

76647

ANKARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

TUTUKLANMIŞ *A. NİGER* İLE SİTRİK ASİT ÜRETİMİNİN GERÇEKLEŞTİĞİ
ÜÇ FAZLI DOLGULU KOLON BİYOREAKTÖRÜN MODELLENMESİ

Emine BAYRAKTAR

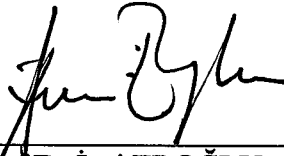
DOKTORA TEZİ

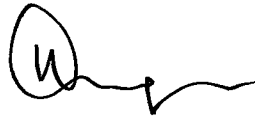
76647

KİMYA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

Bu tez 3 / 6 / 1998 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Oybirliği / ~~Oyçokluğu~~ ile kabul edilmiştir.

Doç.Dr. Ülkü MEHMETOĞLU
(Danışman)


Prof.Dr.İnci EROĞLU


Prof.Dr. Hüseyin OĞUZ

**TUTUKLANMIŞ A. NİGER İLE
SİTRİK ASİT ÜRETİMİNİN
GERÇEKLEŞTİĞİ ÜÇ FAZLI
DOLGULU KOLON BİYOREAKTÖRÜN
MODELLENMESİ**

Emine BAYRAKTAR

**DOKTORA TEZİ
KİMYA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI
1998**

ÖZET

Doktora Tezi

TUTUKLANMIŞ *A. NİGER* İLE SİTRİK ASİT ÜRETİMİNİN GERÇEKLEŞTİĞİ ÜÇ FAZLI DOLGULU KOLON BİYOREAKTÖRÜN MODELLENMESİ

Emine BAYRAKTAR

Ankara Üniversitesi
Fen Bilimler Enstitüsü
Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman : Doç.Dr. Ülkü MEHMETOĞLU
1998, Sayfa : 154

Jüri : Prof.Dr. İnci EROĞLU
Prof.Dr. Hüseyin OĞUZ
Doç.Dr. Ülkü MEHMETOĞLU

Tutuklanmış mikroorganizmalarla dolgulu kolon biyoreaktörlerde endüstriyel biyokimyasal-ların üretimi son yıllarda büyük önem kazanmaktadır. Dolgulu kolon biyoreaktörde tutuklanmış mikroorganizmalarla üretimin gerçekleştirilmesinde en önemli avantaj verimliliğin yüksek olmasıdır.

Bu çalışmada, sitrik asit üretimine etki eden parametrelerin incelenmesi, üretim kinetik modelinin belirlenmesi, dolgulu kolon biyoreaktörde sitrik asit üretiminin modellenmesi ve çözümü, bu çözüm için gerekli olan eksenel dağılım katsayısının bulunması, sıvı holdup'ın belirlenmesi ve Bodenstein sayısını (tanecik Peclet sayısı) veren korelasyon ile sıvı hold-up'ı veren korelasyonun geliştirilmesi amaçlanmıştır.

Çalışmanın birinci kısmında *A.niger* mikroorganizması ile sitrik asit üretimi üzerine çalışılmıştır. Serbest mikroorganizma ile sitrik asit üretim ortamı modifiye edilmiş, pH etkisi araştırılmış, pH=2 ve pH=4.5 değerlerinde sitrik asit derişiminin iki maksimum verdiği bulunmuştur. Tutuklanmış *A. niger*'in ön aktivasyon süresi incelenmiş ve bu sürenin 2 gün olduğu ortamdaki azot derişiminin ise 0.05 g/L olması gerektiği tespit edilmiştir. Tutuklanmış mikroorganizma ile sitrik asit üretimine azot derişiminin, oksijen ve hava kullanımının, oksijen akış hızının, başlangıç sakkaroz derişiminin etkisi incelenmiştir. Tutuklanmış mikroorganizma için gözlenen sitrik asit üretim kinetiği araştırılmış ve substrat aktivasyon modeline uyduğu tespit edilmiştir. Gözlenen kinetik parametreler Marquardt-Levenberg paket programıyla belirlenmiştir.

Çalışmanın ikinci kısmında, sıvı faz Peclet sayısının bulunduğu deneyler dolgulu kolonda abiyotik olarak gerçekleştirilmiştir. Pulse tipi izleyici girişinin yapıldığı sistemde, 1.91×10^{-5} - 8.81×10^{-5} m/s sıvı hızı, 1.47×10^{-3} - 11.0×10^{-3} m/s gaz hızı ve 1.55-4.10 mm tanecik çapı aralığında deneyler yapılmıştır. Peclet sayısının sıvı hızından etkilenmediği, gaz hızının artmasıyla azaldığı, tanecik çapı/reaktör çapı oranının artmasıyla azaldığı bulunmuştur. Sıvı holdup'ın ise sıvı hızının artmasıyla arttığı, tanecik çapı/reaktör çapının artmasıyla azaldığı ve gaz hızından etkilenmediği bulunmuştur. Bodenstein sayısını gaz faz tanecik Reynolds sayısına ve tanecik çapı/reaktör çapı oranına bağlayan korelasyon ve sıvı holdup'ı sıvı faz tanecik Reynolds sayısına ve tanecik çapı/reaktör çapı oranına bağlayan korelasyon verilerin Marquardt-Levenberg paket programıyla değerlendirilmesinden bulunmuştur.

Dolgulu kolon biyoreaktörün eksenel dağılım etkilerini içeren matematiksel modeli yazılarak elde edilen ikinci mertebeden diferansiyel denklem ve üçüncü dereceden cebirsel denklemler eşanlı olarak Danckwerts sınır koşullarında, modifiye edilmiş paket programla bilgisiyarda çözülmüştür.

Tutuklanmış mikroorganizma ile dolgulu kolonda, farklı sakkaroz derişimlerinde ve farklı akış hızlarında sitrik asit üretimi gerçekleştirilmiştir. Kolon boyunca alınan örnekler analizlenerek model sonuçlarıyla karşılaştırılmış ve iyi bir uyum sağladığı gözlenmiştir.

ANAHTAR KELİMELELER: *A.niger*, sitrik asit, üç fazlı dolgulu kolon, Peclet sayısı, eksenel dağılıma

ABSTRACT

Ph.D. Thesis

MODELING OF A THREE PHASE BIOREACTOR WITH PACKED IMMOBILIZED *A. NIGER* FOR THE PRODUCTION OF CITRIC ACID

Emine BAYRAKTAR

Ankara University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Chemical Engineering

Supervisor : Assoc. Prof. Dr. Ülkü MEHMETOĞLU

1998, Page : 154

Jury : Prof. Dr. İnci EROĞLU

Prof. Dr. Hüseyin OĞUZ

Assoc. Prof. Dr. Ülkü MEHMETOĞLU

In recent years, the use of packed bed bioreactors stuffed with immobilized microorganisms have become of great importance for the production of industrial biochemicals. The principal advantage of these processes is the higher rate of productivity.

In this study, the parameters affecting on citric acid production were investigated and a kinetic model was built for the production of citric acid was determined. In addition, a mathematical description of the system was developed, axial dispersion coefficient was obtained and the correlations which yield the Bodenstein number (particle Peclet number) and liquid hold-up were improved.

At the first part of this study, citric acid production was carried out using *A. niger* microorganisms. Production medium was modified with free microorganisms and the effect of pH on the production rate was investigated. It was found that the citric acid concentration have two maxima at the pH values of 2 and 4.5. The preactivation period of immobilized *A. niger* was investigated. It was found that nitrogen concentration has to be kept at 0.05 g/L and that *A. niger* becomes preactivated in two days. The effects of nitrogen concentration, flow rates of air and oxygen and the initial sucrose concentration on the production of citric acid using immobilized microorganisms were explored. The apparent citric acid production kinetics was studied using immobilized microorganism. Results were found to agree with Substrate Activation Model. The apparent kinetic parameters were calculated by Marquardt-Levenberg approach.

At the second part of this study, the experiments to obtain liquid phase Peclet number were carried out under abiotic conditions in a packed bed bioreactor. The pulse tracer input experiments were performed at liquid flow rates ranging in $1.91 \cdot 10^{-5}$ - $8.81 \cdot 10^{-5}$ m/s, gas flow rates ranging in $1.47 \cdot 10^{-3}$ - $11.0 \cdot 10^{-3}$ m/s and particle diameters ranging in 1.55 - 4.10 mm. It was found that the Peclet number was not influenced from liquid flow rate, however decreased with increasing gas flow rate and particle/reactor diameter ratio (d_p/D_c). Also, It was found that liquid hold-up was not influenced from gas flow rate, however increased with increasing liquid flow rate and decreased with increasing d_p/D_c ratio. The correlation which connected the Bodenstein number to gas phase particle Reynolds number and d_p/D_c ratio and the correlation which connected the liquid hold-up to liquid phase particle Reynolds number and d_p/D_c ratio were found using Marquardt-Levenberg approach.

The mathematical model taking axial dispersion into account for the packed bed bioreactor with was built and the resulting second order differential equation together which a third order algebraical equation were solved simultaneously at the Danckwerts Boundary Conditions by numerical techniques.

Production of citric acid was carried out at various sucrose concentrations and flow rates in the packed bed using immobilized microorganisms. Samples were taken at different locations and results were compared with model predictions. It can be concluded that the model closely represents experimental conditions.

KEYWORDS: *A. niger*, citric acid, three phase packed bed, Peclet number, axial dispersion,.

TEŞEKKÜR

Bu doktora çalışmamı yöneten ve çalışmalarım boyunca yardımlarını esirgemeyen danışman hocam Doç. Dr. Ülkü Mehmetoğlu'na en içten teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmam için gerekli mali olanağı sağlayan Devlet Planlama Teşkilatı'na (96K120410 nolu proje) ve A.Ü. Araştırma Fonu'na (95-00-00-01 nolu proje) teşekkür ederim.

Analizlerin yapılması sırasında yardımlarını esirgemeyen Prof. Dr. Haluk Hamamcı'ya, ODTÜ Gıda Mühendisliği Bölümüne ve Petrol ve Doğal Gaz Mühendisliği Bölümüne teşekkür ederim.

Ayrıca çalışmalarım sırasında yakın yardımlarını gördüğüm Yard. Doç. Dr. Burhanettin Çiçek'e, Biyoteknoloji grubuna ve her türlü alt yapısından yararlandığım Kimya Mühendisliği Bölümüne teşekkür ederim. Deneylerim sırasında bana her türlü desteği gösteren eşim Mustafa Bayraktar'a teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT	ii
TEŞEKKÜR	iii
ŞEKİLLER DİZİNİ	viii
ÇİZELGELER DİZİNİ	xi
SİMGELER DİZİNİ	xiii
KISALTMALAR	xvii
1. GİRİŞ	1
2. KURAMSAL TEMELLER ve KAYNAK ARAŞTIRMASI	7
2.1. Sitrik Asitin Özellikleri	7
2.1.1. Fiziksel özellikleri	7
2.1.2. Kimyasal özellikleri	8
2.2. Sitrik Asit Üretimi	9
2.3. Sitrik Asit Üretimindeki Kültür Şartları	10
2.4. Sitrik Asitin Geri Kazanılması	13
2.5. Sitrik Asitin Depolanması	14
2.6. Sitrik Asit Fermentasyonunun Biyokimyası	15
2.7. Sitrik Asitin Ekonomik Durumu	15
2.8. Sitrik Asitin Sağlık, Güvenlik ve Çevre Şartları	18
2.9. Sitrik Asitin Kullanım Alanları	18
2.10. İdeal Olmayan Akış	20
2.11. Kalma Süresi Dağılımının Ölçülmesi	20
2.12. Ortalama Kalma Süresi	21
2.13. Kalma Süresi Dağılımının Diğer Momentleri	21
2.14. Kalma Süresi Dağılımı Analizi ile Reaktörlerin modellenmesi	22
2.14.1. Tek parametrelili aksenel dağılım modeli	23
2.14.2. İki parametrelili modifiye edilmiş karışmalı hücre modeli	25
2.14.3. İki parametrelili çarpaz akım reaktör	27
2.14.4. Üç parametrelili piston-dağılımlı-değişim (PDE) modeli	28

2.15.Sıvı Hold-up	30
2.16. Kaynak Araştırması	31
2.16.1.Serbest ve tutuklanmış mikroorganizma ile sitrik asit üretimi	31
2.16.2.İdeal olmayan reaktörlerin analizi	36
2.16.3.Dolgulu kolon reaktörlerin modellenmesi	43
3. İNCELENEN SİSTEMİN MATEMATİK TANIMLANMASI	45
3.1. Kalma Süresi Dağılımı Analizi	45
3.2. Gözlenen Tepkime Hız Sabitlerinin Bulunması	46
3.3. Dolgulu Kolon Biyoreaktörün Modellenmesi	47
3.4. Dolgulu Kolon Biyoreaktör Model Denklemlerinin Çözümü	51
4. MATERYAL ve METOD	53
4.1. Mikroorganizma Üretimi	53
4.2. Tutuklama Yöntemi	53
4.2.1. Mikroorganizma içermeyen küresel Ca-aljinat taneciklerinin oluşturulması.....	53
4.2.2. <i>Aspergillus niger</i> sporlarının tutuklanması.....	54
4.3. Sitrik Asit Üretim Ortamı	54
4.4. Kalma Süresi Deney Düzeneği ve Deneylerin Yapılışı	55
4.4.1. Yarı kesikli sitrik asit üretim düzeneği.....	57
4.4.2. Sürekli sitrik asit üretim düzeneği	57
4.5. Analiz Yöntemleri	58
4.5.1. İzleyici derişiminin belirlenmesi	58
4.5.2. Mikroorganizma spor sayılarının belirlenmesi	58
4.5.3. Sitrik asit derişiminin belirlenmesi	59
4.5.4. Sakkaroz derişiminin belirlenmesi.....	59
4.5.5. Ortam yoğunluğunun belirlenmesi	59
4.5.6. Ortam viskozitesinin belirlenmesi	60
4.5.7. Pellet ağırlığı ve pellet sayısının belirlenmesi	60
4.5.8. Deney planı.....	60
5. DENEYSEL BULGULAR ve TARTIŞMA	61
5.1. Sitrik Asit Üretimi	61

5.1.1. Sitrik asit üretiminde ortam modifikasyonu.....	61
5.1.2. Başlangıç pH'nın sitrik asit üretimine etkisi	64
5.1.3. Tutuklanmış mikroorganizmaların ön aktivasyon süreleri ve azot etkisi	65
5.1.4. Tutuklanmış mikroorganizmalarla sitrik asit üretimine azot derişiminin etkisi.....	69
5.1.5. Tutuklanmış mikroorganizma ile sitrik asit üretimine hava ve oksijen etkisi	72
5.1.6. Tutuklanmış mikroorganizma ile sitrik asit üretimine oksijen akış hızının etkisi	78
5.1.7. Tutuklanmış mikroorganizma ile sitrik asit üretimine başlangıç sakkaroz derişiminin etkisi.....	78
5.2. Sitrik Asit Üretim Kinetiği	81
5.3. Kalma Süresi Dağılımı Deneyleri.....	84
5.3.1. Peclet sayısına sıvı akış hızının etkisi	85
5.3.2. Peclet sayısına gaz akış hızının etkisi	85
5.3.3. Peclet sayısına tanecik çapı/reaktör çapı, d_p/D_c oranının etkisi.....	87
5.3.4. Bodenstein sayısı için korelasyonun geliştirilmesi.....	91
5.3.5. Sıvı hold-up'a sıvı akış hızının etkisi.....	94
5.3.6. Sıvı hold-up'a gaz akış hızının etkisi.....	94
5.3.7. Sıvı hold-up'a tanecik çapı/reaktör çapı oranının etkisi	96
5.3.8. Sıvı hold-up için korelasyonun geliştirilmesi	98
5.4. Dolgulu Kolon Biyoreaktörde Sitrik Asit Üretimi ve Model	
Sonuçlarının Karşılaştırılması.....	101
5.4.1. Farklı sakkaroz derişimlrindeki model çözümleri.....	101
5.4.2. Farklı seyrelme hızlarındaki model çözümleri	105
6. SONUÇLAR.....	108
7. ÖNERİLER.....	111
KAYNAKLAR.....	112
EKLER.....	118
EK 1. Blue dekstran analizi ve kalibrasyon doğrusu	119

EK 2. <i>Aspergillus niger</i> sporlarının sayım yöntemi ve kalibrasyon doğrusu	121
EK 3. Sitrik asit analiz yöntemi ve kalibrasyon doğrusu	123
EK 4. Sakkaroz kalibrasyon doğru denklemi.....	125
EK 5. Fermantasyon ortamının yoğunluk ve viskozitesinin bulunması	126
EK 6. Literatürdeki farklı sitrik asit ortamları.....	128
EK 7. Blue dekstran çözeltisinin Ca-aljinat jeline adsorpsiyonunun incelenmesi	129
EK 8. Kalma süresi deney verilerinin toplu sonuçları	130
EK 9. Kalma süresi deneylerindeki hesaplamalar	139
EK 10. Bodenstein sayısı korelasyonlarının karşılaştırılması.....	144
EK 11. Sıvı hold-up korelasyonlarının karşılaştırılması	146
EK 12. Sıvı faz kütle aktarım katsayısının hesaplanması	147
EK 13. Peclet sayısının hesaplanması	149
EK 14. Dolgulu kolon biyoreaktörün model denklemlerinin çözümü için yazılan kullanılan FORTRAN kodu.....	150
EK 15. Sıvı hold-up'ın sıvı akış hızıyla değişimi	153
ÖZGEÇMİŞ	154

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Tri karboksilik asit çevrimi (TCA) (Kirk and Othmer 1993)	16
Şekil 2.2. 1990'da dünyada sitrik asit üretimi (Kirk and Othmer 1993).....	17
Şekil 2.3. <i>A.niger</i> ile çoğalma ve sitrik asit üretimi (Roehr et al. 1981).....	37
Şekil 3.1. Dolgulu kolon biyoreaktör	47
Şekil 4.1. Dolgulu kolon biyoreaktör deney düzeneği. 1.Sıvı besleme deposu, 2.Peristaltik pompa, 3.Dağıtıcı cam sinter, 4.Dolgulu yatak, 5. Isı aktarım ceketi, 6.Sabit sıcaklık banyosu, 7.Örnek alma noktası, 8.İzleyici giriş noktası, 9. Metering valve, 10.Regülatör	56
Şekil 4.2. Yarı kesikli sitrik asit üretim düzeneği. 1. Karıştırma ve sıcaklık kontrollü çalkalamalı su banyosu, 2. Biyoreaktör, 3.Mikrobiyolojik hava filtresi, 4. Oksijen girişi, 5. Rotametre, 6. Oksijen tüpü.....	57
Şekil 5.1. Sitrik asit derişiminin zamanla değişimine ortamların etkisi. T=30°C, N=100 devir/min, Q _v =1.0 vvm hava, pH=4.0, serbest mikroorganizma.....	63
Şekil 5.2. Başlangıç pH'nın sitrik asit derişimi ile değişimi. T=30°C, N=100 devir/min, C _{bo} =140 g/L, Q _v =1.0 vvm hava, t=4 gün, serbest mikroorganizma.....	65
Şekil 5.3.Pellet ağırlığı/pellet sayısının, w/n, zamanla değişimine ortamların etkisi. T=30°C, N=100 devir/min, C _{bo} =140 g/L, Q _v =1.0 vvm hava, pH=4.5, d _p =3 mm, 0.2 g pellet/ml sıvı.....	67
Şekil 5.4. Ön aktifleşme ortamlarında üretilen sitrik asitin zamanla değişimi T=30°C, N=100 devir/min, C _{bo} =140 g/L, Q _v =1.0 vvm hava, pH=4.5, d _p =3 mm, 0.2 g pellet/ml sıvı	68
Şekil 5.5.Ortam 2.1, Ortam 2.2 ve Ortam 2.3'de ön aktifleştirilen pelletlerin ayrı ayrı Ortam 2.3'deki ürettikleri sitrik asit derişiminin zamanla değişimi. T=30°C, N=100 devir/min, C _{bo} =140 g/L, Q _v =1.0 vvm hava, pH=4.5, d _p =3 mm, 0.2 g pellet/ml sıvı	70
Şekil 5.6.Sitrik asit derişiminin zamanla değişimine azot derişiminin etkisi. T=30°C, N=100 devir/min, C _{bo} =140 g/L, Q _v =1.0 vvm hava, pH=4.5, d _p =3 mm, 0.2 g pellet/ml sıvı	71

Şekil 5.7. Azotlu ortamda oksijen varlığının sitrik asit derişimine etkisi. $T=30^{\circ}\text{C}$, $N=100$ devir/min, $C_{bo}=140$ g/L, $\text{pH}=4.5$, $d_p = 3$ mm, 0.2 g pellet/ml sıvı	73
Şekil 5.8. Azotsuz ortamda oksijen ve havanın sitrik asit derişimine etkisi. $T=30^{\circ}\text{C}$, $N=100$ devir/min, $C_{bo}=140$ g/L, $\text{pH}=4.5$, $d_p = 3$ mm, 0.2 g pellet/ml sıvı	75
Şekil 5.9. Azotlu ve azotsuz ortamda oksijen varlığının sitrik asit derişimine etkisi. $T=30^{\circ}\text{C}$, $N=100$ devir/min, $C_{bo}=140$ g/L, $\text{pH}=4.5$, $d_p = 3$ mm, 0.2 g pellet/ml sıvı	76
Şekil 5.10. Azotlu ve azotsuz ortamda hava varlığının sitrik asit derişimine etkisi. $T=30^{\circ}\text{C}$, $N=100$ devir/min, $C_{bo}=140$ g/L, $\text{pH}=4.5$, $d_p = 3$ mm, 0.2 g pellet/ml sıvı	77
Şekil 5.11. Oksijen akış hızı ile sitrik asit derişiminin değışimi. $T=30^{\circ}\text{C}$, $N=100$ devir/min, $C_{bo}=140$ g/L, $\text{pH}=4.5$, $d_p = 3$ mm, 0.2 g pellet/ml sıvı	79
Şekil 5.12. Sitrik asit derişiminin başlangıç sakkaroz derişimi ile değışimi. $T=30^{\circ}\text{C}$, $N=100$ devir/min, $C_{bo}=140$ g/L, $\text{pH}=4.5$, $Q_v=0.75$ vvm O_2 , $d_p = 3$ mm, 0.2 g pellet/ml sıvı	80
Şekil 5.13. Sakkaroz derişiminin zamanla değışimi. $T=30^{\circ}\text{C}$, $N=100$ devir/min, $C_{bo}=140$ g/L, $\text{pH}=4.5$, $Q_v=0.75$ vvm O_2 , $d_p = 3$ mm, 0.2 g pellet/ml sıvı	82
Şekil 5.14. Başlangıç sakkaroz derişimi ile sakkaroz tüketim hızının değışimi. $T=30^{\circ}\text{C}$, $N=100$ devir/min, $C_{bo}=140$ g/L, $\text{pH}=4.5$, $Q_v=0.75$ vvm O_2 , $d_p = 3$ mm, 0.2 g pellet/ml sıvı	83
Şekil 5.15. Peclet sayısının gaz hızıyla değışimi, $U_L = 5.87 \times 10^{-5}$ m/s	89
Şekil 5.16. Peclet sayısının tanecik çapı/reaktör çapı d_p/D_c ile değışimi, $U_L =$ 5.87×10^{-5} m/s	90
Şekil 5.17. $d_p/D_c=0.2412$ ($d_p=4.10$ mm) için korelasyon sonuçlarının karşılaştırılması ...	93
Şekil 5.18. Sıvı hold-up'ın sıvı akış hızı ile değışimi. $U_G=5.51 \times 10^{-3}$ m/s	95
Şekil 5.19. Sıvı hold-up'ın tanecik çapı/reaktör çapı, d_p/D_c ile değışimi. $U_G=5.51 \times 10^{-3}$ m/s	97

Şekil 5.20. $d_p/D_c=0.2412$ ($d_p=4.10$ mm) için sıvı hold-up korelasyon sonuçlarının karşılaştırılması	100
Şekil 5.21. Dolgulu kolon boyunca sakkaroz derişiminin başlangıç sakkaroz derişimi ile değişimi. $D_t=0.23$ h ⁻¹ , $T=30^\circ\text{C}$, $d_p=3$ mm $\text{pH}=3.4$, $\epsilon=0.30$, $Q_v=0.75$ vvm O ₂ , $w=244$ g pellet	102
Şekil 5.22. $C_{s0}=40$ g/L için dolgulu kolon boyunca sakkaroz derişiminin farklı Peclet sayıları ile değişimi. $T=30^\circ\text{C}$, $d_p=3$ mm $\text{pH}=3.4$, $\epsilon=0.30$, $Q_v=0.75$ vvm O ₂ , $w=244$ g pellet	104
Şekil 5.23. $C_{s0}=40$ g/L için dolgulu kolon boyunca sakkaroz derişiminin seyrelme hızı ile değişimi. $T=30^\circ\text{C}$, $d_p=3$ mm $\text{pH}=3.4$, $\epsilon=0.30$, $Q_v=0.75$ vvm O ₂ , $w=244$ g pellet	106
Şekil 5.24. $C_{s0}=80$ g/L için dolgulu kolon boyunca sakkaroz derişiminin seyrelme hızı ile değişimi. $T=30^\circ\text{C}$, $d_p=3$ mm $\text{pH}=3.4$, $\epsilon=0.30$, $Q_v=0.75$ vvm O ₂ , $w=244$ g pellet	107
Şekil EK1. Blue dekstran kalibrasyon doğrusu	120
Şekil EK2. <i>A. niger</i> sporlarının kalibrasyon doğrusu	122
Şekil EK3. Sitrik asit kalibrasyon doğrusu	124
Şekil EK7. Blue dekstran derişiminin zamanla değişimi. $N=150$ devir/min, $C_{i0}=2$ g/L, $w=20$ g	129
Şekil EK9.1. KSD sonucu elde edilen derişimin zamanla değişimi. $U_L = 5.87 \times 10^{-5}$ m/s, $U_G=5.51 \times 10^{-3}$ m/s ve $d_p=1.55$ mm	141
Şekil EK9.2. Eksenel dağılım modeline zaman alanında uygunlaştırma ile elde edilen sonuçların deney verileri ile uyumu. $U_L = 5.87 \times 10^{-5}$ m/s, $U_G=5.51 \times 10^{-3}$ m/s ve $d_p=1.55$ mm	142

