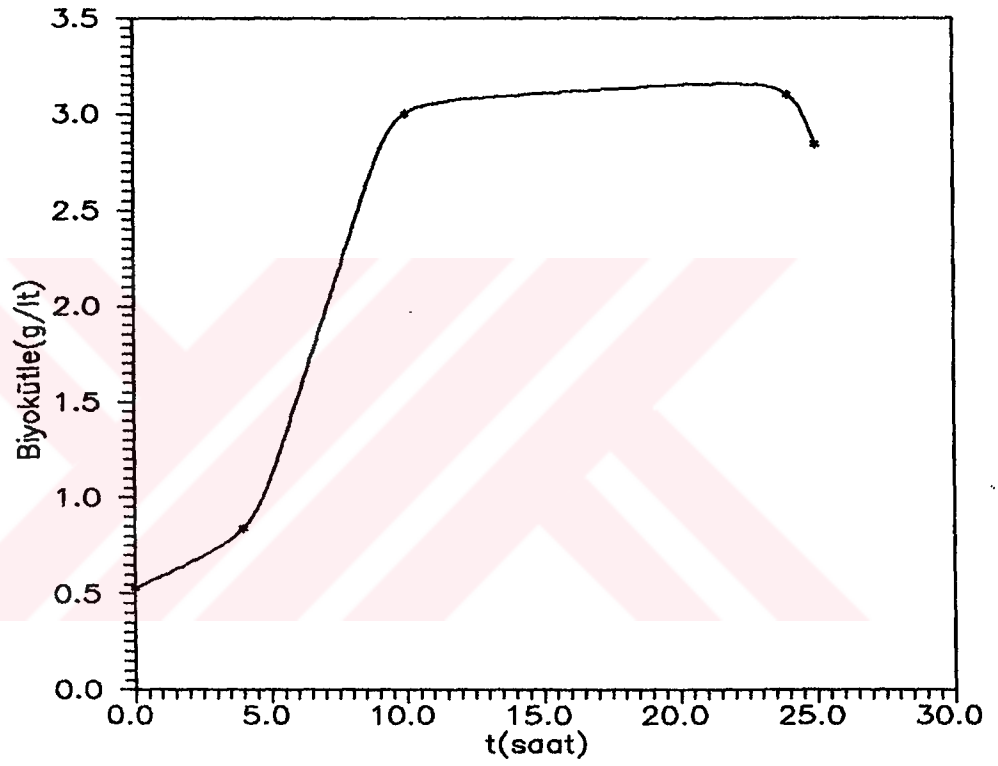
	DENEY D-ksiloz (g/lt)	MODEL D-ksiloz (g/lt)	DENEY D-ksiloz (g/lt)	MODEL D-ksiloz (g/lt)	DENEY D-ksiloz (g/lt)	MODEL D-ksiloz (g/lt)
t(dak)	%5 H ₂ SO ₄	%5 H ₂ SO ₄	%3 H ₂ SO ₄	%3 H ₂ SO ₄	%1 H ₂ SO ₄	%1 H ₂ SO ₄
5	11.400	19.950	5.2140	9.6062	2.9157	2.0283
10	28.140	33.137	12.440	17.459	3.9675	3.9626
15	37.260	42.291	20.985	23.976	4.8312	5.8090
20	44.655	48.842	22.147	29.453	5.5700	7.5732
25	51.529	53.609	30.110	34.106	8.2525	9.2602
30	54.899	57.609	34.962	38.093	7.8810	10.875
45	62.696	62.818	29.106	47.110	12.141	15.328
60	67.135	64.738	51.147	52.769	17.346	19.272
75	71.400	-	56.639	57.065	18.346	22.787
90	68.517	64.520	56.639	59.685	21.555	25.940
105	69.000	63.731	61.544	61.351	26.780	28.782
120	67.890	62.811	62.355	62.342	26.843	31.357
180	63.000	58.913	53.208	62.730	39.312	39.578