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1. Sitrik asitin fiziksel özellikleri	8
Çizelge 2.2. ABD’de Sitrik asit/sitrat’ın kullanım dağılımı (%).....	17
Çizelge 2.3. Türkiye’de sitrik asit ithalat ve ihracat durumu	18
Çizelge 2.4. Tutuklanmış hücrelerle 28 günlük tepkime sonunda başlangıç sakkaroz derişiminin sitrik asit verimine etkisi.....	33
Çizelge 2.5. Fosfat kısıtlanmalı çoğalma şartlarında sitrik asit üretimi üzerine azot derişiminin etkisi.....	33
Çizelge 2.6. Fosfat kısıtlanmalı deneylerde yatışkın hal derişimleri.....	34
Çizelge 4.1. <i>Aspergillus niger</i> için katı besin ortamı (PSA ortamı)	53
Çizelge 4.2. Sitrik asit üretiminde ön aktivasyon ve üretim ortamı.....	55
Çizelge 5.1. Sitrik asit üretim ortamı bileşimleri	62
Çizelge 5.2. Optimum aktivasyon süresinin ve ortamının belirlenmesi için kullanılan sıvı çoğalma ortamları ve bileşimleri.....	66
Çizelge 5.3. Peclet sayılarının ve regrasyon katsayılarının sıvı akış hızıyla ve d_p/D_c oranıyla değişimi ($U_G = 5.51 \times 10^{-3}$ m/s).....	86
Çizelge 5.4. Peclet sayılarının ve regrasyon katsayılarının gaz akış hızıyla ve d_p/D_c oranıyla değişimi ($U_L = 5.87 \times 10^{-5}$ m/s).....	88
Çizelge 5.5. Sıvı hold-up’ın gaz hızıyla ve d_p/D_c oranıyla değişimi. ($U_L = 5.87 \times 10^{-5}$ m/s).....	96
Çizelge EK 2. Thoma lamında her bir 16 kareden okunan spor sayıları.....	121
Çizelge EK 5.1. Farklı başlangıç sakkaroz derişimlerindeki ortam yoğunlukları	126
Çizelge EK 5.2. Farklı başlangıç sakkaroz derişimlerindeki ortam viskoziteleri.....	127
Çizelge EK 6. Literatürdeki farklı sitrik asit ortamları	128
Çizelge EK8.1. $d_p = 4.1$ mm için farklı gaz akış hızlarında izleyici derişiminin zamanla değişimi. $U_L = 5.87 \times 10^{-5}$ m/s.....	131
Çizelge EK8.2. $d_p = 3.56$ mm için farklı gaz akış hızlarında izleyici derişiminin zamanla değişimi. $U_L = 5.87 \times 10^{-5}$ m/s.....	132
Çizelge EK8.3. $d_p = 2.50$ mm için farklı gaz akış hızlarında izleyici derişiminin zamanla değişimi. $U_L = 5.87 \times 10^{-5}$ m/s.....	133

Çizelge EK8.4. $d_p=1.55$ mm için farklı gaz akış hızlarında izleyici derişiminin zamanla değişimi. $U_L=5.87 \times 10^{-5}$ m/s.....	134
Çizelge EK8.5. $d_p=4.10$ mm için farklı sıvı akış hızlarında izleyici derişiminin zamanla değişimi. $U_G=5.51 \times 10^{-3}$ m/s	135
Çizelge EK8.6. $d_p=3.56$ mm için farklı sıvı akış hızlarında izleyici derişiminin zamanla değişimi. $U_G=5.51 \times 10^{-3}$ m/s	136
Çizelge EK8.7. $d_p=2.50$ mm için farklı sıvı akış hızlarında izleyici derişiminin zamanla değişimi. $U_G=5.51 \times 10^{-3}$ m/s	137
Çizelge EK8.8. $d_p=1.55$ mm için farklı sıvı akış hızlarında izleyici derişiminin zamanla değişimi. $U_G=5.51 \times 10^{-3}$ m/s	138
Çizelge EK9.1. $U_L=5.87 \times 10^{-5}$ m/s, $U_G=5.51 \times 10^{-3}$ m/s ve $d_p=1.55$ mm koşullarında KSD deney verileri ve çözüm sonuçları.....	140
Çizelge EK9.2. Varyansın gaz akış hızı ve tanecik çapı/reaktör çapı oranıyla değişimi.....	143
Çizelge EK15. Sıvı hold-up'ın sıvı hızıyla ve d_p/D_c oranıyla değişimi ($U_G=5.51 \times 10^{-3}$ m/s).....	153

SİMGELER DİZİNİ

A	Thoma lamında 16 büyük karede sayılan ortalama spor sayısı
A_z	Dolgulu kolon kesit alanı (m_r^2)
a	Katı sıvı ara yüzey alanı (m_p^2/m_r^3)
a'	(3.19) denklemindeki katsayı
a''	(2.50) denklemindeki katsayı
Bo	Bodenstein sayısı ($d_p U_L/\varepsilon_L D_z$)
b'	(3.19) denklemindeki katsayı
b''	(2.50) denklemindeki katsayı
C_{Sb}	Yığın substrat derişimi (kg/m_A^3)
C_{So}	Başlangıç yığın substrat derişimi (kg/m_A^3)
C_{Ss}	Yüzey substrat derişimi (kg/m_A^3)
C_i	İzleyici derişimi (kg/m_A^3)
C_{io}	Başlangıç izleyici derişimi (kg/m_A^3)
C_d	(2.15) denklemindeki hareketli faz izleyici derişimi (kg/m^3)
C_s	(2.15) denklemindeki durgun faz izleyici derişimi (kg/m^3)
C_1	(2.12) denklemindeki 1 konumundaki izleyici derişimi (kg/m^3)
C_2	(2.12) denklemindeki 2 konumundaki izleyici derişimi (kg/m^3)
Da	Damköhler sayısı ($r_{Smax} m/k_s a C_{So}$)
D_c	Kolon çapı (m_r)
D_L	Substrat difüzivitesi ($m_A^3/m_p s$)
D_1	Seyrelme hızı (h^{-1})
de	(3.18) denklemindeki eşdeğer çap (m)
d_p	Tanecik çapı (m_p)
d_s	(2.36) denklemindeki karakteristik tanecik çapı (m)
D_z	Sıvı faz eksenel dağılım katsayısı (m_r^2/s)
E	KSD fonksiyonu (h^{-1})
F(s)	(2.12) denklemindeki transfer fonksiyonu
f	(2.16) denklemindeki durgun sıvı kesri
Ga	(2.43) denklemindeki Gallileo sayısı

G_L	(2.35) denklemindeki boş kolon kütleli sıvı hızı
G_G	(2.35) denklemindeki boş kolon kütleli gaz hızı
Q_L	Sıvı faz hacimsel akış hızı (m^3_A/min)
Q_G	Gaz faz hacimsel akış hızı (m^3_A/min)
h_{sL}	Reaktör boşluk hacmi başına toplam sıvı hold-up (m_A^3/m_b^3)
h_{dL}	Reaktör boşluk hacmi başına dinamik sıvı hold-up
h_L	Reaktör boşluk hacmi başına statik sıvı hold-up
K	(2.16) denklemindeki kütle aktarım katsayısı
K_1, K_2	Gözlenen tepkime hız sabiti (kg/m_A^3)
k_s'	(3.18) denklemindeki sıvı katı kütle aktarım katsayısı ($m_A^3 m_p/m_b^3 s$)
k_s	($k_s' \epsilon / (1 - \epsilon)$) sıvı katı kütle aktarım katsayısı ($m_A^3/m_p^2 s$)
L	Dolgu yüksekliği (m)
L_p	Silindirik katalizörün uzunluğu (m)
M_a	Asit molekül ağırlığı (kg/kmol)
M_{CO_2}	CO_2 molekül ağırlığı (kg/kmol)
M_{O_2}	Oksijen molekül ağırlığı (kg/kmol)
m	Pellet derişimi ($kg\ jel/m_r^3$)
N	Karıştırma hızı (devir/min)
N	(2.29) denklemindeki parametre
N_{ReG}	Gaz faz gerçek Reynolds sayısı ($U_G d_p \rho_G / \epsilon \mu_G$)
N_{ReL}	Sıvı faz gerçek Reynolds sayısı ($U_L d_p \rho_L / \epsilon \mu_L$)
N_z	z-yönündeki substratın kütleli hızı ($kg/mr^2 s$)
P	Ürün ve (2.29) denklemindeki parametre
Pe	Peclet sayısı ($U_L L / \epsilon_L D_z$)
r	Regresyon katsayısı
r_a	asit üretim hızı
r_{CO_2}	CO_2 üretim hızı
Re_G	Gaz faz boş kolon Reynolds sayısı ($U_G d_p \rho_G / \mu_G$)
Re_L	Sıvı faz boş kolon Reynolds sayısı ($U_L d_p \rho_L / \mu_L$)
r_{O_2}	Oksijen tüketim hızı
$-r_s'$	Gözlenen substrat tüketim hızı ($kg/kg\ jel\ s$)

$-r_s$	Gözlenen substrat tüketim hızı ($\text{kg}/\text{m}^3 \text{ s}$)
$r_{s\text{max}}$	Gözlenen maksimum sustrat tüketim hızı ($\text{kg}/\text{kg jel s}$)
s	Laplace değişkeni
SF	Seyrelme faktörü
SS	Sayım sonucu
St	Stanton sayısı ($k_s a L/U_L$)
t	Sıvı faz ortalama kalma süresi (min)
T	Sıcaklık ($^{\circ}\text{C}$)
t	Zaman
U_L	Boş kolon sıvı akış hızı ($\text{m}_A^3/\text{m}_r^2\text{s}$)
U_G	Boş kolon gaz akış hızı ($\text{m}_A^3/\text{m}_r^2\text{s}$)
u_d	(2.26) denkleminde hareketli faz gerçek sıvı hızı (m/s)
u_L	Gerçek sıvı akış hızı (m_r/s)
V	Reaktör hacmi (m_r^3)
w	Jel ağırlığı (kg)
X	Hücre
y	Boyutsuz uzunluk
$Y_{P/S}$	Verimlilik katsayısı
α	(3.21) denklemindeki katsayı
β	(3.21) denklemindeki katsayı
γ	(3.21) denklemindeki katsayı
θ	Boyutsuz kalma süresi
Ψ	Boyutsuz yığın substrat derişimi
ε	Dolgulu kolon boşluk kesri ($\text{m}_b^3/\text{m}_r^3$)
ε_L	Reaktör hacmi başına toplam sıvı hold-up ($\text{m}_A^3/\text{m}_r^3$)
ϕ	(2.29) denklemindeki parametre
δ	(2.31) denklemindeki delte fonksiyonu
σ	Varyans (min^2)
μ	Moment
μ_G	Gaz viskozitesi ($\text{kg}/\text{m s}$)

ρ_G	Gaz yoğunluğu (kg/m^3)
μ_L	Sıvı viskozitesi (kg/m s)
ρ_L	Sıvı yoğunluğu (kg/m^3)
Ψ_s	Boyutsuz yüzey substrat derişimi

İndisler

A	Akışkan
b	Reaktör boşluk
p	Tanecik
r	Reaktör
S	Substrat



KISALTMALAR

AMP	Adenin mono fosfat
cAMP	Siklik Adenin mono fosfat
DOT	% oksijen doygunluğu
EMP	Embden Meyerhof Parnas
GMP	Guanin mono fosfat
HPLC	Yüksek basınç sıvı kromatografisi
KSD	Kalma süresi dağılımı
PAA	Pridin asetik anhidrit
TCA	Tri karboksilik asit çevrimi



1.GİRİŞ

Sitrik asit, bitkilerin ve hayvanların doğal metaboliti olan bir trikarboksilik asittir. Gıda, ilaç, kozmetik, deterjan ve tekstil gibi endüstri dallarında önemli kullanım alanına sahip olan sitrik aside talep gün geçtikçe artmaktadır. Sitrik asit ilk olarak 1784 yılında limon suyundan kristallendirilerek elde edilmiştir. İlk olarak 1917 yılında Currie tarafından *Aspergillus niger* mikroorganizması ile biyokimyasal üretimi gerçekleştirilmiştir (Marison 1983).

Sitrik asit fermentasyon prosesinde, yüzey kültürü, daldırılmış kültür ve katı hal kültürü olmak üzere üç temel fermentasyon tekniği vardır. Ticari olarak sitrik asit üretimi 1923 yılında *A.niger* mikroorganizmasının kullanıldığı katı hal fermentasyonu ile başlamış daha sonra yerini daldırılmış prosesle üretimi almıştır .

A.niger ile sitrik asit üretiminde, önce mikroorganizma çoğalması sağlanmakta daha sonra azot kısıtlamalı ortama geçilerek sitrik asit üretimi gerçekleştirilmektedir. Serbest mikroorganizma ile sitrik asit üretiminde aşırı misel oluşması karışmalı reaktörlerde karışma etkinliğinde büyük güçlükler neden olmaktadır.

Literatürde sitrik asit verimini artırmak, tutuklanmış mikroorganizma ile üretimi sağlamak, sıvı ortamda veya tutuklanmış pelletlerdeki misel oluşumunu kontrol etmek, melas gibi daha ucuz substrat kullanımını geliştirmek amacıyla çok sayıda çalışma bulunmaktadır (Hossain et al 1983, Sassi et al 1991, Gupta and Sharma 1994).

Eikmeir et al (1984) çalışmalarında *A. niger*'ı Ca-aljinata ve κ -carregana tutuklamışlar ve bu pelletlerin sitrik asit üretimi sırasındaki morfolojik gelişmesini incelemişlerdir. Bu amaçla 0.05, 0.1, 0.2, g/L NH_4NO_3 derişimlerinde deneyler yapılmıştır. 0.1 ve 0.2 g/L gibi yüksek azot derişimlerinde pellet yüzeyinde hızlı çoğalma olduğu ve yüzeyin çok fazla miselle kaplandığı gözlenmiştir. İnce bir misel filminin oluştuğu 0.05 g/L azot derişiminin pellet için en uygun olduğu belirtilmiştir.

Eikmeier and Rehm (1984) *A. niger* ile sitrik asit üretimini serbest ve Ca-alginata tutuklanmış mikroorganizma ile incelemişler, tutuklanmış mikroorganizma kullanıldığında verimliliğin 1.5 kat arttığını belirtmişlerdir. Azot derişiminin sitrik asit üretimine etkisini incelemek amacıyla 0-0.4 g/L NH_4NO_3 derişimi aralığında çalışmışlar, en yüksek sitrik

asit derişimine 0.2 g/L NH_4NO_3 derişiminde ulaşmışlardır. Çalışmada pelletlerin tutuklama işleminden sonra yapılan aktifleştirme ortamı ve süresi belirtilmemiştir.

Kristiansen and Sinclair (1979) sürekli sistemde serbest *Aspergillus foetidus* mikroorganizması ile sitrik asit üretimine azot derişiminin etkisini inceledikleri çalışmalarında en yüksek sitrik asit derişiminin 0.8 g/L NH_4NO_3 derişiminde elde edildiğini belirtmişlerdir. Kristiansen and Sinclair (1978) pH'ın sitrik asit derişimine etkisini inceledikleri çalışmalarında pH=2.6 ve 2.35'de maksimum sitrik asit derişimine ulaşmıştır.

Tsay and To (1987) tutuklanmış *A. niger* ile sitrik asit üretimine pH'ın etkisini inceledikleri çalışmalarında, pH 1.8-6.0 aralığında incelemeler yapmışlar, pH=4.3'de maksimum sitrik asit derişimi elde edilmiştir. Ayrıca çalışmalarında sakkaroz derişiminin 80-180 g/L aralığını incelemişler ve 140 g/L sakkaroz derişiminde maksimum sitrik asit derişimine ulaşmışlardır.

Literatürde sitrik asit üretimine oksijen derişiminin etkisinin incelendiği çalışmalarda, genellikle % oksijen doygunluğuna karşı sitrik asit derişimleri verilmiştir. Oksijen doygunluğunun artmasının tepkime süresini azalttığı belirtilmektedir (Kristiansen and Sinclair 1978). Dawson et al (1988) sürekli sistemde aynı seyrelme hızında oksijen doygunluğunun % 25'den % 50'ye artmasıyla sitrik asit derişiminin 1.4 g/L'den 5.9 g/L'ye arttığını % 75'e arttığında ise 1.7 g/L'ye düştüğünü belirtmişlerdir.

Lu et al (1997) *A.niger* mikroorganizmasını kullanarak dolgulu kolon biyoreaktörde katı hal fermentasyonu ile sitrik asit üretimini incelemişlerdir. Dolgu maddesi olarak küp şeklinde kesilmiş nişasta içeren ekin köklerini kullanmıştır. Burada hava akış hızının, tanecik boyutunun ve yatak yüklemesinin önemli olduğu belirtilmiştir. Havalanma hızının, başlangıç fermentasyon periyodunda metabolik hızı artırdığı fakat daha yüksek hızların fungus iplikcikleri üzerine kayma gerilimlerinin artmasından dolayı zarar verdiği belirtilmiştir.

Dolgulu kolon biyoreaktörlerde üretimde, biyoreaktörlerin performansı sadece mikrobiyal veya enzimatik kinetiklere bağlı değil, reaktör içinde oluşan fiziksel proseslere de bağlıdır. Yığın faz, hücre veya tanecik içi ısı veya kütle aktarımlarından oluşan fiziksel prosesler çoğunlukla çok fazlı sistemlerdeki karışma etkinliğine bağlıdır. Karışma prosesleri iki grup altında incelenir. Bunlardan birincisi, elementer hacimlerin kalma

süresi ile açıklanan makro karışma; ikincisi ise,elementer hacimlerin karşılıklı etkileşmesiyle açıklanan mikro karışmadır. Biyoreaktörlerin performansının mikro karışmadan fazla etkilenmediği belirtilmektedir (Swaine and Daugulis 1988). Makro karışma derecesi, kalma süresi dağılımı (KSD) analizi ile belirlenebilmektedir (Fogler 1992). Literatürde kimyasal sistemlerde KSD analizi üzerine çok sayıda araştırma bulunurken, biyolojik sistemlere uygulanması üzerine araştırmalar çok kısıtlıdır. Biyolojik sistemlerde, biyotepkime varlığında KSD analizi gerçekleştirilecekse buradaki en büyük zorluk izleyici seçimi ve sterilliğin korunmasıdır. Kimyasal sistemlerdeki izleyici özelliklerine ilave olarak biyokimyasal sistemlerdeki izleyicinin, mikroorganizma çoğalmasını veya ürün oluşumunu inhibe edici özelliğe sahip olmaması, mikroorganizma tarafından metabolizmada kullanılmaması ve aerobik biyodönüşüm sırasında uçucu olmaması gerekmektedir.

İdeal reaktörlerde, piston akış ve tam karışmalı akış olmak üzere iki tip akış hidrodinamiği söz konusudur. Gerçek işletimde bu iki uç halden sapmalar olmaktadır. Aerobik fermentasyon veya etanol fermentasyonu gibi heterojen sistemlerde gaz fazın olması dolgulu kolon biyoreaktörlerde geri karışmaya neden olmaktadır. Ayrıca, dolgulu kolonlarda kısa geçiş, ölü bölgeler ve kanallaşma gibi fiziksel olaylar, piston akıştan sapmaya yol açmaktadır (Levenspiel 1972). Gerçek reaktörlerdeki idealden sapma, KSD analizindeki uyarı-cevap tekniği ile tespit edilebilmektedir. Uyarı-cevap deneyleri, reaktöre izleyici girişi ve reaktör çıkış akımındaki izleyici analizine dayanmaktadır. Elde edilen cevap eğrisinin,seçilen uygun bir akış modeli ile değerlendirilmesiyle, idealden sapmanın bir göstergesi olan Peclet sayısı hesaplanır.

Biyokimyasal tepkimeler genellikle yavaş tepkimeler oldukları için sürekli sistemlerde kimyasal tepkimeli sistemlere göre daha yüksek kalma süresine dolayısıyla düşük gaz ve sıvı besleme hızına sahiptirler. Fermentasyon sistemlerinde sıvı kalma süresi genellikle 0.5-20 h (Godia et al 1987; Gülşen and Mehmetoğlu 1988, Kristiansen and Sinclair 1979) ve gaz akış hızı 0.5 - 3.0 L/L/min (Seiskari et al. 1985; Dawson et al 1989) arasında değişmektedir.

Literatür incelendiğinde dolgulu kolon reaktörlerde idealden sapmanın daha çok kimyasal tepkime koşullarındaki sistemler için incelendiği görülmüştür. Burada daha yüksek gaz ve sıvı akış hızı üzerinde çalışılmaktadır (Ostergaard and Michelsen 1969,

Stiegel and Shah 1977, Cassanello et al. 1992). Dolayısıyla geliştirilen Peclet sayısı ve sıvı hold-up korelasyonları da bu akış hızı aralığında geçerli olmaktadır.

Dolgulu kolon biyoreaktörlerin idealden sapması ve reaktör modelleri üzerine gerçekleştirilen çalışmaların çoğu etanol fermentasyonu içindir.

Swaine and Daugulis (1989), iyon değiştirici reçinelere tutuklanmış *S. cerevisiae* ve *Zymomonas mobilis* mikroorganizmalarıyla etanol üretimi varlığında dolgulu kolon biyoreaktörde KSD deneylerini gerçekleştirmişlerdir. Çalışmada farklı seyrelme hızlarında bulunan tank sayıları verilmiş, CO₂ çıkışının çok fazla geri karışmaya neden olduğu belirtilmiştir.

Ching and Ho (1984), tutuklanmış glukoz izomeraz enzimi ile glukozun fruktoza dönüşümü tepkimesinin olduğu iki fazlı dolgulu kolon biyoreaktörün modellenmesini gerçekleştirmişlerdir. Tutuklanmış enzim dolgulu yatak biyoreaktör için eksenel dağılmalı piston akış modelinin uygun olduğu belirtilmiştir.

Hamamcı and Ryu (1987), tutuklanmış *Saccharomyces cerevisiae* mikroorganizması ile etanol üretiminin gerçekleştirildiği konik (tapered) dolgulu kolon biyoreaktörün performansını inceleyerek reaktörün modellenmesini gerçekleştirmişlerdir. Peclet sayısının düşük sıvı akış hızlarında sıvı hızından fazla etkilenmediğini, 0.03 m/s'den daha yüksek sıvı hızlarında bu değerin azaldığını belirtmişlerdir. Eksenel dağılmalı piston akış modelin kullanıldığı çalışmada model sonuçlarıyla deney sonuçlarının iyi bir uyum sağladığı gösterilmiştir.

Chithra and Baradarajan (1990), çalışmalarında dolgulu kolon biyoreaktör performansının matematiksel analizini gerçekleştirmiştir. Reaktör modeli yazılarak farklı Peclet sayıları için çözümü yapılmıştır. Reaktör performansının, her iki tepkime için de tanecik içi ve tanecik dışı difüzyon ve eksenel dağılımdan etkilendiği belirtilmiştir. Benzer şekilde Iliuta (1997), fenolün biyolojik bozunması tepkimesinin gerçekleştirildiği dolgulu kolon biyoreaktör performansının reaktör hidrodinamiğine ve tanecik arası aktarıma büyük ölçüde bağlı olduğunu belirtmektedir.

Görüldüğü gibi literatürde dolgulu kolon biyoreaktörde sitrik asit üretiminin modellenmesi, reaktör hidrodinamiğinin incelenmesi üzerine bir çalışmayla karşılaşılmamıştır. Son yıllarda tutuklanmış mikroorganizma ile sitrik asit üretimi oldukça önem kazanmaktadır. Tutuklanmış mikroorganizma ile dolgulu kolonda sitrik asit

üretimi, verimliliği arttırdığından alternatif proses olarak görülmektedir. Dolgulu kolonda tutuklanmış *Aspergillus niger* ile sitrik asit üretimindeki en önemli problem fungusa oksijen aktarımının zorluğudur. Yapılan çalışmalar sonucunda *A.niger*'ın çoğalma fazında oksijen gereksiniminin daha fazla olduğu sitrik asit üretimi fazında oksijen kısıtlamasının olmadığı görülmüştür. Bu çalışmada, tutuklanmış mikroorganizmalarda hücrelerin çoğalması karıştırılmalı, oksijene göre sürekli biyoreaktörde ön aktivasyon işlemiyle sağlanmıştır. Dolgulu kolonda aktifleştirilmiş mikroorganizma ile sitrik asit üretiminde saf oksijen kullanılarak oksijen aktarımının kısıtlamalı olmadığı kabul edilmiştir.

Dolgulu kolon biyoreaktörde hidrodinamik koşulların belirlenmesi reaktör tasarım parametrelerinin belirlenmesi için büyük önem taşımaktadır.

Bu doktora çalışmasında, bir aerobik fermentasyon olan sitrik asit üretimi tutuklanmış *Aspergillus niger* mikroorganizmasıyla dolgulu kolon biyoreaktörde gerçekleştirilerek reaktör performansı incelenmiştir.