Tablo Ek-6.3 130°C'de hidroliz için deney ve model sonuçları

	DENEY D-ksiloz (g/lt)	MODEL D-ksiloz (g/lt)	DENEY D-ksiloz (g/lt)	MODEL D-ksiloz (g/lt)	DENEY D-ksiloz (g/lt)	MODEL D-ksiloz (g/lt)
t(dak)	%5 H ₂ SO ₄	%5 H ₂ SO ₄	%3 H ₂ SO ₄	%3 H ₂ SO ₄	%1 H ₂ SO ₄	%1 H ₂ SO ₄
5	-	-	17.178	17.180	4.6890	3.8454
10	44.075	48.653	32.899	29.183	8.2173	7.3737
15	53.198	56.753	49.407	37.855	9.0111	10.619
20	61.806	60.904	59.329	44.264	12.126	13.613
25	-	-	65.478	49.060	14.236	16.379
30	68.965	63.593	65.974	52.664	17.558	18.942
45	68.985	62.595	-	-	25.416	25.596
60	-	-	-	-	29.794	31.002
75	-	-	73.088	61.198	35.912	35.446
90	-	-	-	-	38.385	39.131
120	58.901	50.303	-	-	42.082	44.131
180	23.105	41.982	55.928	51.642	-	-

EK-7

Saf D-ksiloz ile Hazırlanan Büyüme Ortamında
Candida Tropicalis'e Ait Büyüme Eğrisi



Şekil Ek-7.1 Saf D-ksiloz ile hazırlanan büyüme ortamında *Candida Tropicalis*'e ait büyüme eğrisi

EK-8

**Saf Ksiloz ile Yapılan Fermentasyon için
Ksiloz, Ksilitol ve Biyokütle Sonuçları**

Tablo Ek-8.1 50 g/lt ksiloz için fermentasyon sonuçları

t (h)	Biyokütle (g/lt)	Ksiloz (g/lt)	Ksilitol (g/lt)
0	0.104456	50	-
6	0.13646	47.6694	-
24	5.48	31.83	4.717
48	6.5468	13	2.4664
72	5.2647	7.9	0.72848
96	6.6596	7.75	0.72848

Tablo Ek-8.2 70 g/lt ksiloz için fermentasyon sonuçları

t (h)	Biyokütle (g/lt)	Ksiloz (g/lt)	Ksilitol (g/lt)
0	0.094	70	-
6	0.1877	56.558	0.728
24	5.213	43.46	4.717
48	6.7827	32.07	2.4664
72	6.5673	12.59	3.5145
96	7.0186	7.589	0.728

Tablo Ek-8.3 100 g/lt ksiloz için fermentasyon sonuçları

t (h)	Biyokütle (g/lt)	Ksiloz (g/lt)	Ksilitol (g/lt)
0	0.8544	100	-
6	2.0031	-	0.72848
24	5.7416	87.50	-
48	7.4340	36.84	4.717
72	7.79299	11.467	-
96	7.4545	11.144	-

EK-9

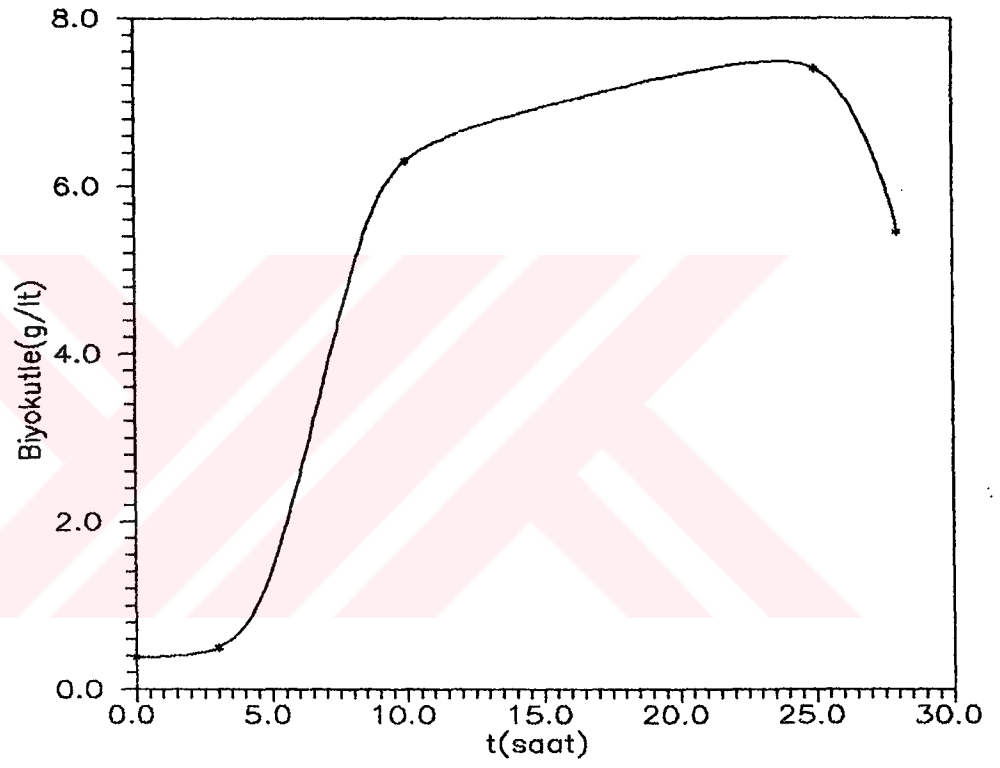
Hidrolizat ile Gerçekleştirilen Fermentasyon Sonuçları

Tablo Ek-9.1 Hidrolizat için fermentasyon sonuçları

t (h)	Biyokütle (g/lt)	Ksiloz (g/lt)	Ksilitol (g/lt)
0	1.090	66.01	-
3.5	1.818	42.57	1.5449
21.5	7.3468	24.15	4.717
45.5	7.864	15.10	3.5145
69.5	7.9116	13.24	-
96	8.059	10.41	1.54497

EK-10

Candida Tropicalis'in Hidrolizatla Hazırlanan Ortamda
Büyüme Eğrisi



Şekil Ek-10.1 *Candida Tropicalis* Kuen 1022'nin hidrolizat içeren ortamda büyüme eğrisi

T.C. SÜKKÜTÖR M KURUMU
DOĞUMANTAS EN MERKEZİ

EK-11

Ksilitol Analiz Yöntemi

Ksilitol Analiz Yöntemi

Kullanılan solüsyonlar

1. Tris Buffer (0.3M ; PH=8.1)
2. Nikodiamid-adenin di nükleotit (Ca 13mM β -NAD)
3. Sorbitoldehidrojenaz SDH (Ca 175 U/ml)
4. Standart ksilitol çözeltisi (0.1 % W/V)