Literatürde, sitrik asit üretimi için farklı üretim ortamlarının, farklı pH değerlerinin bulunduğu, pellet üzerinde miselleşmenin hala sorun olduğu görülmüştür. Bu nedenle, bu çalışmada, sitrik asit üretimi üzerine ön çalışmalar yapılmıştır. Sitrik asit üretim ortamına karar vermek için ortam modifikasyonu gerçekleştirilip serbest mikroorganizma ile sitrik asit üretimine pH etkisi incelenmiştir. Tutuklanmış *Aspergillus niger* mikroorganizması ile ön aktivasyon süresinin mikroorganizma üretimine etkisi ve ön aktivasyon ortamındaki azot kaynağı derişiminin sitrik asit üretimi üzerine etkisi incelenmiştir. Tutuklanmış ve aktifleştirilmiş pelletlerle sitrik asit üretimine azot derişiminin, oksijen ve hava kullanımının, oksijen akış hızının, sakkaroz başlangıç derişiminin etkisi incelenmiştir. Yine tutuklanmış mikroorganizma ile sitrik asit üretiminin gözlenen kinetiği incelenmiş kinetik modeli tespit edilerek kinetik sabitleri bulunmuştur.

Ayrıca bu çalışmada dolgulu kolon biyoreaktörün modellenmesi sağlanarak, bu modeldeki eksenel dağılım katsayısı ve sıvı hold-up'ı belirlemek için, dolgulu kolon biyoreaktörde farklı sıvı ve gaz hızlarında ve farklı tanecik/reaktör çapı oranlarında, abiyotik olarak kalma süresi dağılımı analizleri yapılmıştır.

Kalma süresi dağılımı analizleri sonuçları zaman alanında uygunlaştırma (time-domain fit) yöntemi ile değerlendirilmiştir. Bulunan Peclet sayıları kullanılarak, Bodenstein sayısına (tanecik Peclet sayısı), gaz faz Reynold sayısına ve tanecik

apı/reaktör çapı (d_p/D_c) oranına bağlayan korelasyon geliştirilmiştir. Ayrıca sıvı hold-up ile sıvı faz Reynold sayısı ve tanecik çapı/reaktör çapı (d_p/D_c) oranı arasında da korelasyon geliştirilmiştir.

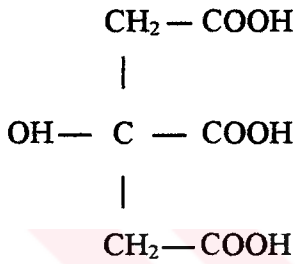
Dolgulu kolon biyoreaktörün modellenmesi sonucunda elde edilen ikinci mertebeden lineer olmayan diferansiyel denklem ile üçüncü mertebeden cebirsel denklem bu hidrodinamik parametreler geliştirilen korelasyonlardan hesaplanarak düzenlenmiştir. Böylece elde edilen denklemler Danckwerts sınır koşulu ile eşanlı olarak bilgisayar programları ile çözülmüştür. Dolgulu kolonda tutuklanmış mikroorganizma ile sitrik asit üretimi, farklı sakkaroz derişimlerinde ve farklı sıvı akış hızlarında gerçekleştirilmiş, kolon boyunca alınan örneklerle model çözümlünden bulunan sonuçlar karşılaştırılmıştır.



2.KURAMSAL TEMELLER VE KAYNAK ARAŞTIRMASI

2.1. Sitrik Asitin Özellikleri

Sitrik asit (2-hidroksi-1,2,3, propanatri karboksilik asit), bitki ve hayvanların bilinen metabolitleri olan doğal bir bileşiktir. Aşağıda açık formülü verilen sitrik asit; gıda, içecek ve ilaç sanayiinde geniş olarak kullanılan çok yönlü bir bileşiktir.



İlk olarak 1784 yılında, Scheele limon suyundan sitrik asiti izole etmiştir. 1893 yılında Wehmer, fungusları şeker çözeltisinde çoğaldıktan sonra sitrik asit ürettiklerini göstermiştir. Günümüzde, mikrobial fermentasyonla ticari olarak sitrik asit üreti üzerine çalışmalar geliştirilmektedir.

2.1.1.Fiziksel özellikleri

Sitrik asit, susuz, sıcak çözeltisinden elde edilen kristalleri yarı şeffaf, renksiz veya beyaz kristal tozları halindedir. Sitrik asit nemli havada eriyebilir. Bazı fiziksel özellikleri Çizelge 2.1’de verilmiştir.

Sitrik asitin sulu çözeltileri değerli tampon çözeltilerdir. Çünkü sitrik asit zayıf asit olması ve üç karboksilik grubunun olmasından dolayı üç pK’ya sahiptir. Bunlar; 20 °C’da $pK_1=3.14$, $pK_2= 4.77$ ve $pK_3= 6.39$. Sitrat çözeltisinin tampon aralığı 2.5 ile 6.5 arasındadır. Tampon çözeltisi olarak sitrik asit ve sodyum sitrat kullanılır.

Çizelge 2.1. Sitrik asitin fiziksel özellikleri

Özellik	Değer
Molekül formülü	$C_6 H_8 O_7$
Molekül ağırlığı	192.13
Gram eşdeğer ağırlığı	64.04
Erime noktası, °C	153
Isıl bozulma sıcaklığı, °C	175
Yoğunluğu, g/mL	1.665

2.1.2. Kimyasal özellikleri

Sitrik asit 175 °C'nin üzerinde ısıtılırsa akonitik asit, sitrakonik asit, itakonik asit, aseton dikarboksilik asit, karbon dioksit ve suya parçalanır.

Sitrik asit, peroksitler, hipoklorit, persülfat, permanganant, periyodat, hipobromit, kromat, mangan dioksit ve nitrik asit gibi okside edici farklı maddelerin varlığında kolaylıkla okside olabilir. Sitrik asitin hidrojenasyona uğrayarak ile 1,2,3- propanetri karboksilik asit oluşur.

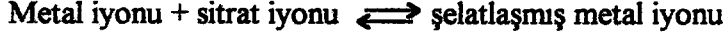
Sitrik asit, alkaliler, amonyak ve aminler gibi katyonlarla mono-, di- ve tribasik tuzları oluşturur. Uygun bir baz kullanılarak sitrik asitin sudaki çözeltisiyle direkt nötralleşme tepkimesiyle aşağıdaki denkleme göre tuzları elde edilebilir.

Trisodyum sitrat, sitrik asitin diğer tuzlarına göre, geniş olarak kullanılan tuzudur. Nötralleşme reaksiyonu oldukça yüksek ekzotermik bir reaksiyondur (1109 J/g sitrik asit).

Sitrik asit, çok değerlikli metal iyonları ile şelatları oluşturacak pek çok kompleksler verirler. Bu önemli özelliğinden dolayı, sitrik asit veya sitratlar metal bulaşmasının kontrolünde kullanılır.

Metal iyonu normalde renkli olup; sitrat varlığında ise, renksiz veya çok az renklidir. Farklı pH koşullarında metal hidroksitler çökebilir; sitrat kompleksi çözünebilir. Metal iyonları varlığında, organik moleküller katalitik olarak bozunabilir; sitrik asit ile metal iyonları şelat oluşturarak kararlı kalabilir.

Şelat bir denge reaksiyonudur. Daima, şelat iyonlarıyla birlikte serbest halde metal iyonları da bulunabilir.



Sitrik asitin sulu çözeltisi karbon çeliklerine orta derecede korozyon etkisi gösterir. Genellikle, cam, fiberglas, polietilen, polipropilen, polivinil klorür ve çapraz bağlı vinil klorür gibi plastikler sitrik asitle korozyona uğramazlar.

Sitrik asit, bitki ve hayvan dokularında geniş olarak bulunur. Sitrik asit, bütün organizmalarda, Krebs çevrimiyle oluşur. Trikarboksilik asit çevrimi veya sitrik asit çevrimi, karbonhidratların, yağların veya proteinlerin suya dönüşümünü içerir. Bu çevrim, organizmanın büyümesi, hareket etmesi, kemosentezi ve yenilenmesi için, gerekli enerjiyi sağlar. Aynı zamanda bu çevrim hücre sentezindeki amino asit ve yağlar gibi karbon içeren maddelerin sentezini de sağlar. Bir çok maya, mantar ve bakteri türü sitrik asit çevrimini içerir. Sitrik asit üretim prosesinde bunlardan maksimum ürün verecek türleri seçilir. Bu temele dayanarak, günümüzde sitrik asit üretmek için, ticari fermantasyon prosesleri geliştirilmektedir.

2.2. Sitrik Asit Üretimi

Sitrik asit, tarihte, ilk defa limon suyundan kristallendirilerek; daha sonra, mikrobiyal olarak elde edilmiştir.

Sitrik asitin ticari olarak mikrobiyal üretimi, 1923 yıllarında başlamıştır. Mikrobiyal üretim şeker ve tuz çözeltisinin yüzeyinde, *Aspergillus niger* mikroorganizması kullanılarak gerçekleştirilmiştir (Kirk and Othmer 1993).

Sitrik asit fermantasyon prosesinde üç temel teknik vardır.

- a. *Penicillium* ve *Aspergillus* 'un sabit veya yüzey kültürü;
- b. Sıvı kültürü (1930) *A.niger*
- c. Katı tabaka kültürü, sürekli kültür, çok-basamaklı

a. Yüzey kültürü

Şeker içeren steril ortam, çelik veya aliminyum tepsilere dökülerek özel odalara yerleştirilir. Bu odalar, sıcaklık kontrollü, nemli ve hava sirkülasyonludur. Çoğaltılmış *A.niger* sporları ortama aşılanır ve 28-30 °C sıcaklık, %40-60 nemde 8-12 gün bekletilir. Organizma çoğalır, bütün yüzeyi kaplar ve ortam asidikleşmeye başlar. Fermentasyon sonunda ortam pH'ı ölçülür, sıvı boşaltılır ve sitrik asit kristallendirilir. Miseller taze ortama eklenerek tekrar kullanılır.

Yüzey prosesleri çok eski prosesler olmasına rağmen, hala kullanılmaktadır. Bunların yerini sıvı üretim prosesleri almaktadır.

b. Sıvı üretim prosesleri

Bu ana prostestir. Fermentörlerde aşılama yapılarak, karıştırma hızı ve havalanma hızı kontrol edilir. Fermantasyon süresi 25-30°C sıcaklıkta 3-5 güne kadar düşer. Fermantasyondan sonra, sitrik asit ekstraksiyonu için sıvı boşaltılır; misel tekrar kullanılabilir.

Bu metot iki basamaklı prostestir. Bu proste, önce sporlar çoğalma ortamına aşılanır. 3-4 gün sonra miseller ayrılır ve üretim ortamına eklenir. 25-30°C'da oksijen gönderilir ve 3-4 gün sonra sitrik asit ekstrakte edilir.

c. Katı hal fermantasyonu

Bu proses ilk olarak 1935 Chan tarafından bulunmuştur. Uygulaması güç olduğundan endüstriye uygulanmamıştır.

Fermantasyon ortamı, uygun oranda şeker kamışı melası, patetes veya et püresi gibi gözenekli katı materyale tutturulur. Daha sonra spor süspansiyonu aşılanır. Karışım, tepsilere 25-30 °C'da 6-7 gün inkübe edildikten sonra su ile ekstrakte edilerek deriştilir ve sitrik asit ekstrakte edilir.

Yarı kesikli, sürekli ve çok basamaklı prosesler patentlidir ve tüm detayı bilinmez.

2.3. Sitrik asit üretimindeki kültür şartları

a. Makro bileşenler

Kültür şartları mikroorganizmanın türünden türüne değişir. Bu yüzden, belli türe göre en iyi substratı belirlemek çok önemlidir. En iyi sitrik asit üretimi basit sentetik ortamda olur. Kompleks ortamdaki verim, metaller ve diğer komponentlerin etkisinden

dolayı genellikle düşüktür. Karbon kaynağı olarak glukoz, sukroz, melas, şeker kamışı suyu, nişasta, şeker kamışı kullanılır.

A.niger'den sitrik asit ve diğer organik asitlerin üretiminde başlangıç şeker derişimi verimi çok etkiler. Genellikle *A.niger*, yüksek başlangıç şeker derişimi (%15-18) ister. Düşük derişimlerde okzalik asit oluşur ve sitrik asit verimi düşer. Yüksek derişimlerde, artık şeker derişimi de yüksek olur ve proses daha az ekonomik olur.

Melas %50-60 sukkaroz içerir. Siyah şurup ve rafineri gibi farklı tipte melaslar vardır. Melas kullanımının dezavantajı, melasın yüksek kül (ash) oranına sahip olması; bununda, sitrik asit üretimini inhibe etmesidir. Melas %15-20 oranında seyreltilir ve H_2SO_4 ilavesiyle pH=5,5-6,5'e ayarlanır. Diğer temel besinler eklenir ve ortam 30 dk. steril edilir. Metallerden ayırmak için, genellikle iyon değıştirici reçinelerden geçirilerek ön işleme tabi tutulur.

A.niger ile sitrik asit üretim, çoğalma ve üretim basamaklarını içerir. Özellikle ortamda bulunan azot, fosfat, kükürt ve farklı eser elementler sitrik asit verimini etkiler. İnorganik azot kaynağı olarak, genellikle, $(NH_4)_2SO_4$, NH_4NO_3 , $NaNO_3$, KNO_3 ve üre kullanılır. Fakat, azot kaynağının türü ve derişimi çok önemlidir. $(NH_4)_2SO_4$ çoğalmayı uzatırken, NH_4NO_3 bu çoğalma periyodunu kısaltır. Ancak, NH_4NO_3 %0.25'den daha yüksek olduğunda okzalik asit oluşumu gerçekleşir. Genellikle yüksek azot kaynağı derişimi çoğalma periyodunu uzatır ve üretim başlangıcını geciktirir. *A.niger* ile sitrik asit üretiminde, KNO_3 ve $NaNO_3$, NH_4NO_3 den çok daha etkilidir.

Ortamdaki fosfat derişimi de sitrik asit oluşum miktarını etkiler. Yüksek derişimleri çoğalmayı artırırken asit üretimini düşürür. Genellikle fosfat derişimi %0,1-0,2 arasında kullanılır. Fosfat kısıtlamasının sitrik asit üretimini uyardığı belirtilmektedir (Marison 1983).

b. Eser elementler

A.niger çoğalması ve sitrik asit üretimi için iki değerlikli katyonlara ihtiyacı vardır (Fe^{+2} , Cu^{+2} , Mn^{+2} ve Mg^{+2}). Bu metal iyonlarının derişimleri belki de sitrik asit verimini etkileyen tek önemli faktördür. Mg^{+2} kinazlar gibi, hem çoğalmayı hem de sitrik asit üretimini uyaran enzim reaksiyonları için gereklidir. Maksimum sitrik asit üretimi için, optimum derişimi %0.02-0.025 'dir. Fe^{+2} ve Zn^{+2} fermantasyon verimliliğini belirlemede önemli rol oynar. Optimum derişim türden türe değışir. Fakat, genellikle, çoğalmayı

uyarmak için derişimi küçük tutulmalıdır. Melas içeren sıvı ortamda *A.niger* ile sitrik asit üretiminde başlangıç Fe^{+2} derişimi 0,2 ppm'den düşük olmalıdır. Fakat, 0,1-500 ppm Cu^{+2} iyonlarının aşılama sırasında veya fermentasyonun ilk 50 saatinde eklenmesi Fe^{+2} 'nın inhibitör etkisini kaldırdığı bulunmuştur. Zn^{+2} derişimi 1-2 ppm olduğunda çoğalma fazı uyarılır. Buna karşın, 1ppm'den daha az olduğunda sitrik asit üretimi uyarılır. Üretim fazı sırasında Zn^{+2} eklenmesi çoğalmayı etkilemez ve sitrik asit üretimini inhibe eder. Bu yüzden Zn^{+2} 'nin çoğalma ve üretimin düzenlenmesinde önemli rol oynadığı kabul edilmiştir. Zn^{+2} 'nin tükenmesi, çoğalma fazından üretim fazına geçtiğinin sinyallerini verir. Zn^{+2} ilavesi üretimi geciktirmektedir. Ba^{+2} , Al^{+3} vd. gibi diğer eser elementler de üretimde önemli rol oynamaktadır. Fakat onların etkilerinin neler olduğu anlaşılmamıştır.

c. Aşılama

Fermentasyon ortamına aşılama, ya sporla ya da miselle yapılabilir. Eğer spor kullanılacaksa, % 0,1 Tween 80 ile, sporlanmış kültürden taze spor çözeltileri alınır ve başlangıç derişimi 10^5 - 10^7 spor/ml olacak şekilde fermentöre verilir. Eğer misel pelletleri fermentöre aşılama kullanılacaksa, sporlar önce taze ortamda 2-3 gün çoğaltılır ve daha büyük fermentöre aşılanır. Spor yaşı önemlidir. 7-8 günden daha yaşlıların çoğalması zayıf olur ve sitrik asit verimini düşürür.

d. Havalandırma ve karıştırma

Sitrik asit aerobik (havalı) fermentasyon ile üretildiğinden, ortamda uygun miktarda oksijene ihtiyaç vardır. Karıştırma derecesi ve havalandırma, organizmaya, fermentör büyüklüğüne ve ortama bağlıdır. Genellikle, oksijene bağlı kültürlerde, gaz fazdan kültür ortamına aktarılan oksijenden daha fazlasına ihtiyacı olduğu kabul edilir.

Havalandırmada şu üç yöntem önerilebilmektedir:

1. Yüzey üretiminde, statik kültürün yüzeyinden O_2 difüzyonu.
2. O_2 ile zenginleştirilmiş hava veya sisteme hava gönderilmesiyle havalandırma.
3. Kültürlerde (endüstriyel skalada kullanılmaz) yüzey ve daldırılmış havalandırma karışımıyla.

Yüzeyden havalandırmalı sistemlerde difüzyon hızı, sitrik asit üretimini kısıtlar. O_2 ile zenginleştirilmiş havanın yüzey üzerinden üflenmesi verimliliği artırabilir.

Sıvı kültürlerinde hem hava hem de O₂ ile zenginleştirilmiş hava karıştırma ile uygulanabilir. Fakat, O₂ kullanıldığında maliyet artmaktadır, çıkış gazını geri döndürmeye ihtiyaç vardır. O₂ sadece çoğalmak için değil, sitrik asit oluşumu için de gereklidir.

Sitrik asit üretimi için optimum sıcaklık 25-30 °C arasındadır. Yüksek sıcaklıkta çoğalma yavaşlar ve okzalik asit üretimi uyarılır.

e. Katkı maddeleri

A. niger ile sitrik asit üretimini uyaran farklı bileşikler vardır. bunların en önemlisi metanol, daha az etkilisi ise etanoldur. Aşlamadan önce ortalama %3-4 oranında metanol eklenmesi, çoğalmayı geriletir spor oluşumunu engeller ve sitrik asit verimini artırır. Metanolün, fungusun Fe⁺², Zn⁺² ve Mn⁺² 'ye karşı toleransını artırdığı düşünülmektedir, hücre geçirgenliğini artırarak sitrik asit oluşumunu artırır.

CaF, NaF ve KF gibi metabolizmada kullanılmayan bileşiklerin 10⁻⁴ M oranında eklenmesinin, çoğalmayı inhibe ederek sitrik asit üretimini uyardığı gösterilmiştir.

Siklik AMP'nin sitrik asit üretimini uyardığı belirtilmektedir. Ortamda CAMP derişimi 10⁻⁶ M 'den daha fazla olduğunda *A. niger* yüksek verimlilik gösterir. ATP, GTP ve Adenosin 10⁻⁴ M'nin üzerinde olduğunda üretimi uyarırken AMP, GMP ve guanosin ya etkilemez ya da verimliliği inhibe eder (Marison 1983).

2.4. Sitrik Asitin Geri Kazanılması

Sitrik asit fermantasyon çözeltisi biyokütleden, santrifüj veya filtrasyon ile ayrılır. Sitrik asit ise, genellikle, ya kalsiyum hidroksit (lime)-sülfirik asit metodu veya sıvı ekstraksiyon metoduyla ayrılır.

a. Kalsiyum hidroksit -sülfirik asit metodu

Kimyasal sistemlerde olduğu gibi, bu metot da, mühendislik temelleri ayırma teknikleri ve temel işlemleri içeren, kompleks ticari bir sistemdir. Bu metotta, çözünmeyen biyokütleden ayrılan fermantasyon çözeltisi kalsiyum hidroksit ile muamele edilir ve kalsiyum sitrat halinde çöktürülür. Belli bir süreden sonra, kalsiyum sitrat filtreden süzülür ve filtre edilmiş kek yıkanarak çözünen safsızlıklardan ayrılır. Temiz kalsiyum sitrat keki tekrar sıvı ortama alınır ve sülfirik asit ile asitlendirilerek sitrik asite

dönüştürülür ve kalsiyum sülfat çöker. Hem kalsiyum sitrat, hem de kalsiyum sülfat reaksiyonları karıştırmalı reaktörlerde gerçekleştirilir.

Sitrik asit çözeltisi, eser miktardaki kalsiyum, demir ve katyonik safsızlıklardan arındırmak için, deiyonize edilir ve kristallendirilir. Sulu sitrik asit çözeltisi, bir seri kristalizasyon basamaklarıyla kalan safsızlıklardan, fiziksel ayırmayla ayrılır.

Son olarak, sitrik asit kurutulur ve sınıflandırılır. Çünkü, susuz sitrik asit çok hidroskopiktir; bu nedenle, yüksek sıcaklık ve yüksek nem alanlarında korumak için, depolanması ve paketlenmesi önem arz etmektedir.

b.Sıvı-sıvı ekstraksiyonu

Bu geri kazanma prosesi 1970'li yıllarda gerçekleştirilmiştir. Sitrik asit fermentasyon ortamından trilaurilamin, n-oktanol ve C_{10} veya C_{11} hidrokarbonların karışımıyla ekstrakte edilir. Bunu, çözücü fazdan su fazına sitrik asitin tekrar ekstraksiyon basamağı takip eder. Sitrik asit, çözücü faza tamamen alındıktan sonra, çok basamaklı zıt akımlı sistem kullanılarak tekrar ekstraksiyon işlemiyle suya alınır. Bu iki basamak da farklı sıcaklıklarda gerçekleştirilir.

Prosesin son basamağında, sulu sitrik asit çözeltisi hidrokarbon çözeltisiyle yıkanır ve aktif karbon kolonundan geçirilir. Karbon kolonundan çıkan akım, buharlaştırıcı, kristalizasyon, kurutma ve paketlenme basamaklarından geçirilerek proses tamamlanır.

2.5. Sitrik Asitin Depolanması

Sitrik asit kristalleri yüksek nem ve sıcaklıktan korunacak şekilde kuru halde depolanmalıdır. Nemli hava ile teması kesmek için, içinde bulunduğu kapların çok sıkı şekilde kapatılması gerekir. Büyük taneciklerin kek oluşturma eğilimleri daha zor olduğu için, sitrik asitin granüller hali ticari olarak daha uygundur.

Sıvı sitrik asit, ticari olarak farklı derişimlerde bulunmakta olup; en çok bulunanı %50 w/w'dir. Sınıflandırılması, görünüşüne, saflığına ve rengine göre yapılır. Kristallenmeyi önlemek için, sıvı sitrik asit, 0°C'nin üzerinde tutulur.

Sitrik asit çözeltisi normal betona, aliminyuma, karbon çeliğine, bakıra, bakır alaşımlarına karşı koroziftir. Ayrıca, polikarbonatlar, poliamidler veya akrilikler de kullanılmamalıdır.

Borular, tanklar, ve pompalar için önerilen metaryeller 316 (stainles steel) çelik, fiber glas ile zenginleştirilmiş poliester, polietilen, polipropilen ve poli vinil klorürdür. Yüksek sıcaklıkta 304 (stainles steel) önerilmez.

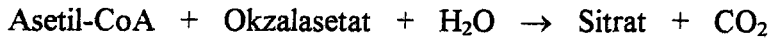
Sitrik asit kadar sitrik asitin sodyum, potasyum tuzları da koroziftir. Korozyon problemlerinden sakınmak için, sitrik asitte kullanılan aynı tip cihazlar kullanılır.

2.6. Sitrik Asit Fertasyonunun Biyokimyası

Sitrik asit bütün organizmalarda Krebs çevrimi olarak adlandırılan trikarboksilik (TCA) çevriminde (Şekil 2.1) karbonhidratların, yağların veya proteinlerin dönüşümü ile üretilir (Kirk and Othmer 1993). Organizmalarda bu karbon kaynakları EMP veya PP çevrimi ile piruvata dönüşür. TCA çevriminde ilk olarak piruvat CO₂ kaybederek asetil-CoA'ya oksitlenir.

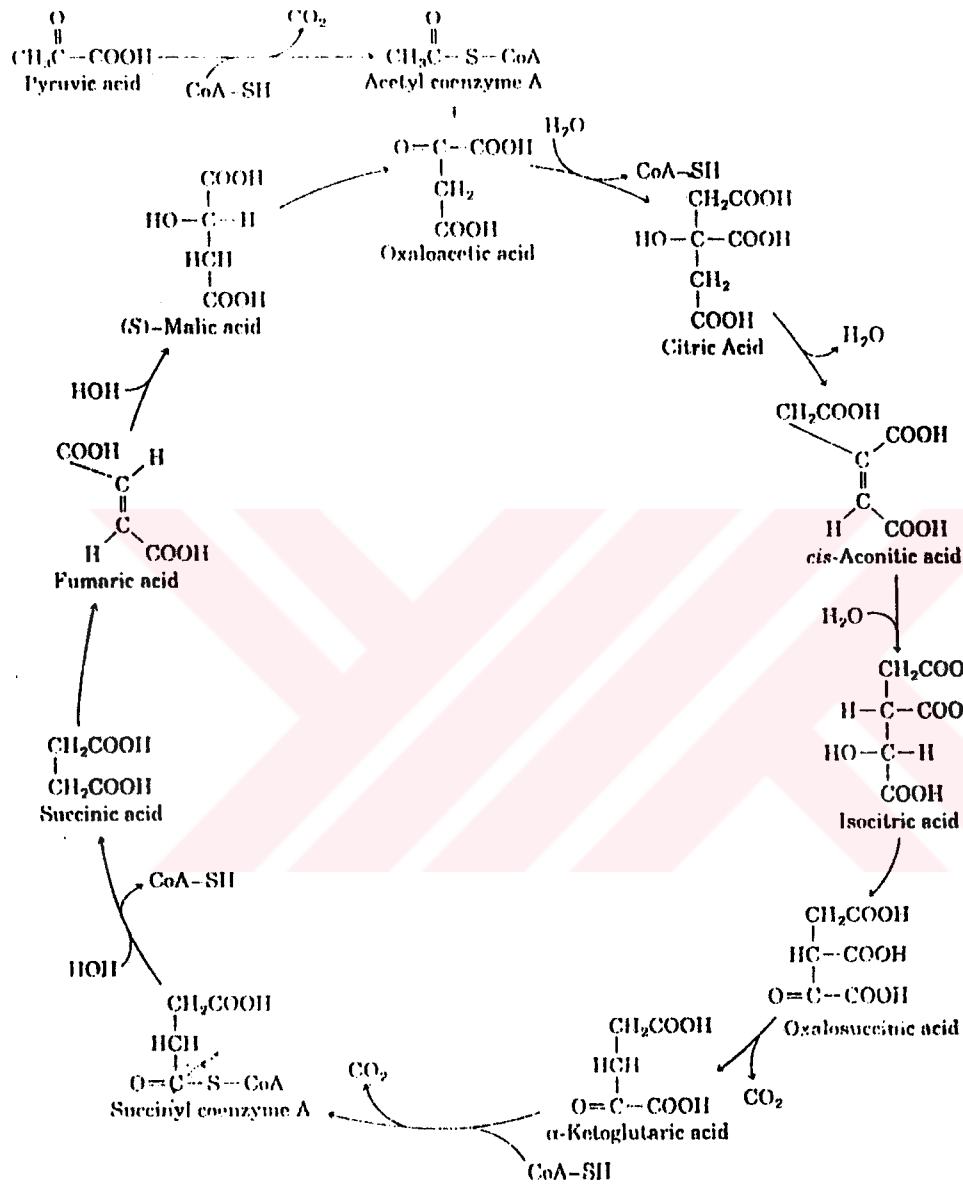


2 karbonlu asetil-CoA ile 4 karbonlu okzalasetat enzimatik olarak tepkimeye girer ve 6 karbonlu sitrat oluşur. Bu tepkime TCA da birincil kontrol noktasıdır (Lehninger 1975).

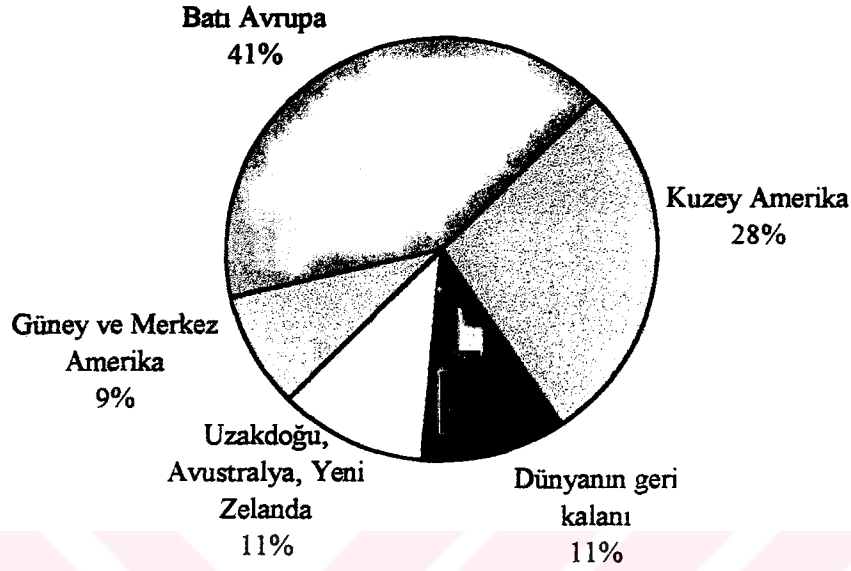


2.7. Sitrik Asitin Ekonomik Durumu

Sitrik asit 1990 yılı itibarıyla Dünya'da farklı 20 ülkede 550.000 ton kapasitede üretilmektedir (Şekil 2.2). Bu üretimin çoğu yiyecekler ve içecekler için kullanılır. Fakat, deterjanlar, metal temizlemeleri gibi endüstriyel uygulamalarda önemli hale gelmektedir.



Şekil 2.1. Tri karboksilik asit çevrimi (TCA) (Kirk and Othmer 1993)



Şekil 2.2. 1990'da dünyada sitrik asit üretimi (Kirk and Othmer 1993)

1990 yılında, ABD'de sitrik asit ve sitrat tuzu tüketiminin 152.000 ton olduğu tahmin edilmektedir. Sitrik asit bunun yaklaşık %90'nını oluşturmaktadır. Sitrit asit/sitrat kullanımı ve tarihlere göre dağılımı Çizelge 2.2'de verilmiştir.

Sitrik asitin 1992 sonundaki liste fiyatı yaklaşık 1.74 \$/kg, sodyum sitratın 1.75\$ /kg, potasyum sitratın ise 2.33 \$/kg'dır.

Sitrik asitin Türkiye'deki durumu Çizelge 2.3'de verilmiştir.

Çizelge 2.2 ABD'de Sitrik asit/sitrat'ın kullanım dağılımı (%)

Ürün	1990	1988	1986
İçecekler	45	43	44
Yiyecekler	21	20	22
İlaç ve Kozmetik Sanayi	8	8	8
Ev deterjanları ve Temizleme ürünleri	19	23	20
Yiyecek olmayan	7	6	6
Toplam yıllık tüketim	152000	148000	128000

Çizelge 2.3. Türkiye’de sitrik asitin ithalat ve ihracat durumu (İGM 1997)

Yıl	İhracat, Kg	İhracat, \$	İthalat, Kg	İhracat, \$
1994	63 065	135 697	3 652 704	4 123 575
1995	47 477	169 137	6 141 884	9 372 201
1996	368 249	464 128	7 175 715	13 507 743

2.8. Sitrik Asitin Sağlık, Güvenlik ve Çevre Şartları

Birleşmiş FAO/WHO Expert Committee on food additives tarafından, kısıtlamasız olarak, sitrik asitin gıdalarda kullanılması onaylanmıştır.

Sitrik asit ve Na-, K- tuzları, ABD gıda ve ilaç yönetimi (U.S. Food and Drug Administration) tarafından çok amaçlı gıda maddeleri olarak kabul edilmiştir.

Testler sitrik asitin deriye karşı korozyon etkisinin olmadığını göstermiştir. Fakat, deriyi ve gözü tahriş edicidir. Bu sebeplerden dolayı, direkt sitrik asit çözeltisi ve tozları kullanılacaksa, elleri, deriyi, gözleri, burunu ve ağzı korumak gerekmektedir.

Sitrik asit, doğal çevrede, organizma tarafından, aerobik ve anaerobik atık su işlemleri sırasında biyolojik olarak bozundurulabilir.

2.9. Sitrik Asitin Kullanım Alanları

Sitrik asitin farklı gıda alanlarında ve endüstriyel uygulamalarda kullanımı çok fazladır. pH ayarlamak için, bir asit olarak; pH’ı korumak ve kontrol etmek için, bir tampon olarak; çok değerlikli metal iyonları ile kararlı bir kompleks yapı verecek şelatör olarak; emülsiyonları ve diğer çok fazlı sistemleri kararlı kılmak için dağıtıcı madde (dispersing agent) olarak; ayrıca, gıdalarda ve içecek ürünlerinde tat verici olarak kullanılır.

Sitrik asit, sodyum sitrat ve potasyum sitrat karbonatlı ve karbonatsız içeceklerde geniş olarak kullanılır. Meyve suyu, düşük kalorili içecekler ve susuzluk giderici içeceklerde, tek başına ve/veya sitrat tuzlarıyla birlikte tat verici ve antimikrobiyal korumayı artırmak amacıyla kullanılır.

Sitrik asit şekerlere ekşilik vermek için eklenir. Şekerin invazyonunu önlemek ve maksimum jel dayanımını artırmak için, pektin jelli şekerlemelerde kullanılır. Taze sebzelerin enzimatik olarak kararmalarını önlemek için, sitrik asit ve askorbik asit karışımı kullanılır.

Oksidasyonu katalizleyen eser metallerle sitrik asitin şelat oluşturmamasından dolayı, gıdalardaki yağların oksidasyonu sitrik asit ilavesiyle önlenir. Pastörize prosesleri ve dilim peynirlerde, sodyum sitrat sudaki kararlılığını sağlamak için, emülsiyer tuz olarak kullanılır.

Sitrik asit ve diğer antioksidanlarla birlikte kullanılarak düşük pH'da mikrobiyal çoğalma önlenir. Böylece, diğer deniz ürünlerinin bozulmaları kötü koku ve renk oluşturmaları önlenir. Konserve et ürünlerinde antioksidanların etkinliğini artırmak için sitrik asit, genellikle kapsül halde kullanılır.

Sitrik asit ve sitrat tuzları ilaç sanayinde tampon olarak kullanılır. Köpüren ilaçlarda, aktif bileşiklerin çözünmesini kolaylaştırmak ve tadını artırmak için sitrik asit ve bikarbonat kullanılır. Katkı maddelerinin bozunmasını önlemede, metal iyonlarıyla şelat oluşturduğu için, sitratlar kullanılır. Kan fraksiyonlarının ve plazmadaki hayvan ve insan kanının kuagülasyonunu önlemek amacıyla, sitratlar kullanılır.

Sodyum sitrat sanayide, hem sıvı hem de toz deterjanlarda yapı maddesi olarak kullanılır. Pek çok deterjan uygulamalarında, sitratlar, çevresel uygunluğundan dolayı fosfatların yerine kullanılmaktadır. Sitratlar, hem yüksek ve düşük pH, hem de yüksek ve düşük sıcaklıkta, sudaki çözünürlüğünden ve performansından dolayı deterjanlarda anahtar rolü oynar.

Sitrik asit çözeltisi, selüloz ve diğer ters osmos membranlarında ve elektrodiyaliz sistemlerinde, demir, kalsiyum ve diğer katyonların giderilmesinde kullanılır.

Ayrıca, sitrik asit ve onun amonyum tuzları tarımsal alanda, sıvı gübrelerde, çinko, manganez, magnezyum, bakır ve demirin çözünebilir şelatlarını oluşturmak amacıyla kullanılır.

Sitrik asit, maden, kaya, kil ve boyar madde çamurlarının arıtılma ve taşınma işlemlerinde, dağıtıcı madde olarak kullanılır. Sitrik asit killerin şişmesini kontrol eder. Ayrıca, sitrik asit, tekstil, plastikler, kağıt, tütün, ve kozmetiklerin yapımında kullanılır (Kirk and Othmer 1993).

2.10.İdeal Olmayan Akış

Reaktörler iki ideal akış şekline göre modellenmektedir. Bunlar, piston akış ve tam karışmalı akış. Gerçek reaktörlerde bu iki uç halden sapma olmaktadır. Bu saplamalar akışlardaki kanallaşmalar, akışların geri dönmesi, kısa geçişler veya tank reaktörlerde ölü bölgelerin oluşması sonucunda meydana gelebilir. Isı değiştiriciler, dolgu kolonlar gibi proses ekipmanlarının bütün çeşitlerinde bu tür akışlarla karşılaşılabilir, bu da o birimin performansının düşmesine neden olur. Genellikle ölçek büyütmede ideal olmayan akış kontrol edilmeyen faktördür ve birimin büyüklüğüne göre çok farklıdır. Dolayısıyla bu faktör tasarımı büyük hatalara yol açabilir. (Levenspiel 1972). Reaktörlerde ideal olmayan akış kalma süresi dağılımı (KSD) ile belirlenir.

Kimyasal reaktörlerin performansının belirlenmesinde kalma süresi dağılımının kullanılması fikri ilk olarak Mac Mullin ve Weber tarafından önerilmiştir. Fakat 1950'lere kadar kullanıldığı görülmemiştir (Fogler 1992). P.V. Danckwerts'in dağılımları belirlemede yapısal organizyon geliştirmiştir (Danckwerts 1953).

İdeal bir piston akışlı reaktörde bütün atomlar belli bir zaman diliminde reaktör içinde kalırlar. Atomların reaktör içinde harcadıkları bu zamana, reaktördeki atomların kalma süresi adı verilir. Kanallaşmalar, kısa geçişler ve ölü bölgeler gibi akış anormallikleri dolgu kolon reaktörlerin küçük skalalarında görülür. Yukarıya akışlı dolgu kolon reaktörlerde eğer gaz faz yatakta uniform olarak dağıtılmazsa çok fazla dağılmalar görülür. Katı taneciklerin gözenekliliği de KSD eğrileri üzerinde önemli bir etki gösterir. Gözenekli taneciklerde bir miktar sıvının tutulması KSD eğrilerinde kuyruklanmaya yol açar. Bu nedenle KSD deneylerinde kullanılan dolgunun yapısıyla gerçek reaktörlerde kullanılan dolgunun yapısının aynı olması önemlidir (Shah 1979).

2.11.Kalma Süresi Dağılımının Ölçülmesi

KSD deneysel olarak, izleyici adı verilen inert bir kimyasalın reaktöre $t=0$ anında verilip, daha sonra çıkış akımında izleyici derişimi, C_i 'nin ölçümüyle gerçekleştirilir. İzleyicinin inert olması yanısıra, kolay izlenebilir olması, reaksiyon ortamıyla benzer fiziksel özelliklere sahip olması, karışmada tamamen çözünebilmesi gereklidir.

Reaktördeki yüzeylerle ve duvarlarla adsorplanmamalıdır. Boyalar ve radyoaktif maddeler en çok bilinen izleyici türleridir.

İzleyici reaktöre pulse giriş veya basamak giriş şeklinde verilebilir. İzleyici veriş şekline göre E dağılımının hesaplanması farklı olmaktadır.

Pulse ve basamak izleyici girişlerinde E dağılımları sırasıyla aşağıda verilmektedir.

$$E(t) = \frac{C_i(t)}{\int_0^{\infty} C_i(t) dt} \quad (2.1)$$

$$E(t) = \frac{d}{dt} \left[\frac{C_i(t)}{C_{i0}} \right]_{\text{basamak}} \quad (2.2)$$

2.12. Ortalama Kalma Süresi

Ortalama kalma süresi, $\bar{t}$, KSD fonksiyonu $E(t)$ 'nin birinci momentine eşittir. Böylece ortalama kalma süresi aşağıdaki denklemlerle verilebilir.

$$\bar{t} = \frac{\int_0^{\infty} tE(t) dt}{\int_0^{\infty} E(t) dt} = \int_0^{\infty} tE(t) dt \quad (2.3)$$

2.13. Kalma Süresi Dağılımının Diğer Momentleri

KSD'nin dağılımlarını karşılaştırmak amacıyla momentlerini kullanmak en çok bilinen yoldur. Bu amaçla üç moment kullanılır. Birinci moment ortalama kalma süresini verir. İkinci moment aşağıda görüldüğü gibi varyansı veya standart sapmanın karesini bulmakta kullanılır.

$$\sigma^2 = \frac{\int_0^{\infty} C_i(t) t^2 dt}{\int_0^{\infty} C_i(t) dt} - \bar{t}^2 = \int_0^{\infty} (t - \bar{t})^2 E(t) dt \quad (2.4)$$

Bu moment miktarı dağılmanın yaygınlığını gösterir; momentin büyük değerleri, büyük yaygınlığı ifade eder.

Üçüncü moment eğrilikle (skewness) ilgilidir. Eğrilik aşağıdaki şekilde belirlenir.

$$\mu^3 = \frac{1}{\sigma^{\frac{3}{2}}} \int_0^{\infty} (t - \bar{t})^3 E(t) dt \quad (2.5)$$

Bu moment miktarı, ortalama bir referansa göre bir yöndeki dağılmanın eğrilik derecesini gösterir (Fogler 1992). Dağılmanın tam tarifi için bütün momentler belirlenmelidir. Pratikte, bir KSD'nin karakterizasyonu için üç moment yeterlidir (Levenspiel 1979).

2.14. Kalma Süresi Dağılımı Analizi ile Reaktörlerin Modellenmesi

Reaktörlerdeki makro karışmanın belirlenmesi için öncelikle kalma süresi dağılımı verilerinin elde edilmesi gereklidir. Çok fazlı reaktörlerde geri karışma özellikleri kantitatif olarak, her faz için bu verilerin uygun modellere uygunlaştırılmasıyla (fit) belirlenir. Geri karışma için geliştirilen modeller, diferansiyel ve basamak (stagewise) (seri tanklar modeli) modelleri olmak üzere iki ana gruba ayrılabilir. Diferansiyel modeller, diferansiyel denklemlerle, basamak modeller ise cebirsel denklemlerle tanımlanır.

Geri karışma parametrelerinin bulunmasında genellikle bu iki tip model arasında değişimler yapılır. Literatürde verilen makro karışma modellerinin çoğunu tek fazlı, gaz-katı ve sıvı-katı reaktör sistemleri için verilen modeller oluşturmaktadır. Burada üç fazlı dolgu kolon reaktörler için makro karışma modelleri içinde diferansiyel modeller incelenecektir.

Önerilen modeller kompleksliğine göre farklılıklar göstermektedir. En basit modeller, örneğin eksenel dağılım modeli KSD eğrilerinin değerlendirilmesinde tek

parametre içerir. Çok daha kompleks modeller, iki (çarpaz akım modeli, zaman gecikmeli model), üç (piston dağılmalı değişim modeli) veya dört parametre içeren modellerdir

2.14.1. Tek parametrelili aksenel dağılım modeli

Eksenel dağılım modelinde karışma derecesi, bir boyutlu Fick kanununun difüzyon denklemiyle bulunur. Bu denklemin orantı katsayısı aksenel dağılım katsayısını verir. Buradaki varsayım, gerçek mekanizma ne olursa olsun karışma proseslerinin Fick kanununun difüzyon denklemine uymasındır. Bu model basitliğinden dolayı çok kullanılmaktadır. Dağılım katsayısı, boyutsuz grup olan Peclet sayısında ($Pe = U L_c / D_z$) yer almaktadır. Burada, D_z aksenel dağılım katsayısı, U genellikle geri karışmanın olduğu düşünülen fazın (akışkan) hızı, L_c karakteristik uzunluk; slurry kolonlarda L_c hem kolon çapı hem de katı tanecik çapı olarak düşünülebilir. Dolgulu kolon için L_c genellikle karakteristik dolgu çapıdır. Bu durumda Peclet sayısı (Pe), Bodenstein sayısı (Bo) olarak ifade edilir. Pe 'nin (veya Bo) değeri karışma derecesini gösterir. $Pe=0$ ise tam karışma, $Pe=\infty$ ise piston akış hidrodinamiğini gösterir.

Çok fazlı reaktörler için geri karışma her fazda ayrı ayrı düşünülür. Gaz-sıvı reaktörde geri karışma derecesi her fazda farklı olacaktır. Örneğin üç fazlı akışkan yataklı reaktörde geri karışma, çok hızlı hareket eden gaz fazda, yavaş hareket eden sıvı fazdan belirgin derecede azdır. Küçük skalalı reaktörlerde gaz fazın piston akışta hareket ettiği kabul edilir. Birlikte yukarıya akışlı dolgulu kabarcık kolon reaktörde sıvı fazdaki karışmaya önemli ölçüde gaz faz neden olmaktadır. Geri karışma reaktör çapının artmasıyla artmaktadır. Kabarcık kolon reaktörlerin tasarlanmasında daima sıvı fazdaki geri karışmanın düşünülmesi gereklidir. Gaz-sıvı akışlı dolgulu kolon reaktörlerde sıvı fazdaki geri karışma derecesi genellikle akış rejimine, farklı fazların akış hızlarına, dolgu özelliklerine ve en fazla olarak da kolon büyüklüğüne bağlıdır. Geri karışma düşük sıvı hızlarında ayrıca önemli olabilir (Shah 1979).

Eksenel dağılım modeli bir boyutlu modeldir ve radyal dağılmayı ihmal eder.

Dolgulu kolon reaktörlerde pulse izleyici girişi için Levenspiel (1972), aksenel dağılım katsayısı ve Peclet sayısının, KSD eğrisi ve varyansından bulunabileceğini

göstermiştir. Fakat bu metod sistemin Pe 'nı bulmak için basit bir yaklaşımdır. KSD eğrisindeki kuyruklanma Pe 'nın değerlendirilmesinde önemli hatalara neden olur (Shah 1979). Michell and Furzer (1972) eksenel dağılım katsayısının bulunmasında önemli bir yaklaşım öne sürmüştür. Eksenel dağılım katsayısı, KSD verilerinin eksenel dağılım modeline uygun sınır koşullarında uygunlaştırılmasıyla (fit) bulunmuştur. Zaman alanında uygunlaştırma (time domain fit) için eksenel dağılım modeli aşağıdaki şekilde yazılmaktadır,

$$D_z \frac{\partial^2 C_i}{\partial z^2} - \frac{\partial(u_L C_i)}{\partial z} = \frac{\partial C_i}{\partial t} \quad (2.6)$$

Başlangıç, sınır koşulları ve (2.6) denkleminin çözümü aşağıdaki şekilde verilmektedir.

$$C_i(z, 0) = 0 \quad (2.7)$$

$$\lim_{t \rightarrow 0} C_i(z, t) = 0 \quad (2.8)$$

$$\lim_{t \rightarrow 0} \int_{-\infty}^{+\infty} C_i(z, t) A dz = M \quad (2.9)$$

$$C_i(z, t) = \frac{M}{A\sqrt{4\pi D_z t}} \exp\left[\frac{-(z - u_L t)^2}{4D_z t}\right] \quad (2.10)$$

Buradaki A akışkanın geçtiği kesit alan, u_L sıvının gerçek hızı (interstitial velocity) ve M ise eklenen izleyici kütlesidir. (2.10) denkleminde deneysel KSD verilerinin lineer olmayan regresyon ile uygunlaştırılmasından D_z bulunur (Michell and Furzer 1972).

(2.10) denklemini normalize zaman ve normalize E dağılımı cinsinden, dağılımın az olduğu sistemler için aşağıdaki şekilde verilmektedir (Levenspiel 1979).

$$E(\theta) = \frac{1}{\sqrt{4\pi 1/Pe}} \exp\left[\frac{-(1-\theta)^2}{4 1/Pe}\right] \quad (2.11)$$

Eksenel dağılım modelinin Laplace dönüşümünü içeren bir analiz ve lineer transfer fonksiyonunun geliştirilmesi Ostergaard ve Michelsen (1969) tarafından verilmiştir. Kolonda izleyici derişimi iki farklı noktada belirlenir. Bu metoda göre lineer sistem için transfer fonksiyonu aşağıdaki ilişkiden hesaplanabilir.

$$F(s) = \frac{\int_0^{\infty} C_2(t) \exp(-st) dt / \int_0^{\infty} C_2(t) dt}{\int_0^{\infty} C_1(t) \exp(-st) dt / \int_0^{\infty} C_1(t) dt} \quad (2.12)$$

Buradaki $F(s)$ eksenel dağılım modelinin Laplace dönüşümünden hesaplanır.

$$F(s) = \exp \left\{ \frac{Pe}{2} \left[1 - \sqrt{1 + \frac{4st}{Pe}} \right] \right\} \quad (2.13)$$

Denklem düzenlenirse,

$$\left[\log \left(\frac{1}{F(s)} \right) \right]^{-1} = ts \left[\log \left(\frac{1}{F(s)} \right) \right]^{-2} - \frac{1}{Pe} \quad (2.14)$$

$\left[\log \left(\frac{1}{F(s)} \right) \right]^{-1}$ 'e karşı $s \left[\log \left(\frac{1}{F(s)} \right) \right]^{-2}$ grafiğe geçirilirse bir doğru elde edilir. Eğim ve kaymadan ortalama kalma süresi t ve Peclet sayısı elde edilir. Bu yöntemde s aralığı önemli olmaktadır. s değerinin iki 2 ile 5 arasında olmasının uygun olduğu daha yüksek değerlerde kuyruklanma gibi hataların olduğu bildirilmektedir (Shah 1979).

2.14.2.İki parametrelili modifiye edilmiş karışmalı hücre modeli

Bu model, Deans and Lapidus'un tam karışmalı seri hücrelerin geliştirilmesiyle elde edilmiştir (Shah 1979). Modelde hücre içinde durgun ve akış bölgeleri kabul edilir.

Geri karışmadan dolayı durgun ve akış bölgeleri arasında kütle aktarımı oluşur. Hücrelerin sayısı çok alınarak model, kısmi diferansiyel denklemle ifade edilir.

$$(1-f)\frac{\partial C_d}{\partial t} + u_L \frac{\partial C_d}{\partial z} + K(C_d - C_s) = 0 \quad (2.15)$$

$$f \frac{\partial C_s}{\partial t} - K(C_d - C_s) = 0 \quad (2.16)$$

Buradaki C_d ve C_s akış ve durgun haldeki sıvılarda izleyici derişimleri, f durgun sıvı kesri ve K akışkan ve durgun faz arasındaki kütle aktarım katsayısıdır. Başlangıç ve sınır koşulları,

$$C_d(0,t) = \delta(t), \quad C_d(z,0) = C_s(z,0) = 0 \quad (2.17)$$

buradaki $\delta(t)$ dirac δ fonksiyonudur. (2.15-2.17) denklemleri $z=L$ için çözülürse,

$$E(t) = 0 \quad t < t_i \quad (2.18)$$

$$E(t) = \exp(-K\bar{t})\delta(t - t_i) + \left(\frac{K^2\bar{t}}{f}\right) \exp\left[-K\bar{t}\left(2 + \left[\frac{t - \bar{t}}{f\bar{t}}\right]\right)\right] * \\ \left[I_1\left(2K\bar{t}\sqrt{1 + \frac{t - \bar{t}}{f\bar{t}}}\right) \right] / \left[K\bar{t}\sqrt{1 + \frac{t - \bar{t}}{f\bar{t}}} \right] , \quad t \geq t_i \quad (2.19)$$

buradaki $I_1(z)$ birinci dereceden Bessel fonksiyonu, t_i reaktör çıkışında ilk izleyicinin görüldüğü zamandır.