Analiz Sistemi

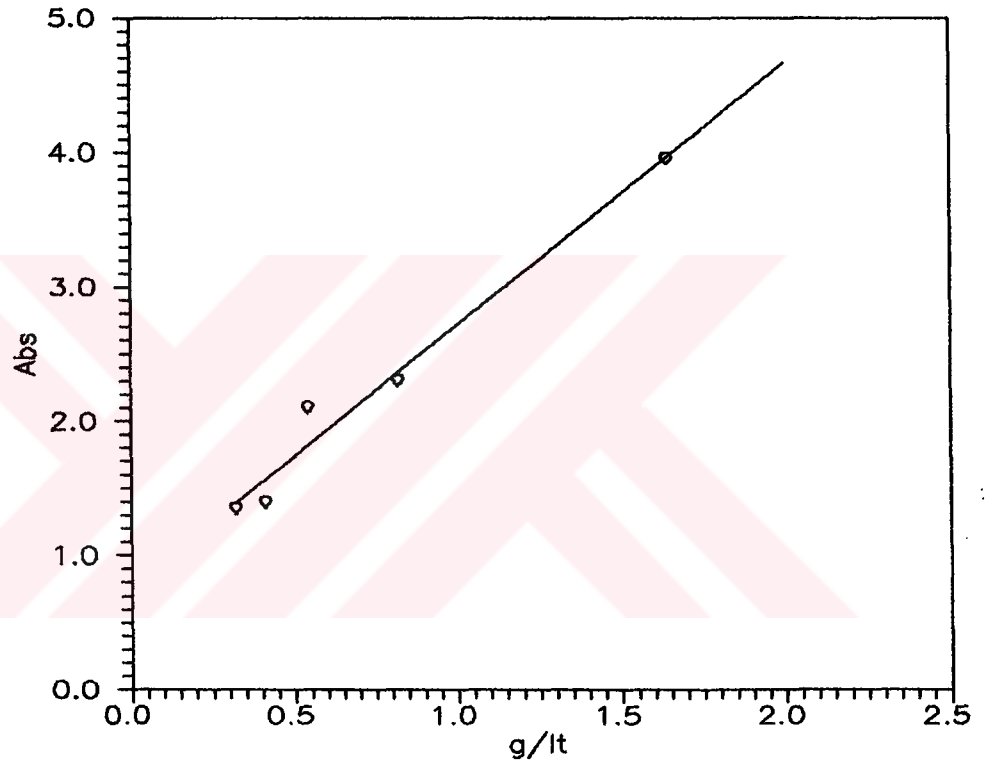
Tris Buffer	1.00ml	0.12M Tris
Örnek	0.60ml	Ca. 0.02-0.1mg ksilitol
NAD	0.10ml	Ca. 0.5mM β -NAD
Distile su Bu aşamada toplam hacim 250ml	0.80ml	
Sorbitoldehid- rojenaz	0.01ml	0.7 U/ml
Karişımın enzim ilave edildikten sonra 10 ve 25 saniyelerdeki absor- banslar UV. spektrofo- tometrede 340nm okunur.		

Hazırlanan standart ksilitol çözeltilisinden 0.1, 0.05, 0.03 ve 0.02 ml alınarak üzerlerine Tris Buffer, NAD ve su eklenerek 340 nm'de UV. spektrofotometrede absorbanans değerleri 10 ve 25. saniyelerde okunur. Elde edilen kalibrasyondan bilinmeyen numunelerde ki ksilitol değerleri hesaplanır.



Mikroorganizma İçin Kuru Ağırlık Analizi

Örnek hacmi en az 1ml olarak alınmıştır. Isıya dayanıklı Whitman filtre kağıdından süzülür. Süzölme işleminden sonra 5ml %0.9 NaCl çözeltisi ile yıkanır. Hazırlanan filtre kağıtları bir saat camı üzerine konularak 90°C'de 20 saat etüvde kurutulmuştur. Aynı işlemler süzölme için kullanılmamış filitre kağıdı ile yapılır. Bu işlemden sonra içinde CaCl₂ olan bir desikatörde oda sıcaklığına soğutup, ağırlıklar ölçülmüştür. Farktan kuru ağırlık bulunup, ölçülen ağırlıklar 600nm'de ölçülen absorbansa karşı grafiğe geçirilmiştir.