Model iki keyfi parametre gerektirir, bunlar f durgun bölgedeki sıvı kesri ve K iki bölge arasındaki kütle aktarım katsayısıdır. Bunlarla sıvı geri karışması belirlenebilir. K ve f 'nin KSD eğrileri arasındaki deneysel ilişki çeşitli araştırmacılar tarafından incelenmiştir. F ve K aşağıdaki ilişkilerden hesaplanabilir.

$$f = 1 - \left(\frac{t_i}{t}\right) \quad (2.20)$$

$$\sigma_{\theta}^2 = 2f^2 / K\bar{t} \quad (2.21)$$

Bu model sızıntılı akış gibi film reaktörlerde başarıyla kullanılır.

2.14.3. İki parametrelili çarpraz akım reaktör

Bu model Deans'in modifiye karışmalı hücre modeline çok benzerdir. Sızıntılı akış reaktörlerde sıvı fazdaki geri karışmayı belirlemede geniş olarak uygulanmaktadır. Model, sıvı fazı, durgun ve piston akış olmak üzere iki rejime ayırır. Durgun sıvı, sızıntılı yatakta dolgu taneciklerinin üzerinde, birbirine tutunan taneciklerin arasında oluşur. Aşağıdaki şekilde sıvının durgun bölgesi ile akışkan bölgesi arasında kütle aktarımı olabilmektedir.

$$\phi \frac{\partial C_d}{\partial t} + u_L \frac{\partial C_d}{\partial z} + K(C_d - C_s) = 0 \quad (2.22)$$

$$(1 - \phi) \frac{\partial C_s}{\partial t} - K(C_d - C_s) = 0 \quad (2.23)$$

Buradaki ϕ piston akıştaki sıvı kesridir (hareketli faz kesri) .

Çarpraz akım model ile modifiye karışmalı hücre modeli arasında belirgin bir benzerlik vardır. Aynı sınır koşulları bu model için de geçerlidir. Böylece modifiye karışmalı hücre modeli için elde edilen çözüm bu model içinde elde edilmiş olur. Çarpraz akım modeldeki parametreler çeşitli yollarla belirlenebilir. Hoogendoorn and Lips (Shah 1979) parametrelerin aşağıdaki şekilde bulunabileceğini göstermiştir.

$$\phi = t_i / t \quad (2.24)$$

$$K = (1 - \phi)^2 / \sigma^2 \bar{t} \quad (2.25)$$

Buradaki σ deneysel KSD eğrisinden elde edilen standart sapmadır.

2.14.4. Üç parametrelı piston-dağılımlı-değişim (PDE) modeli

Bu model çarpraz akım veya modifiye karışmalı hücre modeliyle aynı temele dayanır. Model üç parametre içerir, ikisi çarpraz akım ile aynı parametreler üçüncüsü ise hareketli fazın aksenal dağılım katsayısıdır.

İzleyici için kütle korunum denklemleri yazılarak temel denklemler elde edilir. Dinamik bölge için,

$$D_z \frac{\partial^2 C_d}{\partial z^2} - u_d \frac{\partial C_d}{\partial z} - \frac{K a}{\varepsilon h_L \phi} (C_d - C_s) = \frac{\partial C_d}{\partial t} \quad (2.26)$$

Durgun bölge için,

$$-\frac{K a}{\varepsilon h_L (1 - \phi)} (C_s - C_d) = \frac{\partial C_s}{\partial t} \quad (2.27)$$

Denklemlerde, d indisi ile dinamik bölge, s indisi ile durgun bölge gösterilmiştir. A birim hacim başına dogu yüzey alanını, ε kuru yatağın boşluk kesrini, h_L boşluk hacmi başına toplam sıvı hacmini ve ϕ ile toplam sıvı hacmindeki dinamik sıvı hacim kesrini göstermektedir.

Pulse şeklindeki uyarı için aşağıdaki sınır koşullarında çözüm yapılır.

$$\begin{aligned} t = 0'da \quad C_d &= 0, \quad C_s = 0 \\ z = 0'da \quad C_d &= \delta(t), \quad C_s = 0 \\ z = \infty'da \quad C_d &= 0, \quad C_s = 0 \end{aligned} \quad (2.28)$$

(2.26)-(2.28) denklemleriboyutsuz formda yazılıp Laplace dönüşümü alınarak analitik olarak çözülürse aşağıdaki denklem elde edilir.

$$\begin{aligned}
C_d(\theta) = & \int_0^\theta \frac{\bar{N}}{2\bar{x}} \sqrt{\left(\frac{P}{\pi(1-\phi)(\theta-\bar{x})}\right)} I_1 \left[2N \sqrt{\left(\frac{\bar{x}(\theta-\bar{x})}{\phi(1-\phi)}\right)} \right] \\
& * \exp \left[-P \frac{(\bar{x}-\phi)^2}{4\phi\bar{x}} - \bar{N} \frac{\bar{x}-2\phi\bar{x}+\theta\phi}{\phi(1-\phi)} \right] d\bar{x} \\
& + \frac{1}{2} \sqrt{\left(\frac{P\phi}{\pi\theta^3}\right)} \exp \left[-P \frac{(\theta-\bar{x})^2}{4\phi\theta} - \bar{N} \frac{\theta}{\phi} \right]
\end{aligned} \tag{2.29}$$

$$\begin{aligned}
C_s(\theta) = & \int_0^\theta \frac{\bar{N}}{2(1-\phi)} \sqrt{\left(\frac{P\phi}{\pi\bar{x}^3}\right)} I_0 \left[2N \sqrt{\left(\frac{\bar{x}(\theta-\bar{x})}{\phi(1-\phi)}\right)} \right] \\
& * \exp \left[-P \frac{(\bar{x}-\phi)^2}{4\phi\bar{x}} - \bar{N} \frac{\bar{x}-2\phi\bar{x}+\theta\phi}{\phi(1-\phi)} \right] d\bar{x}
\end{aligned} \tag{2.30}$$

Buradaki,

$$\begin{aligned}
\bar{N} &= (Ka/h_L\phi\epsilon)(L/u_d), & P &= u_d L_p / D_z, \\
\theta &= tu_d\phi / L_p, & \bar{x} &= z / L_p
\end{aligned}$$

I_0 ve I_1 birinci tip Bessel fonksiyonunun birinci ve sıfıncı derecedeki fonksiyonu.

Impuls uyarı için (2.29) denklemini ϕ , N , P olmak üzere üç parametre belirler. Buradaki P 'nin etkisi dağılma modelindeki Peclet sayısı ile benzerdir. Deneysel cevap eğrilerinden ϕ , N , P parametreleri aşağıdaki denklemlerden hesaplanabilir. Pulse giriş için $z=0$ 'da sınır koşulu boyutsuz formda yazılır.

$$\delta(\theta) = C_d - \frac{1}{P} \frac{\partial C_d}{\partial z}, C_s = 0 \tag{2.31}$$

$x=1$ 'de C_d için dağılma fonksiyonunun momentleri (2.26) ve (2.27) denklemlerinin laplace dönüşümünden hesaplanabilir.

$$\mu_j = (-1)^j \lim_{s \rightarrow 0} \frac{\partial^j \bar{C}_d}{\partial s^j} \tag{2.32}$$

$$\mu_1 = 1 + \frac{1}{P}$$

$$\mu_2 = \frac{4}{P^2} + \frac{4}{P} + \frac{2(1-\phi)^2}{N} \left(\frac{1}{P} + 1 \right) + 1 \quad (2.33)$$

Varyans aşağıdaki denklemle bulunabilir.

$$\sigma = \mu_2 - \mu_1^2 = \frac{2}{P} + \frac{3}{P^2} + \frac{2(1-\phi)^2}{N} \left(\frac{1}{P} + 1 \right) \quad (2.34)$$

Buradaki $\phi = \frac{h_{dL}}{(h_{dL} + h_{sL})}$ olarak yazılır. h_{dL} dinamik sıvı hold-up, h_{sL} statik sıvı hold-up'ı göstermektedir (Shah 1979).

2.15.Sıvı Hold-up

Çok fazlı reaktörlerde sıvı hold-up büyük öneme sahiptir. Birlikte aşağıya akışlı reaktörler, birlikte yukarıya akışlı reaktörlerle karşılaştırıldığında hold-up'ın önemi daha fazla artmaktadır. Bu tip reaktörlerde, katalizör ıslanma etkinliği ve katalizör etrafındaki sıvı film kalınlığı sıvı hold-up'a bağlıdır. Bazı hidrolama proseslerinde katalizör yüzeyinin etkin olarak ıslatılabilmesi için yeteri kadar sıvı hold-up'a gereksinim vardır.

Toplam sıvı hold-up işletme ve statik hold-up'ın toplamına eşittir. Statik hold-up, sıvı beslemesi durdurulup kolon boşaltıldıktan sonra kolonda kalan sıvı miktarıdır. Statik hold-up büyük bir yoğunlukla katalizörün yapısına bağlı olarak katalizörün gözenek hacimlerinde kalan sıvıyı gösterir. Aynı zamanda dolgunun kolona yerleştirilmesine de bağlıdır. İşletme hold-up'ı katalizör dışındaki sıvıyı gösterir ve sıvı, gaz akış hızlarına, viskozite, yoğunluk ve yüzey gerilimi gibi gaz ve sıvının özelliklerine, reaktör boyutuna ve sıvı ve gaz dağıtıcı tasarımına bağlıdır.

Sıvı hold-up büyük bir yoğunlukla izleyici tekniği ile ölçülür. Bu teknikte sıvı hold-up sıvı akış hızı ile ortalama kalma süresinin çarpımından bulunur. Literatürde çok sayıda hold-up korelasyonu vardır. Bazıları toplam sıvı hold-up için bazıları ise dinamik hold-up için verildiğinden, bu korelasyonların kullanımında amaca göre tercihde bulunmak gerekir. Sıvı hold-up hem boşluk hacmi başına hem de toplam kolon hacmi başına tanımlanabilir.

Literatürde temel olarak toplam veya dinamik hold-up için iki tip korelasyon vardır. Bazı araştırmacılar sıvı hold-up'ı direk olarak boyutlu veya boyutsuz formda sıvı hızı ve sıvı özelliklerine korele etmişlerdir.

Turpin ve Huntington toplam sıvı hold-up'ı hava su sistemi için ölçmüşler ve sıvı ve gaz akılarına bağlı olarak aşağıdaki korelasyonu geliştirmişlerdir (Shah 1979).

$$h_L = -0.035 + 0.182 \left(\frac{G_L}{G_G} \right)^{0.24}, \left(1.0 \leq \left[\frac{G_L}{G_G} \right]^{0.24} \leq 6.0 \right) \quad (2.35)$$

Buradaki G_L , G_G boş kolon kütleli sıvı ve gaz hızı, h_L kolon boşluk hacmi başına toplam sıvı hold-up'tır.

Stiegel and Shah (1977) ise sıvı hold-up'ı gaz ve sıvı Reynold sayısına bağlı olarak korele etmişlerdir.

$$h_L = 1.47 \text{Re}_L^{0.11} \text{Re}_G^{-0.14} (ad_s)^{-0.41} \quad (2.36)$$

Buradaki $ad_s = 6(1-\epsilon)$ küresel tanecik için verilmiştir.

2.16. Kaynak Araştırması

2.16.1. Serbest ve tutuklanmış mikroorganizma ile sitrik asit üretimi

Kristiansen and Sinclair (1979), *Aspergillus foetidus* mikroorganizması ile sürekli sistemde sitrik asit üretimine seyrelme hızı, pH , çözülmüş oksijen derişimi, azotu derişimi ve eser elementlerin etkisini araştırmışlardır. 0.04-0.20 h⁻¹seyrelme hızı aralığında pH 3.4, 3.0, 2.6 değerlerinde incelemeler yapılmış 0.075 h⁻¹ ve pH=3.4'de maksimum sitrik asit derişimi elde edilmiştir. 0.06 h⁻¹ seyrelme hızında 1.6-3.8 pH aralığında sitrik asit üretimi incelendiğinde yine pH=3.4'de maksimumu sitrik asit üretimi sağlanmış, kuru hücre ağırlığında bir değişme olmamıştır. Bu bulgular ışığında pH'ın direk olarak sitrik asit çevrimini etkilemediği, etkinin substratları parçalayacak enzimlerin aktivitesini artırıcı ve/veya sakkaroz ve sitrik asit için hücre geçirgenliğini artırıcı yönde olabileceği belirtilmektedir.

Azot derişiminin sitrik asit ve mikroorganizma derişimine etkisini incelemek amacıyla 0.2-1.3 g/L NH₄NO₃ derişim aralığında deneyler yapılmış, azot derişiminin artması kuru hücre ağırlığını artırmıştır. 0.8 g/L azot derişiminde ise maksimum sitrik asit

derişimine ulaşılmış bunun üzerindeki değerlerde sitrik asit derişiminin hızlı olarak düştüğü görülmüştür.

Sitrik asit derişimine eser element çözeltilisinin etkisini incelemek amacıyla, farklı derişimlerdeki Fe^{++} , Cu^{++} , Zn^{++} içeren eser element çözeltileri kullanıldığı belirtilmiş fakat sonuçlar verilmemiştir.

Sitrik asit derişimine çözünmüş oksijen derişiminin etkisini incelemek amacıyla 0.07-0.30 atm aralığında incelemeler yapılmıştır. Çözünmüş oksijen derişiminin artmasıyla kuru ağırlık sabit kalırken sitrik asit derişiminde biraz artış görülmüştür.

Tsay and To (1987) *Aspergillus niger* (TMB 2022) mikroorganizmasının sporlarını Ca-alginat jelinde tutuklamış ve Shu and Johnson'ın ortamı kullanılarak sitrik asit üretimi gerçekleştirmiştir. Tutuklamadaki spor miktarının sitrik asit üretimine etkisinin incelendiği çalışmada spor miktarının 0.1'den 0.3 ml/10g gel'e artmasıyla sitrik asit derişiminin 55.6'dan 58.68 g/L'ye arttığını, spor derişiminin 2.5 ml/10 g gel'e arttığında ise 43.06 g/L'ye azaldığını belirtmişlerdir.

100 ml ortama eklenen pellet miktarının etkisi incelenmiş 20 g gel'in en iyi sitrik asit derişimi verdiği gözlenmiştir.

Farklı karbon kaynağının sitrik asit üretimi üzerine etkisini araştırmak amacıyla, arabinoz, fruktoz, glukoz, laktoz, maltoz, mannitoz, mannoz ve sakkaroz kullanılmış en yüksek sitrik asit derişimine sakkarozda ulaşılmıştır. Başlangıç pH'ının sitrik asit üretimine etkisi incelenmiş pH=4.3'ün en uygun olduğu belirtilmiştir.

Honecker et al. (1989), *A. niger* (1039) mikroorganizmasını kullanarak serbest ve Ca-alginat jeline tutuklanmış mikroorganizma ile başlangıç sakkaroz ve fosfat derişiminin etkisi incelenmiştir. Serbest mikroorganizma ile 30 günlük tepkime sonunda başlangıç sakkaroz derişimi 40 g/L'den 200 g/L'ye çıkmasıyla sitrik asit derişimi önce artmış sonra azalmıştır. Yüksek şeker derişimlerinde poliollerin oluştuğu gözlenmiştir. Tutuklanmış mikroorganizma ile sitrik asit üretiminde başlangıç sakkaroz derişiminin etkisi Çizelge 2.4'de verilmiştir.

Dawson et al. (1989) çalışmalarında, serbest *Aspergillus niger* (ATCC 64065) mikroorganizması kullanılarak kesikli, sürekli karıştırmalı ve kesikli beslemeli fermentasyonla, kısıtlamalı fosfat (0.1g/L KH_2PO_4) ortamında sitrik asit üretimine başlangıç azot kaynağı derişiminin ve % oksijen doygunluğunun etkisini araştırmışlardır.

Çizelge 2.4 Tutuklanmış hücrelerle 28 günlük tepkime sonunda başlangıç sakkaroz derişiminin sitrik asit verimine etkisi.

Sakkaroz derişimi,g/L	40	80	120	160	200	240
Verim,%	52.0	70.0	74.2	71.2	65.0	56.4

Çizelge 2.5'den de görüldüğü gibi başlangıç azot derişiminin artması sitrik asit derişimini azaltmıştır.

Çizelge 2.5 Fosfat kısıtlamalı çoğalma şartlarında sitrik asit üretimi üzerine azot derişiminin etkisi^a

Başlangıç Azot ^b , (mg/L)	Artık Azot, (mg/L)	Sitrik asit, (g/L)	Biyokütle, (g/L)	Sitrik asit verimi ^c ,(%)
210	0	21.1	7.9	62
250	43	20.5	6.9	62
314	101	19.0	8.9	56
420	218	9.1	9.4	27
525	317	10.7	10.3	20
630	410	14.3	10.6	25

a 10 gün sonraki fermentasyon sonuçları verilmiştir.

b (NH₄)₂SO₄ kullanılmıştır.

c Üretilen g sitrik asit/kullanılan g şeker olarak ifade edilmiştir.

Ayrıca karıştırmalı sürekli reaktörde sitrik asit üretimine % oksijen doygunluğunun (DOT) ve seyrelme hızının etkisinin incelendiği çalışmalarında oksijen doygunluğunun artması, çoğalma hızına bağlı olarak az da olsa sitrik asit derişimini artırmıştır. Aynı oksijen doygunluğunda seyrelme hızının artması hem sitrik asit derişimini hem de biyokütleyi azaltmaktadır (Çizelge 2.6).

Çizelge 2.6. Fosfat kısıtlamalı deneylerde yatışkın hal derişimleri.

DOT, (%doygunluk)	μ , (h ⁻¹)	Sitrik asit, (g/L)	Biyokütle, (g.k.h./L)
25	0.045	1.0	3.0
75	0.045	1.2	8.7
50	0.075	1.0	1.3
50	0.075	0.8	1.3
50	0.075	0.9	1.2
25	0.120	0	2.0
75	0.120	0	0.5

a Başlangıç fosfat derişimi 0.07 g/L, başlangıç sukroz derişimi 50 g/L ve başlangıç azot derişimi 0.23 g/L'dir.

Eikmeir and Rehm (1984), serbest ve Ca-aljinat gelinde tutuklanmış *A.niger* (ATCC 11414) mikroorganizması kullanarak 0-400 mg/L NH_4NO_3 başlangıç derişimlerinde incelemelerde hem serbest hemde tutuklanmış mikroorganizma ile yapılan üretimde 400 mg/L'ye kadar sitrik asit derişiminde artışın olduğu ve 400 mg/L'ye çıkıldığında özellikle tutuklanmış mikroorganizma ile düşüşün daha fazla olduğu gözlenmiştir.

Tutuklanmış mikroorganizma ile ön aktifleştirme işleminden sonra sitrik asit üretiminde Azot derişiminin çok etkili olduğu, yüksek azot derişimlerinde biyokütlenin oldukça fazla artış gösterdiği belirtilmektedir.

Aynı zamanda sitrik asit üretim hızının tutuklanmış hücrelerle serbest hücrelere göre 1.5 kat daha yüksek olduğu belirtilmektedir.

Eikmeir et al (1984) Ca-aljinat ve κ -carregane'na tutuklanmış *A.niger*'ın (ATCC 11414) morfolojik gelişimi üzerine çalışmışlardır. Azot kısıtlamasının yapılmadığı ortam kullanıldığında pellet yüzeyinde misellerin olduğu böylece substrat ve oksijenle direk bu alanın karşılaştığı belirtilmektedir. Pellet yüzeyinde miselin en az oluşması için ortamdaki azot derişiminin azaltılması gerekmektedir. Dolayısıyla çalışmalarında 0.05, 0.10, 0.20 g/L NH_4NO_3 derişimlerinde ortamlar kullanıldığında, tepkime süresi belirtilmemekle birlikte pellet yüzeyinde en az miselin 0.05 g/L NH_4NO_3 derişiminde olduğu bildirilmiştir.

Horitsu et al. (1985), çalışmalarında poliakrilamit jele tutuklanmış *A. niger* (G-011) mikroorganizması ile sitrik asit üretiminde serbest mikroorganizmaya göre 2.4 kat daha fazla sitrik asit elde edildiği bildirilmiştir. Ayrıca havalandırma hızının sitrik asit üretimine etkisini incelemek amacıyla, 100ml'lik ortam içeren 400ml'lik cam reaktörlerde 0.7, 1.0, 1.4 ve 2.8 L/min hava akış hızlarında deneyler yapılmış 1.4 L/min havalandırma hızına kadar sitrik asit üretiminin arttığını, bu akış hızının üzerindeki havalandırma hızında artış görülmediği belirtilmektedir. Aynı zamanda hava yerine saf oksijen kullanıldığında sitrik asit derişiminin 1.7 kat daha arttığı belirtilmiştir.

Horitsu et al (1985) çalışmalarında tutklanmış mikroorganizma dolgulu kolon reaktörde 80 g jel başına sitrik asit üretim hızı 96.6 mg/h olarak 8 gün devam etmiştir.

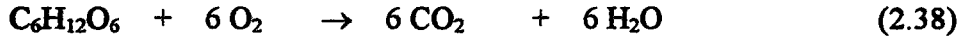
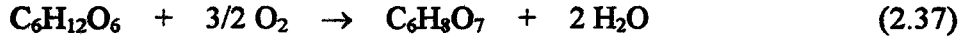
Lu et al (1997) *A. niger* mikroorganizması ile substrat olarak nişasta içeren kesilmiş ekin köklerini kullanarak dolgulu kolon reaktörde sitrik asit üretimine havalandırma hızının ve tanecik büyüklüğünün etkisini incelemişlerdir. Yüksek havalandırma hızlarında yüksek kesme geriliminden dolayı fungusların çoğalmasının inhibe olduğu gözlemişlerdir. Tanecik boyutunun artması düşük hücre yüklemelerinde sitrik asit üretimini artırdığını ve hücre yüklemelerinin düşük tutulması gerektiğini belirtmişlerdir.

Son yıllarda sitrik asit üretimini artırmak için mutasyona uğratılmış mikroorganizmalar üzerinde çalışılmaktadır (Hossain et al 1983, Sassi et al 1991, Gupta and Sharma 1994).

Kristiansen and Sinclair (1979), *Aspergillus foetidus* mikroorganizması ile sitrik asit üretim kinetiği üzerine yaptıkları çalışmalarda mikroorganizma çoğalma kinetiğinin Luedeking and Piret modeline uyduğunu belirtmişlerdir. Matematiksel modellerinde, iki tip aktif hücrenin oluştuğunu önermişlerdir. Bu hücrelerden birincisi azot kısıtlaması olmadığında çoğalan hücreler, buna temel hücreler denilmiştir, ikincisi azot kısıtlaması sırasında hücrelerin karbon deposu haline gelmeleri bu hücrelere de depo hücreler denilmiştir. Kinetik modellerin katsayıları ve sakkarozu karşı sitrik asit verimlilik katsayısı tespit edilmiştir.

Briffaud and Engasser (1979), *Saccharomycopsis lipolytica* mayası ile glukozdan sitrik asit üretiminin oksijenin tüketim, CO₂, sitrik ve izositrik asit üretim kinetiğini çıkartmışlardır. Sitrik asit üretimini altı küresel cam balon üzeri dolgulu kolon olan farklı

tipinde bir fermentörde gerçekleştirilmiştir. Fermentasyon sırasında aşağıdaki iki tepkimenin oluştuğu belirtilmektedir.



Bu çalışmada kolonun giriş ve çıkışında ölçülen oksijen derişimi arasındaki fark çok az olduğundan oksijen tüketim hızı, r_{O_2} , asit, r_a ve CO_2 , r_{CO_2} üretim hızından hesapla bulunmuştur. Buna göre O_2 tüketim hızı,

$$r_{O_2} = 1.5 \frac{M_{O_2}}{M_a} r_a + \frac{M_{O_2}}{M_{CO_2}} r_{CO_2} \quad (2.39)$$

M_{O_2} , M_a ve M_{CO_2} , oksijen, sitrik asit ve CO_2 'in molekül ağırlığıdır.

Roehr et al (1981) çalışmalarında pilot ölçekli sistemde sitrik asit üretim kinetiğini incelemişlerdir. Mikroorganizma çoğalmasının iki fazdan oluştuğunu önermişlerdir. Birinci faz, kantitatif olarak sırasıyla logaritmik, küp kök ve lineer modellerle belirlenmiş bu fazda çoğalmaya bağlı olarak çok az miktarda ürün oluşumu gözlenmiştir. İkinci fazda hemen hemen çoğalma olmamakta, biyokütle derişimine bağlı olarak ürün oluşumu maksimum olmaktadır (Şekil 2.3). Aşağıdaki denklemlerle, sitrik asit üretim hızı ile çoğalma hızı arasındaki ilişki Luedeking-Piret modelinin modifikasyonu ile ifade edilmiştir.

$$\left(\frac{dP}{dt}\right) = \left(\frac{dP}{dS}\right) \left(\frac{dS}{dx}\right) \left(\frac{dx}{dt}\right) \quad (2.40)$$

$$\left(\frac{dP}{dt}\right) = k_1 \left(\frac{dx}{dt}\right) \quad (2.41)$$

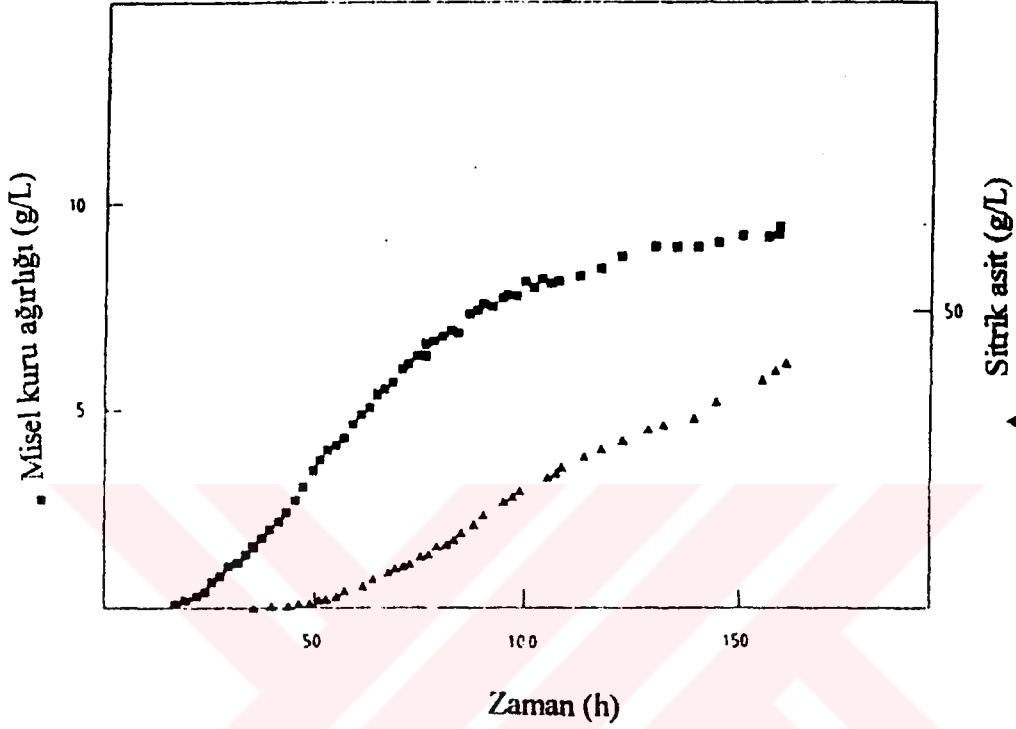
Böylece k_1 aşağıdaki ifade ile elde edilmiştir.

$$k_1 = \left(\frac{dP}{dS}\right) \left(\frac{dS}{dx}\right) = Y_{P/S} \left(\frac{1}{Y_{x/S}}\right) \quad (2.42)$$

Buradaki üretim verimlilik katsayısı, $Y_{P/S} = 0.8$, hücre verimlilik katsayısı, $Y_{x/S}=0.4$, teorik k_1 değeri 2.0 olarak bulunmuştur.

2.16.2. İdeal olmayan reaktörlerin analizi

Ostergaard and Michelsen (1969) akışkan yataklı reaktörde pulse izleyici girişi ile kalma süresi deneyini gerçekleştirmişlerdir. Deney verilerini iki nokta ölçüm metoduna göre moment analizi ve transfer fonksiyonu ile değerlendirip karşılaştırmışlardır.



Şekil 2.3. *A. niger* ile çoğalma ve sitrik asit üretimi (Roehr et al 1981)

Michell and Furzer (1972), iki fazlı sızıntılı akış reaktörde sıvı faz eksenel dağılımı, KSD analizine moment analizi ile ve eksenel dağılım modelini zaman alanında uygunlaştırma metoduyla incelemiş ve moment analizinin uygun olmadığını belirtmiştir. Bodenstein sayısı için aşağıdaki korelasyonu önermiştir.

$$Bo = 5.9 Re_L^{1.35} Ga^{-0.72} \quad (2.43)$$

Buradaki Gallileo sayısı, $Ga = d_p^3 g \rho_l / \mu_L$. Çalışmada (2.41) denklemini kullanabilmek için boş kolon sıvı hızı ile gerçek sıvı hızı arasındaki ilişkinin bilinmesi ve dolayısıyla sıvı hold-up'ın kullanılması gerektiği bildirilmektedir.

Stiegel and Shah (1977), kimyasal sistemli, gaz-sıvı birlikte akışlı dolgu kolon reaktörde KSD analizini gerçekleştirip moment tekniği ile sıvı faz Peclet sayısını ve sıvı hold up'ı hesaplamışlardır. $0.25 \times 10^{-2} - 3.0 \times 10^{-2}$ m/s sıvı akış hızı ve 0.13 -0.75 m/s gaz

akış hızı aralıklarında 4.4 ve 3.8 mm tanecik çaplarında deneylerini gerçekleştirmişlerdir. Gaz akış hızının azalması, sıvı akış hızının ve tanecik çapının artması ile sıvı faz Peclet sayısının arttığını belirtmişlerdir. Sıvı faz tanecik Peclet sayısı olarak adlandırılan Bodenstein sayısı için gaz faz ve sıvı faz Reynolds sayıları ve tanecik çapına bağlı olarak aşağıdaki korelasyonu geliştirmişlerdir.

$$Bo = 0.128(Re_L)^{0.245}(Re_G)^{-0.16}(ad_p)^{0.53} \quad (2.44)$$

Çalışmalarında toplam sıvı hold-up'ı aşağıdaki denklemden hesaplamışlardır.

$$h_L = \frac{G_L \bar{t}}{\rho_L \varepsilon V} \quad (2.45)$$

Buradaki G_L kütleli akış hızı, ρ_L sıvı yoğunluğu, ε yatak boşluk kesri ve V boş kolon hacmidir. İncelenen gaz ve sıvı akış hızlarında KSD verileri değerlendirilerek ε 'nin 0.35 ve 0.41 değerleri için aşağıda verilen reaktör boşluk hacmi başına tanımlanan sıvı hold-up korelasyonunu geliştirilmişlerdir.

$$h_L = 1.47 Re_L^{0.11} Re_G^{-0.14} (ad_p)^{-0.41} \quad (2.46)$$

EL-Temtamy (1979) üç fazlı akışkan yataklı reaktörde KSD deneylerine dağılma modelini uygulayarak sıvı faz eksenel dağılım katsayısını incelemişlerdir. Bu amaçla gaz faz olarak hava, sıvı faz olarak su ve dolgu maddesi olarak 0.45, 0.96, 2 ve 3 mm çaplarında cam tanecikler kullanılmıştır. 0.0115-0.128 m/s sıvı akış hızı ve 0.031-0.07 m/s gaz akış hızı aralığında çalışılmış, dağılma katsayısının gaz hızının artmasıyla arttığı tanecik çapıyla fazla etkilenmediğini bulmuşlardır. Ayrıca karışma uzunluğu olarak tanımladıkları eksenel dağılım katsayısının gerçek sıvı hızına oranının, sıvı akış hızının artmasıyla azaldığını belirtmişlerdir.

Eroğlu and Doğu (1983), çalışmalarında sızıntılı akış üç fazlı dolgulu kolon reaktörün performansını moment tekniği ile incelemişlerdir. Gaz sıvı kütle aktarım katsayısı sıvı hold-up ve Bodenstein sayısı için korelasyon önermişlerdir. Sıvı hold-up'ın ve Bodenstein sayısının sıvı hızından etkilendiğini bulmuşlardır. $2.4 < Re_L < 5.65$ aralığında sıvı hold-up ve Bodenstein sayısı için önerilen korelasyonlar aşağıda verilmiştir.

$$\varepsilon_L = 0.038 Re_L + 0.05 \quad (2.47)$$

$$Bo = 0.0046 \left(\frac{U_L d_p \rho_L}{\epsilon_L \mu_L} \right)^{0.83} \quad (2.48)$$

Ching and Ho (1984) çalışmalarında iki fazlı dolgulu kolon ve akışkan yataklı biyoreaktörlerin akış hidrodinamiğini glukozun fruktoza enzimatik dönüşümü tepkimesi varlığında incelemişlerdir. Katalizör olarak kullanılan glukoz izomeraz iki farklı fiziksel özelliği olan (Sweetase $d_p=1$ mm ve PG-GI kompleksi $d_p=0.35$ mm) tutuklama sistemine tutuklanmışlardır. İzleyici olarak NaCl çözeltisi kullanılmış 100 cm uzunluğunda 1.1 cm çapındaki dolgulu kolon kolon biyoreaktörde KSD deneylerini gerçekleştirmişlerdir. Dolgulu kolon biyoreaktörde Sweetase tanecikler için 0.1×10^{-3} - 1.1×10^{-3} m/s sıvı akış hızında, PG-GI tanecikler için 0.1×10^{-3} - 2.4×10^{-3} m/s sıvı akış hızında çalışılmıştır. Dağılma modelinin, deney verileri ile daha iyi bir uyum sağladığı görülmüştür. Düşük akış hızlarında sıvı dağılma derecesinin akış hızından fazla etkilenmediği yüksek akış hızlarında ise yavaşça arttığı gözlenmiştir.

Akışkan yataklı biyoreaktörde Sweetase tanecikler için 0.14×10^{-2} - 0.58×10^{-2} m/s sıvı akış hızında, PG-GI tanecikler için 0.34×10^{-2} - 1.36×10^{-2} m/s sıvı akış hızı aralığında çalışılmış yaklaşık 0.34×10^{-2} m/s (100 ml/min)'den daha yukarı hızlarda her iki tanecik içinde sıvı dağılımının azaldığı belirtilmiştir.

Godia et al.(1987) çalışmalarında, tutuklanmış *Saccharomyces cerevisiae* mayası ile dolgulu kolon biyoreaktörün performansını incelemişlerdir. 2.54 cm çaplı ve 40 cm uzunluğundaki kolonda etanol üretimi sırasında, izleyici olarak laktoz basamak girişle reaktöre verilmiştir. 1.644×10^{-5} - 8.686×10^{-5} m/s (30-157 ml/h) sıvı hızı aralığında çalışılmış, seri-tanklar modelinin kullanıldığı belirtilen çalışmada tank sayısı ve Peclet sayısı hesaplanmış, sadece CO₂ gazının çıkmasının fermentörde karışmaya neden olduğu belirtilmiştir.

Hamamcı ve Ryu (1987) çalışmalarında, tutuklanmış *Saccharomyces cerevisiae* mikroorganizması kullanılarak tapered (konik) kolon biyoreaktörde reaktör performansını incelemişlerdir. İzleyici olarak blue dekstran kullanılmıştır. Reaktör performansının belirlendiği deneyler mikroorganizma içermeyen pelletlerle gerçekleştirilmiştir. Gerçek sıvı hızı 3.0×10^{-4} m/s'ye kadar Peclet sayısının değeri 11 olduğu ve değişmediği, bu hızın üzerindeki değerlerde ise azaldığı belirtilmiştir. Düşük

akış hızlarında kolon performansı üzerine eksenel karışmanın etkisinin sabit olduğu ve daha büyük akış hızlarında bu etkinin daha fazla olabileceği belirtilmektedir.

Swaine and Daugulis (1989), iyon değiştirici reçineler üzerine adsorbe edilmiş *Zymomonas mobilis* mikroorganizması ile 2 L'lik dolgu kolon biyoreaktörde ve *Saccharomyces cerevisiae* mikroorganizması ile 8 L'lik dolgu kolon biyoreaktörde eksenel karışma etkilerini incelemişlerdir. KSD deneyleri hem abiyotik hem de biyotik olarak yapılmıştır. Abiyotik deneyler sisteme gaz gönderilmeden gerçekleştirilmiştir. Boyutsuz zaman alanında uygunlaştırma metodu kullanılarak KSD verileri değerlendirilip Peclet sayıları hesaplanmıştır. Peclet sayılarından varyansların eşitliğine dayanarak tank sayısına geçilmiştir. Abiyotik deneylerde $0.26 - 2.30 \text{ h}^{-1}$ seyrelme hızı aralığında tank sayısı 175' den 75'e azalırken, biyotik deneylerde $0.36 - 2.67 \text{ h}^{-1}$ seyrelme hızı aralığında 37'de 15'e azaldığı gözlenmiştir. Bu sonuçlara göre CO_2 çıkışının çok fazla geri karışmaya neden olduğu belirtilmiştir. İki farklı skaladaki reaktör işletiminde karışma derecelerinde önemli bir fark olmadığı gözlenmiştir.

Cassanello et al. (1992) üç fazlı dolgu kolon reaktörde sıvı faz eksenel dağılım katsayısını, sıvı beslemesinin aşağıya ve yukarıya olduğu durumlar için incelemişlerdir. 0.005 m çapında cam kürelerle doldurulmuş 0.07 m çaplı 2.4 m uzunluğundaki dolgu kolondaki deneylerde sıvı faz olarak su, gaz faz olarak hava kullanılmıştır. Aşağıya akış rejiminde $0.65 \times 10^{-2} - 7.36 \times 10^{-2} \text{ m/s}$ gaz hızı ve $0.3 \times 10^{-3} - 8.0 \times 10^{-3} \text{ m/s}$ sıvı hızı aralığında çalışmışlar, bu akış rejiminde bu akış hızı aralığında sıvı faz eksenel dağılım katsayısının gaz akış hızından etkilenmediğini bulmuşlardır.

Yukarıya akış işletiminde ise, $0.43 \times 10^{-2} - 3.9 \times 10^{-2} \text{ m/s}$ gaz akış hızı ve $0.29 \times 10^{-2} - 2.9 \times 10^{-2} \text{ m/s}$ sıvı akış hızı aralığında çalışmışlar ve bu akış türünde sıvı faz eksenel dağılım katsayısının hem gaz hem de sıvı hızına bağlı olduğunu bulmuşlardır. Bu reaktör işletimi için geliştirilen korelasyon aşağıda verilmiştir.

$$Bo = 0.05 \text{Re}_L^{0.53} \text{Re}_G^{0.134} \quad (2.49)$$

$$\text{Buradaki, } \text{Re}_L = \frac{d_p U_L \rho_L}{\mu_L}, \quad \text{Re}_G = \frac{d_p U_G \rho_G}{\mu_G} \text{ 'dir.}$$

Tanecik boyutunun ve reaktör uzunluğunun reaktör performansına etkisini incelediğini belirtmişler, onun bulgularına göre her iki akış rejiminde reaktör performansının reaktör uzunluğunun artmasıyla ve tanecik çapının azalmasıyla arttığını bildirmişlerdir (Cassanello et al.1992)

Kim et al. (1992), iki büyük akışkan yataklı reaktörde sıvı faz eksenel dağılım katsayısını incelemek üzere ayrıntılı çalışma yapmışlardır. Çalışmalarında 0.02-0.12 m/s gaz ve sıvı akış hızı, 1-72.5 cp sıvı viskozitesi ve 1-6 mm tanecik çapı aralığında eksenel dağılım katsayısı değişimini incelemişlerdir. Sıvı faz eksenel dağılım katsayısının gaz ve sıvı hızının artmasıyla arttığını, tanecik çapının artmasıyla biraz azaldığını ve sıvı viskozitesiyle etkilenmediğini bulmuşlardır.

Thompson and Worden (1992), üç fazlı akışkan yataklı biyoreaktörde, abiyotik deneylerle, KSD analizini gerçekleştirmiş ve Peclet sayılarını hesaplamışlardır. 5 cm iç çapında, 100 cm uzunluğundaki kolonda dolgu maddesi olarak Ca-alginat tanecikleri kullanılmıştır. Sıvı faz olarak deiyonize su 5.15×10^{-2} - 7.71×10^{-2} m/s akış hızında, gaz faz olarak hava 0.6×10^{-2} - 2.0×10^{-2} m/s akış hızı aralığında sisteme beslenmiştir. KSD analizinin bir ve iki parametrelili eksenel dağılım modeline uygunlaştırılmasıyla Bodenstein sayısının 0.056-0.198 aralığında değiştiğini ve gaz hızının artmasının geri karışmayı artırdığı gözlenmiştir.

Backer and Baron (1994), 2.25 cm çapında ve 0.5 m uzunluğundaki dolgulu kolon biyoreaktörde gözenekli ve gözeneksiz cam dolgu maddesi kullanarak mikroorganizma varlığında ve mikroorganizma yokluğunda KSD deneylerini gerçekleştirmişlerdir. KSD verilerini dağılım modeline uygunlaştırılmasıyla Bodenstein sayıları elde edilmiştir. Mikroorganizma yokluğunda gözeneksiz cam taneciklerle yaptıkları çalışmalarında, 1.0-8.5 sıvı faz Reynold sayısı aralığında çalışmış ve sıvı hızının artmasıyla Bodenstein sayısının (yaklaşık 0.7) çok fazla değişmediğini bulmuşlardır. Yüksek biyokütle yüklemelerinde ise KSD profillerinin önemli ölçüde etkilendiği belirtilmektedir. Ayrıca gözenekli mikroorganizma içermeyen ve mikroorganizma içeren tanecikler kullanılarak gözenek içi etkin difüzyon katsayısı hesaplanmıştır. $Re_L < 1$ olduğunda gözenek içi konveksiyonun ihmal edilebileceğini, difüzyonun etkili olduğunu ve $Re_L > 1$ olduğunda dış kütle aktarım hızının sıvı hızıyla arttığını ve konveksiyonun etkili olduğunu belirtmişlerdir.

Tsamatsoulis and Papayannakos (1994), 0.0254 m çaplı dolgulu kolon reaktörde yoğunluğu, tanecik çapı ve gözenekliliği farklı olan üç yatakta KSD analizini gerçekleştirmişlerdir. KSD verilerinin eksenel dağılım modeline zaman alanında uygunlaştırılmasıyla eksenel dağılım katsayısının bulunduğu çalışmada 0.1×10^{-3} - 5.0×10^{-3} m/s sıvı akış hızı aralığında dört farklı özellikteki yatak için yatak farklılığının etkisi tartışılmış ve her yatak için ayrı ayrı, sıvı faz eksenel dağılım katsayısı ve sıvı akış hızını içeren aşağıdaki korelasyon geliştirilmiştir.

$$\ln D_z = a'' + b''(\ln U_L) \quad (2.50)$$

Bu korelasyonda özellikle eksenel dağılım katsayısını içeren bölüm boyutsuz formda olmalıdır. Eksenel dağılım katsayısı D_z , Peclet sayısından hesaplanarak bulunduğu için U_L 'nin artışıyla D_z artıyor görüleceğinden korelasyonu direk D_z 'yi kullanarak geliştirmek hata getirecektir.

Ayrıca çalışmada, her yatak için aşağıdaki denklem kullanılarak sıvı hold-up hesaplanmış ve sıvı akış hızına bağlı olarak korelasyon gerçekleştirilmiştir.

$$\varepsilon_L = \frac{Q_L L}{u_L \varepsilon V} \quad (2.51)$$

Buradaki, Q_L sıvının hacimsel akış hızı, ε yatak gözenekliliği, V reaktör hacmi olarak verilmiştir.

Anabtawi et al. (1996) çalışmalarında, gaz- sıvı akışkan yataklı reaktörde gaz hold up ve eksenel dağılım katsayısına, gaz-sıvı akış hızı ve kolon çapının etkisini araştırmışlardır. 1.0×10^{-3} -0.18 m/s gaz hızı ve 0.002-0.06 m/s sıvı hızı aralığında ve 0.74, 1.14 ve 1.44 cm kolon çaplarında deneylerini gerçekleştirmişlerdir. Eksenel dağılım katsayısının gaz hızı, sıvı hızı ve kolon çapının artmasıyla arttığını bulmuşlardır.

Iliuta et al (1996) gaz ve sıvının birlikte yukarı akışlı dolgulu kolon reaktörde gözenekli ve gözeneksiz tanecikleri ve newtonian ve non newtonian akışkanları kullanarak KSD analizini gerçekleştirmişlerdir. KSD verilerine piston difüzyon değişme modelini uyguladıklarında çalışmalarında deney verileri ile model sonuçlarının daha iyi bir uyum verdiğini göstermişlerdir. 2.1×10^{-3} - 13.5×10^{-3} m/s sıvı akış hızın ve 2.8×10^{-2} - 41.0×10^{-2} m/s gaz akış hızı aralığında eksenel dağılmayı inceledikleri çalışmalarında,

gözeneksiz taneciklerde Bodenstein sayısının gaz akış hızının artmasıyla azaldığı, sıvı akış hızının artmasıyla ise arttığı görülmektedir. Gözenekli taneciklerde aynı etki görülmekle birlikte Bodenstein sayısı değer olarak daha küçülmüştür.

Iliuta (1997) dolgu kolon biyoreaktör performansını incelediği çalışmada fenolün biyolojik olarak bozunması tepkimesinin kinetiğini ve kütle aktarım katsayısını belirlemiş ve sistemi modellemiştir. Bu çalışmada 1.5×10^{-3} m/s sıvı hızında ve 28.3×10^{-3} m/s gaz hızında reaktör için Peclet sayısını aşağıya akışlı sistemde 17.5, yukarıya akışlı sistemde 4.0 olarak bulunmuştur.

2.16.3. Dolgu kolon reaktörlerin modellenmesi

Lortie and Thomas (1986) dolgu kolon biyoreaktörün modellenmesi üzerine kuramsal çalışma yapmışlardır. Dolgu kolon biyoreaktörün modellenmesinde, Marrazzo'nun çalışması kaynak gösterilerek eksenel dağılma etkilerinin çok küçük olduğu dolayısıyla ihmal edildiği belirtilmiştir. Tepkime kinetiği olarak Michaelis-Menten kinetiği kullanılarak piston akış modeli yazılmış ve Runge-Kutta metodu ile çözülmüştür. Farklı biyolojik sistemler üzerine çalışan araştırmacıların kinetik verileri kullanılarak model çözümlenmiş, boş kolon hızlarına karşı dönüşümler bulunarak deney verileriyle karşılaştırılmıştır.

Hamamcı and Ryu (1987) çalışmalarında tutkulanmış *Saccharomyces cerevisiae* mikroorganizması ile etanol üretim prosesinin gerçekleştirildiği dolgu tapered (konik) kolon biyoreaktörün modellenmesini gerçekleştirmişlerdir. Sistemde eksenel dağılma etkileri dikkate alınarak ve Michaelis-Menten kinetiği kullanılarak lineer olmayan ikinci dereceden diferansiyel denklem elde edilmiştir. Ayrıca tanecik için de kütle korunum denklemi yazılarak denklemler eş anlı olarak deneme-yanılma metoduyla bilgisayarda çözümlenmiştir. Kalma süresi ve kolon boyuna karşı grafiğe geçirilen etanol ve glukoz derişimleri deneysel ve model çözümleri olarak karşılaştırılmıştır.

Atiullah et al.(1990) dolgu kolon loop bioreaktörün modelini, dinamik olarak, eksenel dağılma etkilerini içine alan ikinci dereceden kısmi diferansiyel denklem yazarak elde etmişlerdir. Tanecik içinde kütle korunum denklemi yazılmış, denklemlerin ortak

özümü farklı Peclet sayıları için ve sıfırncı ve birinci mertebeden kinetik için gerçekleştirilmiştir. Herhangi bir deney verisiyle karşılaştırma yapılmamıştır.

Chithra and Baradarajan (1990), dolgulu yatak biyoreaktör için matematik modeli, eksenel dağılım etkilerini dikkate alarak ve Michaelis-Menten kinetiği için yazmışlar ve tanecik için de kütle korunum denklemi yazılarak eşanlı çözümünü gerçekleştirmişlerdir. Kuramsal olarak yapılan bu çalışmada o sisteme ait Peclet sayısı hesaplanmamıştır. Fakat farklı Peclet sayıları için çözüm yapılmış ve Peclet sayısının önemi vurgulanmıştır.

Iliuta (1997) alışmasında fenolün biyolojik olarak bozunmasının incelendiği dolgulu kolon biyoreaktörün eksenel dağılmayı içeren modelini ve ayrıca tanecik için de kütle korunum denklemini yazmıştır. Fenolün bozunma kinetiğini Michaelis-Menten denklemi ile ifade etmiş ve yukarıya akış ve aşağıya akış durumları için tek sıvı akış hızında Peclet sayısını bulup denklemlerin çözümünü gerçekleştirmiştir. Farklı substrat giriş derişimleri için fenol çıkış dönüşümelerini kuramsal ve deneysel olarak bulmuş ve iyi bir uyumun sağlandığını göstermiştir.

3. İNCELENEN SİSTEMİN MATEMATİK TANIMLANMASI

Bu bölümde aksel dağılımının reaktör performansına etkisini belirleyebilmek için gerekli matematiksel bağıntılar ve yaklaşımlar tanımlanmıştır. Tanecik Peclet sayısını sıvı faz tanecik Reynolds sayısına ve tanecik çapı/reaktör çapı oranına bağlayan ve sıvı hold-up'ı gaz faz tanecik Reynolds sayısına ve tanecik çapı/reaktör çapı oranına bağlayan matematiksel bağıntılar geliştirilmiştir.

Ayrıca tutuklanmış *Aspergillus niger* mikroorganizmasıyla sitrik asit üretiminde gerekli olan kinetik değerlendirmeler yapılmış ve sitrik asit üreten üç fazlı dolgu kolon biyoreaktörün modellenmesi gerçekleştirilmiştir. Model denklemleri aksel dağılım etkileri dikkate alınarak geliştirilmiş ve ikinci dereceden bir diferansiyel denklem ile üçüncü dereceden cebirsel denklemden oluşmuştur. Denklemler Danckwerts sınır koşulları ile, modifiye edilen paket program kullanılarak bilgisayarda çözülmüştür.