Şekil Ek-12.1 Mikroorganizma için ağırlık analizi sonucu

EK-13

Model ifadesinden Hesaplanan Furfural Değerleri

Tablo Ek-13.1 96°C Kinetik model ifadesinden elde edilen furfural degerleri

t (dak)	%1 H ₂ SO ₄ Furfural (g/l)	%3 H ₂ SO ₄ Furfural (g/l)	%5 H ₂ SO ₄ Furfural (g/l)
5	2.7815 x 10 ⁻⁵	4.0888 x 10 ⁻⁴	7.6922 x 10 ⁻⁴
10	1.143951 x 10 ⁻⁴	1.599 x 10 ⁻³	2.939 x 10 ⁻³
15	2.595815 x 10 ⁻⁴	3.4931 x 10 ⁻³	6.3495 x 10 ⁻³
20	4.578247 x 10 ⁻⁴	6.04613 x 10 ⁻³	1.0869 x 10 ⁻²
25	7.1332 x 10 ⁻⁴	9.2165 x 10 ⁻³	1.6360 x 10 ⁻²
30	1.029614 x 10 ⁻³	1.2967 x 10 ⁻²	2.2763 x 10 ⁻²
45	2.284 x 10 ⁻³	2.73 x 10 ⁻²	4.6698 x 10 ⁻²
60	4.0147 x 10 ⁻³	4.56 x 10 ⁻²	7.655 x 10 ⁻²
75	6.20636 x 10 ⁻³	6.746 x 10 ⁻²	0.11140
90	8.835 x 10 ⁻³	9.233 x 10 ⁻²	0.1506
105	1.189 x 10 ⁻²	0.1199	0.1938
120	1.5365 x 10 ⁻²	0.1499	0.2405703
180	3.3179 x 10 ⁻²	0.2910226	0.45866

Tablo Ek-13.2 120°C Kinetik model ifadesinden elde edilen furfural degerleri

t (dak)	%1 H ₂ SO ₄ Furfural (g/l)	%3 H ₂ SO ₄ Furfural (g/l)	%5 H ₂ SO ₄ Furfural (g/l)
5	1.5578 x 10 ⁻³	1.755 x 10 ⁻²	5.840 x 10 ⁻²
10	6.1178 x 10 ⁻³	6.58 x 10 ⁻²	0.2056
15	1.3549 x 10 ⁻²	0.13929	0.4129
20	2.3722 x 10 ⁻²	0.233872	0.6625
25	3.6512 x 10 ⁻²	0.3462	0.9427
30	5.1807 x 10 ⁻²	0.4738344	1.2454
45	0.1116696	0.9282009	2.2347
60	0.1905574	1.460639	3.2824
75	0.2863563	2.045069	4.3460
90	0.3972512	2.664002	5.4071
105	0.5217201	3.305317	6.4575
120	0.658442	3.960469	7.4938
180	1.307223	6.622307	11.48068

Tablo Ek-13.3 130°C Kinetik model ifadesinden elde edilen furfural degerleri

t (dak)	%1 H ₂ SO ₄ Furfural (g/l)	%3 H ₂ SO ₄ Furfural (g/l)	%5 H ₂ SO ₄ Furfural (g/l)
5	8.18 x 10 ⁻³	0.08899	0.280388
10	3.18 x 10 ⁻²	0.3182	0.9080459
15	6.9588 x 10 ⁻²	0.6469	1.708569
20	0.120418	1.0483	2.5984
25	0.18329	1.5039	3.5327
30	0.257274	2.000114	4.4865
45	0.5383	3.6424	7.3491
60	0.8943	5.3993	10.1257
75	1.311758	7.1873	12.7875
90	1.7797	9.9653	15.333
105	2.2898	10.71304	17.766
120	2.8351	12.42114	20.0927
180	5.2632	18.80782	28.41344

130 FURF
DOXUMA

130 FURF
MPNKBAL

DZGEÇMİŞ

1972 Tokat - Niksar doğumlu Hande Çavuşoğlu orta öğrenimini bitirdikten sonra 1989 yılında Gazi Üniversitesi Mühendislik ve Mimarlık Fakültesi Kimya Mühendisliği bölümüne girdi. Aynı bölümden 1993 yılında mezun olarak, yine aynı yıl Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans programına kayıt olmuştur.