3.1. Kalma Süresi Dağılımı Analizi

Dolgu kolon biyoreaktörde açık-kapalı tank koşulundaki kalma süresi dağılımı deneyleri elde edilen $(t;C_i(t))$ verileri kullanılarak, denklem (2.1)'in düzenlenmesi ile elde edilen aşağıdaki bağıntıdan $(t;E(t))$ değerleri hesaplanabilir.

$$E(t) \approx \frac{C_i(t)}{\sum C_i(t)\Delta t} \quad (3.1)$$

Ortalama kalma süresi, $\bar{t}$, (2.3) denkleminin düzenlenmesi ile elde edilen aşağıdaki bağıntı ile bulunabilir.

$$\bar{t} \approx \sum t_i \Delta t_i E_i \quad (3.2)$$

Normalize zaman ve normalize KSD fonksiyonu aşağıdaki denklemlerinden hesaplanabilir.

$$\begin{aligned} E(\theta) &= \bar{t}E(t) \\ \theta &= t/\bar{t} \end{aligned} \quad (3.3)$$

Boyutsuz KSD fonksiyonu verilerinin (2.11) denkleminde boyutsuz zaman alanında uygunlaştırılmasıyla (time-domain) Peclet sayısı hesaplanabilmektedir.

3.2. Gözlenen Tepkime Hız Sabitlerinin Bulunması

Aspergillus niger mikroorganizmasıyla sitrik asit üretimi 2. tür mekanizmaya uymaktadır. Yani mikroorganizma üstel faza geldikten sonra sitrik asit üretmektedir. Tutuklanmış mikroorganizma ile ön aktivasyon işleminden sonra sitrik asit üretim kinetiği enzimatik tepkime kinetiği gibi düşünülebilir.

Ürün oluşu hızını substrat derişimine bağlayan en basit model Michaelis-Menten mekanizmasıdır. Enzimatik tepkimeler genellikle Michaelis-Menten modeline uymazlar. Deneysel veriler incelendiğinde, kinetiğin aşağıdaki substrat aktivasyon modeline uyduğu düşünülmüştür (Segel 1975).

$$-r_s^* = r_{s_{\max}} \frac{C_{sb}^2 / K_1^2}{1 + C_{sb} / K_2 + C_{sb}^2 / K_1^2} \quad (3.4)$$

Sitrik asit üretiminde gözlenen kinetik sabitlerin bulunması için yapılan deneyler tutuklanmış pelletlerle yarı kesikli karıştırılmalı biyoreaktörlerde gerçekleştirilebilir. Bu sistemde karışma etkinliği ile pellet dış yüzey film kütle aktarımının giderildiği kabul edilerek (3.4) denkleminde yüzey substrat derişimi (C_{sb}), yığın substrat derişimine (C_{sb}) eşit alınmıştır (Denklem 3.5).

$$-r_s' = r_{s_{\max}} \frac{C_{ss}^2 / K_1^2}{1 + C_{ss} / K_2 + C_{ss}^2 / K_1^2} \quad (3.5)$$

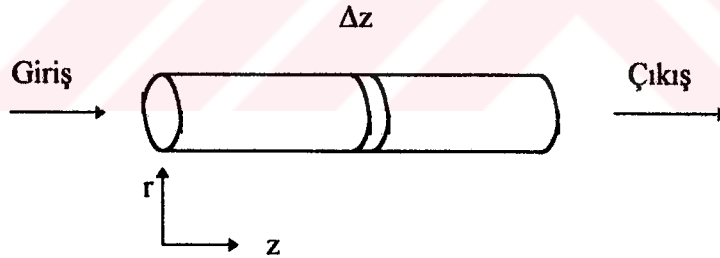
Farklı başlangıç substrat derişimlerinde elde edilen $(t, C_{sb}(t))$ verilerinden aşağıdaki denkleme göre başlangıç tepkime hızları hesaplanabilir.

$$-\frac{1}{m} \frac{dC_{ss}}{dt} = -r_s' \quad (3.6)$$

Bu veriler kullanılarak modelin kinetik parametreleri $r_{s_{\max}}$, K_1 , K_2 sabitleri bulunabilir.

3.3. Dolgulu Kolon Biyoreaktörün Modellenmesi

Dolgulu kolon biyoreaktörde kütle korunum denklemini yazabilmek için Δz kalınlığında bir hacim elemanı düşünölsün (Şekil 3.1).



Şekil 3.1. Dolgulu kolon biyoreaktör

Varsayımlar:

- 1) Sistem yatışkın koşuldadır
- 2) Radyal yöndeki dağılım katsayısı eksenel yöndeki dağılım katsayısı yanında ihmal edilmiştir.
- 3) Reaktör boyunca sıvı faz eksenel dağılım katsayısı sabittir.
- 4) Gaz faz piston akış hidrodinamiğindedir.
- 5) Ca-aljinat tanecikleri küreseldir.

6) Kullanılan fermentasyon ortamında Ca-aljinat jelinin çözünmesi ihmal edilebilir. Tanecik boyutlarındaki değişim önemli değildir.

Az hacim elemanında substrat için kütle korunum denklemi yazılırsa,

$$\left(\begin{array}{c} \text{Kütlesel · akının} \\ z - \text{yönünde} \\ \text{değişim · hızı} \end{array} \right) + \left(\begin{array}{c} \text{Uretim /} \\ \text{harcama} \\ \text{hızı} \end{array} \right) = 0$$

$$N_z A_z \Big|_z - N_z A_z \Big|_{z+\Delta z} - r_s A_z \Delta z = 0 \quad (3.7)$$

Tüm terimler Δz ile çarpılıp $A_z \Delta z$ ile bölünüp $\Delta z \rightarrow \infty$ iken limiti alınırsa,

$$-\frac{dN_z}{dz} - r_s = 0 \quad (3.8)$$

Buradaki N_z aşağıdaki gibi tanımlanabilir.

$$N_z = U_L C_{sb} - \varepsilon_L D_z \frac{dC_{sb}}{dz} \quad (3.9)$$

(3.9) denklemi (3.8)'de yerine yazılırsa

$$\varepsilon_L D_z \frac{d^2 C_{sb}}{dz^2} - U_L \frac{dC_{sb}}{dz} - r_s = 0 \quad (3.10)$$

(3.10) denklemiyle eksenel dağılmanın da dikkate alındığı dolgulu kolon reaktörün tasarım denklemi elde edilmiş olur. Buradaki r_s terimi yerine, dolgulu kolonda sıvı faz kütle aktarımı kısıtlamalı olduğundan, sıvı fazdan katalizör yüzeyine kütle aktarım hızı yazılmıştır.

$$r_s = k_s a (C_{sb} - C_{ss}) \quad (3.11)$$

(3.11) denklemi (3.10)'da yerine yazılırsa

$$\varepsilon_L D_z \frac{d^2 C_{sb}}{dz^2} - U_L \frac{dC_{sb}}{dz} - k_s a (C_{sb} - C_{ss}) = 0 \quad (3.12)$$

Sı-katı arayüzeyinde substrat için kütle korunum denklemi yazılırsa, sıvı fazdan katalizör yüzeyine kütle aktarım hızı substratın tepkime ile kaybolma hızına eşittir.

$$k_s a (C_{sb} - C_{ss}) = (r_{s_{max}})(m) \frac{C_{ss}^2 / K_1^2}{1 + C_{ss} / K_2 + C_{ss}^2 / K_1^2} \quad (3.13)$$

Dolgulu kolonda sıvı faz kütle aktarım kısıtlaması olduğundan yığın faz ile katalizör yüzeyindeki substrat derişimleri farklı olacaktır. Dolayısıyla (3.13) denklemindeki tepkime hız teriminde substrat derişimi olarak katalizör yüzeyindeki substrat derişimi alınır. (3.12) ve (3.13) denklemleri aşağıdaki verilen Danckwerts sınır koşullarıyla çözülür.

$$\begin{aligned} z = 0 \dots u_L C_{so} &= u_L C_{sb} - D_z \frac{dC_{sb}}{dz} \Big|_0 \\ z = L \dots \frac{dC_{sb}}{dz} &= 0 \end{aligned} \quad (3.14)$$

(3.12), (3.13) ve (3.14) denklemleri $y=z/L$, $\Psi=C_{sb}/C_{so}$, $\Psi_s=C_{ss}/C_{so}$ şeklinde boyutsuzlaştırılırsa aşağıdaki denklemler elde edilir.

$$\frac{1}{Pe} \frac{d^2 \Psi}{dy^2} - \frac{d\Psi}{dy} - St(\Psi - \Psi_s) = 0 \quad (3.15)$$

$$\frac{1}{Da} (\Psi - \Psi_s) = \frac{C_{so}^2 \Psi_s^2 / K_1^2}{1 + C_{so} \Psi_s / K_2 + \Psi_s^2 / K_1^2} \quad (3.16)$$

Sınır koşulları

$$\begin{aligned} y = 0 \dots\dots 1 &= \psi - \frac{1}{Pe} \frac{d\psi}{dy} \Big|_0 \\ y = 1 \dots\dots \frac{d\psi}{dy} &= 0 \end{aligned} \quad (3.17)$$

Buradaki,

$$\begin{aligned} St &= \frac{k_s a L}{U_L} \\ Da &= \frac{r_{s_{max}} m}{k_s a C_{s0}} \\ Pe &= \frac{U_L L}{\varepsilon_s D_s} \end{aligned}$$

dır.

Dolgulu kolon biyoreaktör sistemi için çıkartılmış olan aşağıda verilen korelasyondan sıvı faz kütle aktarım katsayısı hesaplanabilir (Mochizuki and Matsui 1974).

$$\begin{aligned} \frac{d_e U_L \rho_L}{\varepsilon \mu_L} &< 5 \text{ için,} \\ \frac{k_s d_e}{D_L} &= 48 \left(\frac{d_e U_G \rho_G}{\varepsilon \mu_G} \right)^{1/4} \end{aligned} \quad (3.18)$$

Buradaki,

$$\begin{aligned} d_e &= \frac{\varepsilon d_p}{1.5(1 - \varepsilon)} \\ a &= \frac{6(1 - \varepsilon)}{d_p} \\ k_s &= k_s' \frac{\varepsilon}{1 - \varepsilon} \end{aligned}$$

olarak verilmiştir.

(3.15) ve (3.17) denklemlerindeki sıvı faz Peclet sayısının hesaplanması için çeşitli korelasyonlar kullanılabilir. Ya da biyokimyasal sistem koşullarına uyacak korelasyon geliştirilebilir. Biyokimyasal sistemlerde sıvı hızları düşük olduğu için incelenen aralıkta Peclet sayısı sıvı hızından etkilenmeyebilir. Bu düşünceyle sıvı faz Peclet sayısı için aşağıdaki korelasyon önerilebilir.

$$Bo = a' Re_G^{b'} \left(\frac{d_p}{D_c} \right)^{c'} \quad (3.19)$$

$$Pe = \frac{L}{d_p} Bo$$

Çok fazlı sistemlerde sıvı faz eksenel dağılım katsayısının hesaplanabilmesi için sıvı hold-up'ın bilinmesi gereklidir. KSD analizi sonucunda bulunan ortalama kalma süresi, t bağlı olarak sıvı hold-up aşağıdaki eşitlikten hesaplanabilir (Ring et al 1991).

$$\varepsilon_L = \frac{U_L \bar{t}}{L} \quad (3.20)$$

(3.19) denklemindeki Peclet sayısından sıvı faz eksenel dağılım katsayısını hesaplamak amacıyla sıvı hold-up'a ihtiyaç vardır. Bu amaçla sıvı hold-up'ın sıvı akış hızında daha çok etkileneceği düşünülerek aşağıdaki şekilde korelasyon önerilebilir.

$$\varepsilon_L = \alpha Re_L^{\beta} \left(\frac{d_p}{D_c} \right)^{\gamma} \quad (3.21)$$

3.4. Dolgulu Kolon Biyoreaktör Model Denklemlerinin Çözümü

Dolgulu kolon biyoreaktör sisteminin modellenmesiyle elde edilen (3.15), (3.16) ve (3.17) denklemleri "Orthogonal Collocation" metod ile yazılmış olan modifiye edilmiş Colmod paket programı ile çözülebilir. Ana program EK 10'da verilmiştir.

(3.16) denkleminin aşağıdaki şekilde düzenlenmesiyle üçüncü dereceden denklem elde edilerek programa yazılıp, Ψ_s 'in çözümü üçüncü derece denklemin kökünün bulunmasıyla elde edilen (3.22) denklemiyle (3.15) ve (3.17) denklemlerinin eşanlı çözümüyle sağlanabilir.

$$\Psi_s^3 + \left(D_a - \Psi + \frac{K_1^2}{C_{So} K_2} \right) \Psi_s^2 + \left(\frac{K_1^2}{C_{So}^2} - \frac{K_1^2 \Psi}{K_2 C_{So}} \right) \Psi_s - \frac{K_1^2}{C_{So}} \Psi = 0 \quad (3.22)$$

Ortogonal collocation metoduyla çözümde, (3.15)-(3.17) denklemlerindeki $\Psi(y)$ çözümüne aşağıdaki orthogonal collocation yaklaşımı yapılır.

$$\psi(y) = \sum_{i=0}^{n+1} \psi_i l_i(y) \quad (3.23)$$

Buradaki $l_i(y)$ Lagrange interpolasyon polinomudur ve aşağıdaki nodal polinomundan çıkartılmıştır.

$$P_{n-1}(y) = \prod_{i=0}^{n-1} (y - y_i) \quad (3.24)$$

Çözümde, $y_0=0$, $y_{n-1}=1$ iken $y_1, y_2, y_3, \dots, y_n$ n.dereceden büyük Legendre polinomunun sıfırları olarak seçilir. Bilinmeyen ordinat Ψ_i (3.23) denkleminin gerekli açılımları yapılarak belirlenir. Burada sınır koşul denklemleri olan (3.17) denklemleri ve diğer diferansiyel denklemler n. içsel collocation noktalarında sıfır olmalıdır (Michelsen 1994).

4.MATERYAL ve METOD

4.1.Mikroorganizma Üretimi

Deneylerde kullanılan mikroorganizma, "Northern Regional Research Laboratory, U.S. Department of Agriculture, Peria, Illinois, U.S.A."dan getirtilen NRRL-2270 nolu *Aspergillus niger* fungusudur.

Aspergillus niger sporlarının üretildiği katı ortam bileşimi Çizelge 4.1'de verilmiştir. Mikroorganizma steril olarak petrilerde hazırlanan katı ortama ekilmiş, inkübatörde 30°C'de 7 gün süreyle siyah renkte sporlar oluşturması sağlanmıştır. Mikroorganizmanın etkinliğini koruma süresi katı ortamda 30 gündür. Mikroorganizma sürekliliği, katı ortama ekim yapılarak sağlanmış ve buzdolabında +4 °C'de saklanmıştır.

Agar içeren katı ortam, 15 min süreyle P=1.1 atm ve T=121°C'de otoklavda sterillemiştir.

Çizelge 4.1. *Aspergillus niger* için katı besi ortamı (PSA ortamı)

Madde	Derişim, g/L
Patates	200
Sakkaroz	20
Agar	15

4.2. Tutuklama Yöntemi

4.2.1. Mikroorganizma içermeyen küresel Ca-aljinat taneciklerinin oluşturulması

Sıvı faz eksenel dağılım katsayısının belirlenmesi amacıyla kullanılan küresel Ca-aljinat tanecikleri, %1'lik Na-aljinat çözeltisinin 0.2 M CaCl₂ çözeltisine farklı büyüklüklerdeki pipet, cam boru ve enjektör ucundan peristaltik pompa kullanılarak damlatılmasıyla elde edilmiştir. Enjektör ucu ile 1.55 mm, 0.1 ml'lik pipet ile 2.50 mm, 4 mm çaplı cam boru ile 3.56 mm ve 6 mm çaplı cam boru ile 4.10 mm çapında tanecikler

elde edilmiştir. Pelletlerin çapları büyüteç altında ölçülmüş ve ortalamaları alınarak tespit edilmiştir. Elde edilen pelletler 0.2 M CaCl_2 çözeltisinde bekletilmiş, süzildükten sonra 0.05 M CaCl_2 çözeltisinde $+4^\circ\text{C}$ 'de buzdolabında kullanım için saklanmıştır.

4.2.2. *Aspergillus niger* sporlarının tutuklanması

Petrilerdeki katı ortamda üretilen sporlar, her bir petriden 40'ar ml soğuk steril saf su ile alınmış ve 2.21×10^5 spor /ml derişiminde spor çözeltisi elde edilmiştir. Daha önceden UV ışıktaki sterillenmiş Na-aljinat ve bu spor çözeltisi kullanılarak, 0.1 g/L derişiminde Na-aljinat-spor çözeltisi hazırlanmıştır.

Na-aljinat-spor çözeltisi devamlı karıştırılarak 0.27 M CaCl_2 çözeltisine 2ml'lik pipet ucundan peristaltik pompa kullanılarak damlatılmıştır. 3.0 mm çapında sporların içine hapsediğı 5.6×10^5 spor/ g gel derişiminde spor içeren küresel tanecikler elde edilmiştir. 0.27 M CaCl_2 'de 1 saat bekletilen pelletler daha sonra kullanılmak üzere süzülerek 0.027 M CaCl_2 çözeltisine alınmış ve $+4^\circ\text{C}$ 'de saklanmıştır.

4.3. Sitrik Asit Üretim Ortamı

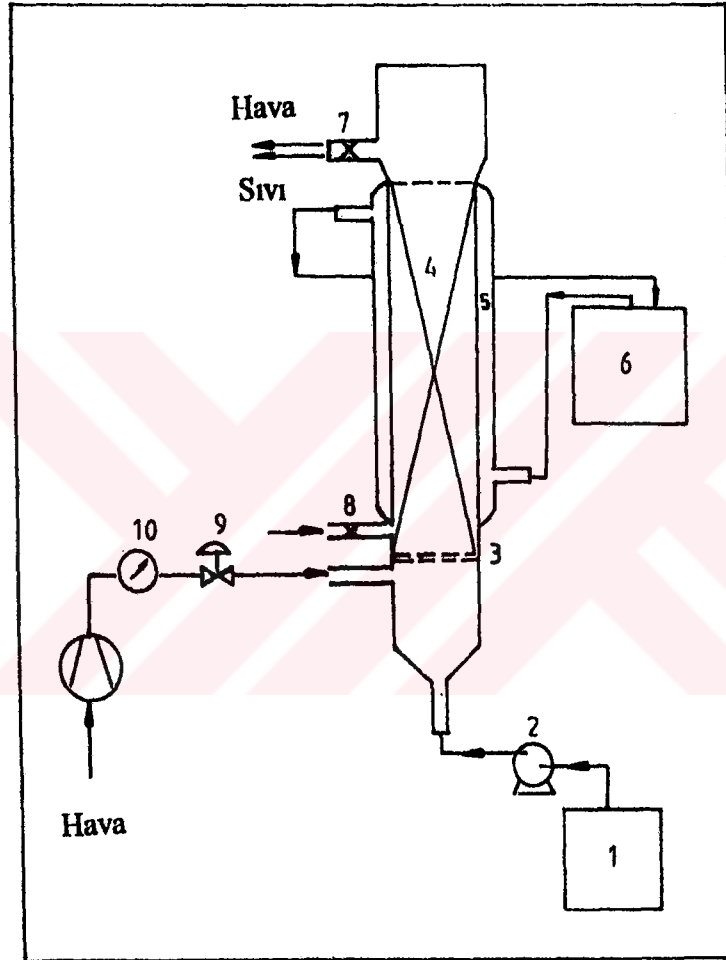
Tutuklanmış mikroorganizma ile sitrik asit üretiminde pelletlerin ön aktivasyon ortamı Çizelge 4.2'de verilmiştir. Sakkaroz ve tuz çözeltileri ayrı ayrı hazırlanmış, kesikli sistem için pH 4.5'e, sürekli sistem için pH 3.4'e 0.1 M H_2SO_4 ile ayarlanıp sterillenmiştir.

Çizelge 4.2. Sitrik asit üretiminde ön aktivasyon ve üretim ortamı

Madde	Bileşim, g/L
Sakkaroz	140
KH_2PO_4	1
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.25
NH_4NO_3	0.05
CaCl_2	3.0
$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0.06×10^{-3}
$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.25×10^{-3}
$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	1.3×10^{-3}

4.4. Kalma Süresi Deney Düzeneği ve Deneylerin Yapılışı

Sıvı fazda eksenel dağılımın incelendiği, mikroorganizma içermeyen Ca-aljinat tanecikleri ile yapılan deneyler, çevresinde ısı aktarım ceketini bulanan dolgu kolon biyoreaktörde gerçekleştirilmiştir. Deney düzeneği Şekil 4.1 verilmiştir. Kolon 1.7 cm iç çapında 27 cm dolgu yüksekliğinde pyrex camdan yapılmıştır. Pelletler 90-150 μm gözenek çaplı dağıtıcı cam sinter üzerine yerleştirilmiştir. Sistemin hava girişi dağıtıcı cam sinterin altındadır. Sisteme, hava beslemek amacıyla hava tüpü, regülatör ve önceden kalibre edilmiş metering valve bağlanmıştır. Sistemin sıvı girişi ise kolonun altındadır. Sıvı peristaltik pompa yardımıyla sisteme beslenmektedir. Ayrıca sistemde, izleyici vermek amacıyla dağıtıcı sinterin hemen üzerinde izleyici girişi bulunmaktadır. Isı aktarımı, sabit sıcaklıktaki su banyosu yardımıyla kolona ceketten sağlanmıştır. Gaz ve sıvı sisteme kolonun altından beslenmektedir. Örnek, dolgu yatağın hemen üzerinden alınmaktadır. Deneylerde katı faz olarak mikroorganizma içermeyen, 1.55, 2.50, 3.56, 4.10 mm çaplarında tutuklanan küresel Ca-aljinat tanecikleri, sıvı faz olarak 0.05 M CaCl_2 çözeltisi ve gaz faz olarak kuru hava kullanılmıştır. İzleyici olarak ise 2 g/L derişiminde hazırlanan Blue Dekstran (Hamamcı and Ryu 1987, Swaine and Daugulis 1989) çözeltisi kullanılmıştır. Sistem yatışkın hale geldiğinde izleyici dağıtıcı sinterin hemen üzerinden

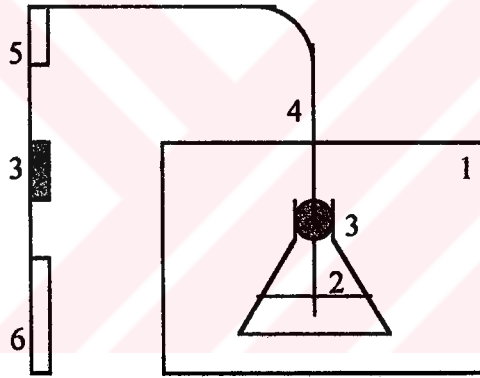


Şekil 4.1. Dolgulu kolon biyoreaktör deney düzeneği. 1.Sıvı besleme deposu, 2.Peristaltik pompa, 3.Dağıtıcı cam sinter, 4.Dolgulu yatak, 5. Isı aktarım ceket, 6.Sabit sıcaklık banyosu, 7.Örnek alma noktası, 8.İzleyici giriş noktası, 9.Ölçüm vanası, 10.Basınç göstergesi

Pulse injeksiyon şeklinde verilmiştir. Çeşitli zaman aralıklarında kolon üzerinden kapalı tank koşullarına göre alınan örnekler UV spektrofotometresinde analizlenmiştir.

4.4.1. Yarı kesikli sitrik asit üretim düzeneği

Serbest ve tutuklanmış mikroorganizma ile gaz girişine göre sürekli olan yarı kesikli sitrik asit üretim çalışmaları, karışma ve sıcaklık kontrollü, mikrobiyolojik hava filtreli, $V= 150-250$ ml hacimli biyoreaktörlerde gerçekleştirilmiştir (Şekil 4.2). Biyoreaktörlere gaz girişi hava filtresi ve rotametre bağlantılı sistemle 3 mm çaplı düz cam boru ile sağlanmıştır. Karıştırma ve sıcaklık kontrol sistemi olarak Nüve ST 401 model çalkalamalı su banyosu kullanılmıştır.



Şekil 4.2. Yarı kesikli sitrik asit üretim düzeneği. 1. Karıştırma ve sıcaklık kontrollü çalkalamalı su banyosu, 2. Biyoreaktör, 3. Mikrobiyolojik hava filtresi, 4. Oksijen girişi, 5. Rotametre, 6. Oksijen tüpü.

4.4.2. Sürekli sitrik asit üretim düzeneği

Sürekli olarak sitrik asit üretiminin sağlandığı deney düzeneği 2.8 cm iç çaplı ve 35 cm dolgu yüksekliğine sahip Şekil 4.1’de gösterilen deney düzeneği ile benzer olan dolgulu kolon biyoreaktördür. Bu sisteme oksijen, O_2 tüpünden rotametre ve mikrobiyolojik hava filtresinden geçirilerek 90-150 μm gözenek çaplı dağıtıcı cam sinterin altından verilmiştir.

Kolon, pH=2 olan %70'lik etil alkol çözeltisiyle ve UV ışık altında sterillenmiştir. Kullanılan çözeltiler sterillendikten sonra kolona beslenmiştir.

Dolgu kolondan kolon boyunca örnek alınması sterillenmiş 1 ml'lik pipet ile gerçekleştirilmiştir.

4.5. Analiz Yöntemleri

4.5.1. İzleyici derişiminin belirlenmesi

Kalma süresi dağılımı çalışmalarında kullanılan Blue Dextran çözeltisinin derişimi UV-160A Shimadzu model spektrofotometre ile absorbans ölçülerek belirlenmiştir. Sıfır ayarı Blue Dextran içermeyen çözelti ile yapılmıştır. 200-600 nm arasında spektrum alınmış, Blue Dextran derişimi için en uygun dalga boyu olarak 300 nm seçilmiştir. farklı derişimlerde hazırlanan Blue Dextran çözeltisinin 300 nm'de absorbansı okunarak, derişime karşı absorbans değerleri grafiğe geçirilerek en küçük kareler yöntemiyle kalibrasyon doğrusu çizilmiştir (EK 1).

4.5.2. Mikroorganizma spor sayılarının belirlenmesi

Petrilerdeki katı ortamlarda üretilerek 40 ml steril soğuk saf suya alınan *Aspergillus niger* sporları, belli oranlarda seyreltilerek Thoma Lamı üzerine homojen bir şekilde alınmış ve mikroskop altında sayılmıştır. Thoma lamı 16 büyük kare ve her bir kare 24 küçük kareden oluşan özel bir lamdır. Sayım yöntemi EK 2'de verilmiştir. Belli oranlarda seyreltilen ve sayıları belli olan bu sporların derişimi UV-160A Shimadzu model spektrofotometre ile absorbans ölçülerek belirlenmiştir. Sıfır ayarı için spor içermeyen saf su kullanılmış, 200-600 nm dalga boyu arasında spektrum alınmıştır. Spor derişimi için en uygun dalga boyu olarak 285 nm seçilmiştir. kalibrasyon doğrusu, Thoma Lamı ile sayısı belirlenen farklı seyrelme oranlarındaki spor içeren örneklerin 285 nm'deki absorbansları ölçülmüş, spor sayılarına karşı absorbanslar grafiğe geçirilmiştir (EK 2).

4.5.3. Sitrik asit derişiminin belirlenmesi

Çalışmalardaki sitrik asit derişimi piridin-asetik anhidrid (PAA) metodu (Marier and Boulet 1958) ile spektrofotometrik olarak belirlenmiştir (EK 3). Sitrik asit piridin varlığında asetik anhidrit ile esterleşme tepkimesi vermekte ve renk oluşmaktadır (EK 3). Sitrik asit analizi UV-160A Shimadzu model spektrofotometre ile yapılmıştır. Sitrik asit çözeltisinin 400-800 nm dalga boyu aralığında spektrumu alınmış ve en uygun dalga boyu olarak 425 nm seçilmiştir. Farklı sitrik asit derişimlerinde absorbans okunarak hazırlanan kalibrasyon doğrusu EK 3’de verilmiştir.

4.5.4. Sakkaroz derişiminin belirlenmesi

Sakkaroz derişimi, örnekler 1/5 oranında seyreltilerek Shimadzu C-R4A Chromotopac model yüksek basınç sıvı kromatografisinde (HPLC) CR Aminex kolonu kullanılarak belirlenmiştir. HPLC sisteminde Krauner Differential Refractometer kullanılmıştır. PH=2 olan H_2SO_4 çözeltisinin taşıyıcı faz olarak kullanıldığı HPLC sisteminde çalışma koşulları; kolon sıcaklığı 65 °C, sıvı akış hızı 0.6 ml/min, hassasiyet (Attenuation) 4.0, hız (Speed) 2.0’dır. Farklı derişimlerde hazırlanan sakkaroz çözeltilerinin pikleri alınmıştır. EK 4’de pik alanlarına karşı derişimi veren ve en küçük kareler yöntemiyle belirlenen doğru denklemi verilmiştir.

4.5.5. Ortam yoğunluğunun belirlenmesi

Ortam yoğunluğunun belirlenmesinde 5 ml hacminde piknometre kullanılmıştır. Yoğunluk bulunacak ortamların ortalama tartımlarının alınması ve hacme bölünmesiyle bulunmuştur. Farklı sakkaroz derişimlerindeki ortam yoğunlukları EK 5’de verilmiştir.

4.5.6. Ortam viskozitesinin belirlenmesi

Sıvı ortam viskozitesinin belirlenmesinde Haake Fisions RV 20 Rotovisco model viskozimetre kullanılmıştır. Viskozitenin hesaplanması ve farklı sakkaroz derişimlerdeki ortam viskoziteleri EK 5’de verilmiştir.

4.5.7. Pellet ağırlığı/pellet sayısının belirlenmesi

Tutuklanmış mikroorganizma ile sitrik asit üretimi sırasında çeşitli zamanlarda alınan pelletler yaş olarak tartılmış ve sayılmıştır. Yaş pellet ağırlığı pellet sayısına bölünerek pellet ağırlığı/pellet sayısı oranına geçilmiştir. Bu işlem iki kez yapılarak ortalaması alınmıştır.

4.5.8. Deney planı

Bu doktora çalışmasında, *Aspergillus niger* mikroorganizmasının çoğaltılması, sitrik asit üretiminin sağlanması, tutuklanmış mikroorganizma ile sitrik asit üretimi üzerine ön çalışmaların yapılması, gözlenen tepkime kinetiğinin belirlenmesi, tutuklanmış mikroorganizma ile dolgulu kolonda sitrik asit üretiminin gerçekleştirilmesi ve sistemin modellenmesi amaçlanmıştır. Sistemin matematik modelinde yer alan sıvı faz eksenel dağılım katsayısı ve sıvı hold-up’ın belirlenmesi için birlikte yukarıya akışlı üç fazlı dolgulu kolon biyoreaktörde, 1 atm basınçta, 1.91×10^{-5} - 8.81×10^{-5} m/s sıvı akış hızı, 1.47×10^{-3} - 11.0×10^{-3} m/s gaz akış hızı , 1.55-4.10 mm tanecik çapı aralığında abiyotik koşullarda kalma süresi dağılımı deneylerinin yapılması planlanmıştır. Sıvı faz eksenel dağılım katsayısına (veya Peclet sayısına) ve sıvı hold-up’a sıvı akış hızının, gaz akış hızının ve tanecik çapının etkisi araştırılarak bunlarla ilgili korelasyonun geliştirilmesi ve bu verilerden ve tepkime kinetiğinden yararlanarak dolgulu kolon biyoreaktör için yazılan modelin bilgisayarda çözümü ve model sonuçlarıyla deney sonuçlarının karşılaştırılması planlanmıştır.

5. DENEYSEL BULGULAR ve TARTIŞMA

Bu çalışmada, birlikte yukarı akışlı, üç fazlı dolgulu kolon biyoreaktörde sitrik asit üretimi ve reaktör sisteminin modellenmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla, önce serbest ve tutuklanmış *Aspergillus niger* mikroorganizması ile yarı kesikli, karıştırmalı biyoreaktörde sitrik asit üretimi gerçekleştirilmiş. Sitrik asit üretimine etki edeceği düşünülen bazı parametreler incelenmiş ve sitrik asit tepkime kinetik modeli belirlenmiştir. Dalgulu kolon biyoreaktör modelinde yer alan sıvı faz eksenel dağılım katsayısı ve sıvı hold-up'ın belirlenmesi için abiyotik olarak kalma süresi dağılımı (KSD) deneyleri yapılmış ve sıvı eksenel dağılımı ve sıvı hold-up için korelasyonlar geliştirilmiştir. Geliştirilen korelasyondan sıvı faz Peclet sayısı hesaplanarak ve bulunan gözlenen sitrik asit üretim kinetiği kullanılarak dolgulu kolon biyoreaktör model denklemleri Danckwerts sınır koşullarıyla bilgisayar yardımıyla çözülmüş, model sonuçlarıyla deney sonuçları karşılaştırılmıştır.

5.1. Sitrik Asit Üretimi

Sitrik asit üretiminde literatürde farklı ortamların ve farklı pH değerlerinin bulunması, sitrik asit verimin düşük olması, tutuklanmış *Aspergillus niger* pelletleri yüzeyinde misellerin oluşması, ortam bileşimlerinin de bu miselleşmeye etkisinin çok olması nedeniyle öncelikle sitrik asit üretimi üzerine yarı kesikli karıştırma ve sıcaklık kontrollü biyoreaktörde çalışmalar yapılmıştır.

5.2.1. Sitrik asit üretiminde ortam modifikasyonu

Literatür incelendiğinde NRRL-2270 nolu *Aspergillus niger* ile sitrik asit üretiminde farklı üretim ortamlarının olduğu görülmüştür (EK 6). Bu ortamlarda başlıca sakkaroz derişimlerinde, azot kaynağı derişimlerinde ve eser element çözeltilerinde farklılıklar görülmektedir. Bu amaçla ortama karar vermek için Shu et al (1948) ve Eikmeier and Rehm (1984) ortamları modifiye edilerek Çizelge 5.1'de verilen dört ortam üzerinde ön çalışmalar yapılmıştır. Serbest mikroorganizma ile $T=30\text{ }^{\circ}\text{C}$, $N=100$

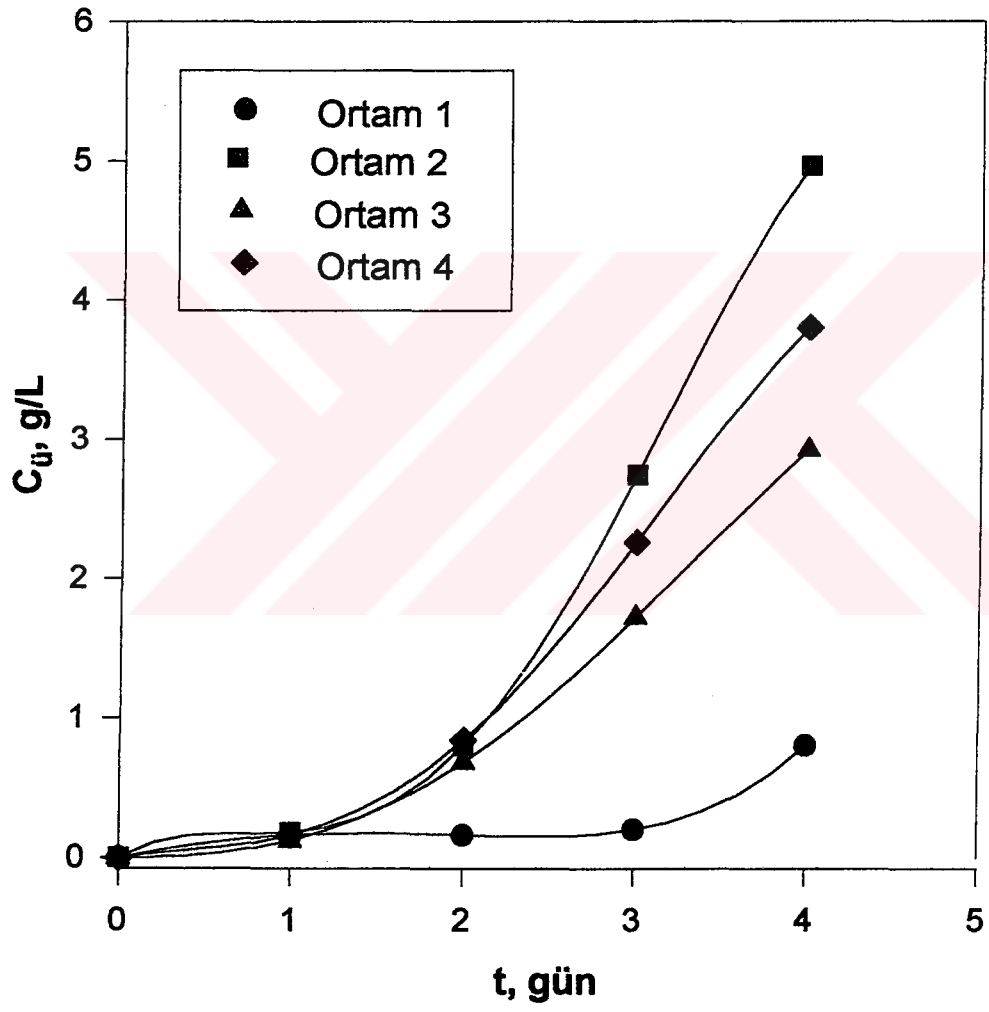
devir/min, $Q_v=1.0$ vvm hava, $pH=4.0$ koşullarında deneyler yapılmış Şekil 5.1’de zamanla sitrik asit derişimi değışimi grafiğı verilmiştir.

Çizelge 5.1. Sitrik asit üretim ortamı bileşimleri

Bileşen	Ortam 1	Ortam 2	Ortam 3	Ortam 4
Sakkaroz, g/L	140	140	250	140
KH_2PO_4 , g/L	1.0	1.0	0.2	0.2
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$, g/L	0.25	0.25	0.3	0.3
NH_4NO_3 , g/L	2.5	0.05	0.4	0.4
$CuSO_4 \cdot 5H_2O$, mg/L	1.3	1.3	-	-
$ZnSO_4 \cdot 7H_2O$, mg/L	0.06	0.06	0.25	0.25
$FeSO_4 \cdot 7H_2O$, mg/L	0.25	0.25	-	-

Çizelge 5.1’deki Ortam 1 ve Ortam 2 karşılaştırılacak olursa azot kaynağı derişiminin farklı olduğu görölmektedir. Azot derişiminin azalması sitrik asit derişimini belirgin bir şekilde artırmaktadır (Şekil 5.1). Benzer şekilde literatürde, Dawson et al (1989) ve Eikmeier and Rehm (1984) yaptıkları çalışmada, Azot derişiminin artmasının mikroorganizma derişimini yani misel oluşmasını artırırken sitrik asit derişimini azalttığını bulmuşlardır. Çalışmamızın bundan sonraki kısmında azot derişimi üzerinde daha detaylı olarak çalışılmıştır.

Çizelge 5.1’deki Ortam 3 ve Ortam 4’de sakkaroz derişimlerinde fark vardır. Sakkaroz derişiminin 140 g/L’den 250 g/L’ye artmasıyla sitrik asit üretimi düşmektedir (Şekil 5.1). Ortam 2 ve Ortam 4’de en büyük fark ise eser element çözeltilerindedir (Çizelge 5.1). Fe^{+2} ve Zn^{+2} iyonlarını da içeren Ortam 2’de daha yüksek sitrik asit üretimine ulaşılmıştır (Şekil 5.1). Fe^{+2} ve Zn^{+2} iyonları fermentasyonun verimliliğinde önemli rol oynamaktadır. Optimum derişimlerinin türden türe farklılık gösterdiği, fakat genellikle derişiminin düşük olması gerektiği bildirilmektedir. Zn^{+2} çoğalma ve üretimin regülasyonunda önemli rol oynamaktadır. Üretim fazında sitrik asit üretimini inhibe etmektedir. Zn^{+2} tükenmeye başladığında çoğalma fazından üretim fazına geçiş olur (Marison 1983). Bundan sonraki incelemeler Ortam 2 üzerine devam etmiştir.



Şekil 5 1 Sitrik asit derişiminin zamanla değişimine ortamların etkisi. $T=30^{\circ}\text{C}$,
 $N=100$ devir/min, $Q_v=1.0$ vvm hava, $\text{pH}=4.0$, serbest mikroorganizma

5.2.2. Başlangıç pH'nın sitrik asit üretimine etkisi

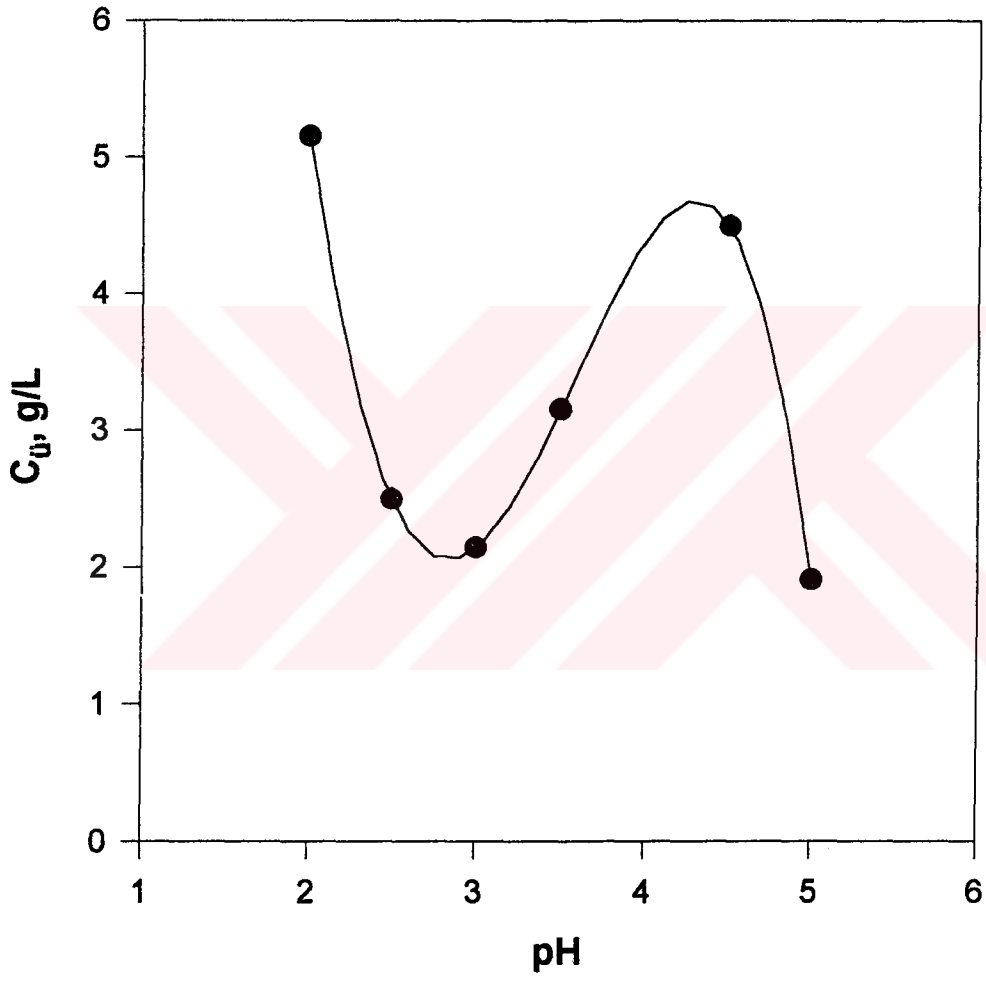
Literatürde kesikli sistemlerde sitrik asit üretimi üzerine yapılan çalışmalar incelendiğinde başlangıç pH'nın 2.0-6.5 aralığında değiştiği görülmüştür (Kristiansen and Charley 1981, Horitsu et al 1985, Tsay and To 1987, Dawson et al 1989). Bu geniş aralıkta verilen başlangıç pH'nın etkisini araştırmak amacıyla pH=2.0, 2.5, 3.0, 3.5, 4.5 ve 5.0 değerlerinde serbest mikroorganizma ile $T=30^{\circ}\text{C}$ $N=100$ devir/min, $Q_v=1.0$ vvm hava, $C_{s0}=140$ g/L ve $t=4$ gün koşullarında yarı kesikli karıştırılmalı 250 ml hacimli biyoreaktörde deneyler yapılmıştır. Deney sonuçlarına göre sitrik asit derişimi pH=2.0 ve pH=4.5'de iki maksimum vermektedir (Şekil 5.2). Daha sonraki çalışmalarda Ca-aljinata tutuklanmış mikroorganizma ile çalışılacağı ve pH=2.0 değerinde Ca-aljinatın yapısı bozulacağından, bundan sonraki çalışmalarda pH=4.5 değeri seçilmiştir.

pH Krebs çevrimine direk etkide bulunup sitrik asit derişimini etkilememektedir. Muhtemelen pH'nın substratı parçalayacak enzimleri ve/veya hücre zarı geçirgenliğini etkileyerek sakkarozun ve sitrik asitin hücre zarından kolay taşınımını sağlayabileceği tahmin edilmektedir (Kristiansen and Sinclair 1979).

5.1.3. Tutuklanmış mikroorganizmaların ön aktivasyon süreleri ve azot etkisi

Sitrik asit fermentasyonu ikinci tip fermentasyon olarak düşünülmektedir (Röhr et al 1983). Bu tipte çoğalma hızı maksimum olduğunda sitrik asit üretimi başlar. *Aspergillus niger* mikroorganizmasının misellerinin tutuklanması zor olduğundan sporları tutuklanmaktadır. Sporların tutuklandığı bu pelletler ön aktivasyon ortamına alınarak pelletlerde mikroorganizma çoğalması yani misel oluşması sağlanır. Böylece ikinci tip fermentasyondaki hücre çoğalması sağlanmış olur. Ortamdaki azot derişiminin yüksek olması misel oluşumunu artırmakta, azot kısıtlaması ile birlikte sitrik asit üretimi başlamaktadır (Kristiansen and Sinclair 1979, Eikmeier et al 1984, Eikmeier and Rehm 1984, Dawson et al 1989).

Bu nedenle, tutuklanmış mikroorganizmanın aktivasyon süresinin ve azot derişiminin üretime etkisi incelenmiştir. Bölüm 5.1.1'de tanımlanan Ortam 2'ye, tutuklanmış Ca-aljinat taneciklerinin dayanıklılığını artırmak için 3.0 g/L CaCl_2 ilave



Şekil 5.2. Başlangıç pH'nın sitrik asit derişimi ile değişimi. $T=30^{\circ}\text{C}$, $N=100$ devir/min, $C_{s0}=140$ g/L, $Q_v=1.0$ vvm hava, $t=4$ gün, serbest mikroorganizma

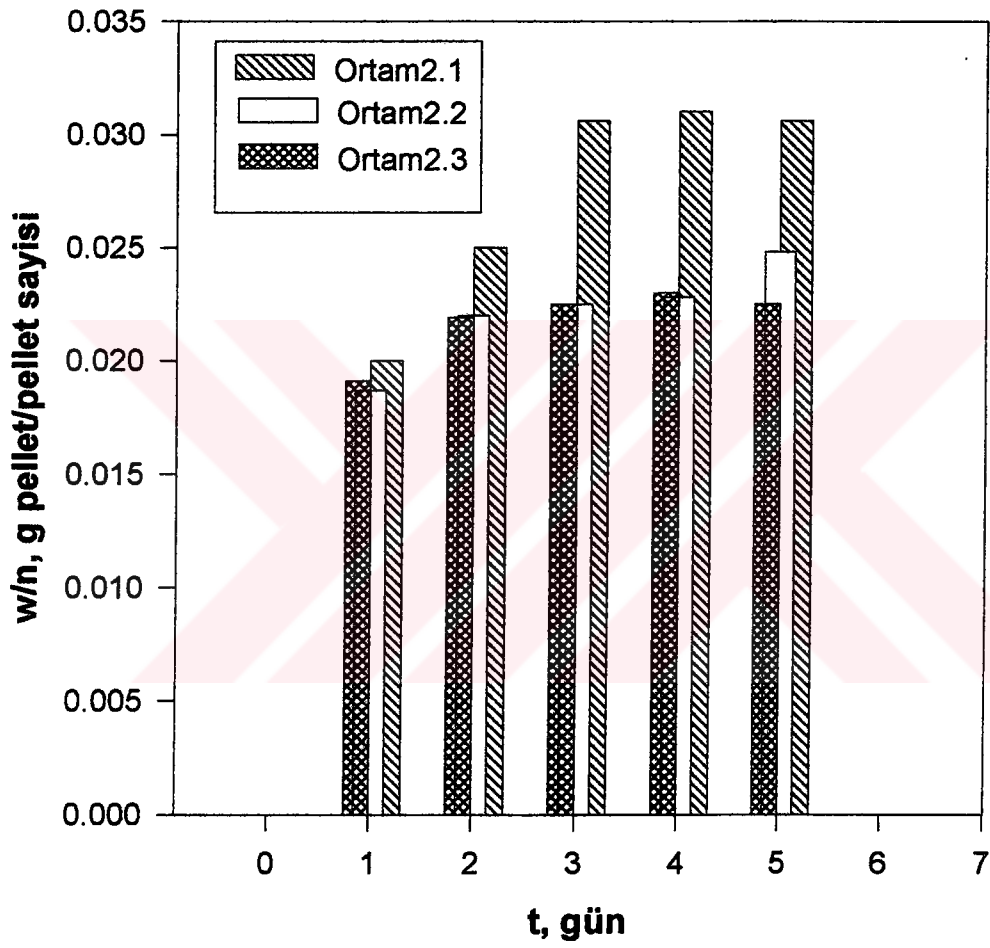
edilmiştir. Azotun etkisini incelemek amacıyla bu ortamdaki azot derişimi 0.4, 0.25, 0.05 g/L NH_4NO_3 olarak değiştirilmiş ve deneyler yapılmıştır (Çizelge 5.2). $T=30^\circ\text{C}$, $N=100$ devir/min, $\text{pH}=4.5$, $Q_v=1.0$ vvm, $C_{s0}=140$ g/L ve 0.2 g pellet/ml sıvı koşullarında gerçekteştirilen tepkime sonuçları zamana karşı g pellet/pellet sayısı (w/n) olarak şekil 5.3’de verilmiştir.

Çizelge 5.2. Optimum aktivasyon süresinin ve ortamının belirlenmesi için kullanılan sıvı çoğalma ortamları ve bileşimleri

Bileşen	Ortam 2.1	Ortam 2.2	Ortam 2.3
Sakkaroz, g/L	140	140	140
KH_2PO_4 , g/L	1.0	1.0	1.0
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, g/L	0.25	0.25	0.25
NH_4NO_3 , g/L	4.0	0.20	0.05
CaCl_2	3.0	3.0	3.0
$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, mg/L	1.3	1.3	1.3
$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, mg/L	0.06	0.06	0.06
$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, mg/L	0.25	0.25	0.25

şekil 5.3’den de görüldüğü gibi azot derişiminin en yüksek olduğu Ortam 2.1’de birim pellet sayısı başına mikroorganizma ağırlığı en yüksektir. Azot derişimi azaldıkça mikroorganizma çoğalması azalmaktadır. sonuçlar literatürle uyum halindedir. Bu ortamlarda elde edilen sitrik asit derişimleri ise şekil 5.4’de görülmektedir. Azot derişiminin en düşük olduğu ortamda sitrik asit derişimi en yüksektir. şekil 5.3 ve 5.4 incelenerek aktiveştirme süresi ve ortamı 2 gün ve 3 nolu ortam olarak tespit edilmiştir. Misel ağırlığı 3. günde maksimuma ulaşmaktadır fakat sitrik asit üretimi ikinci günde başladığı için aktiveştirme süresi olarak 2.güne karar verilmiştir.

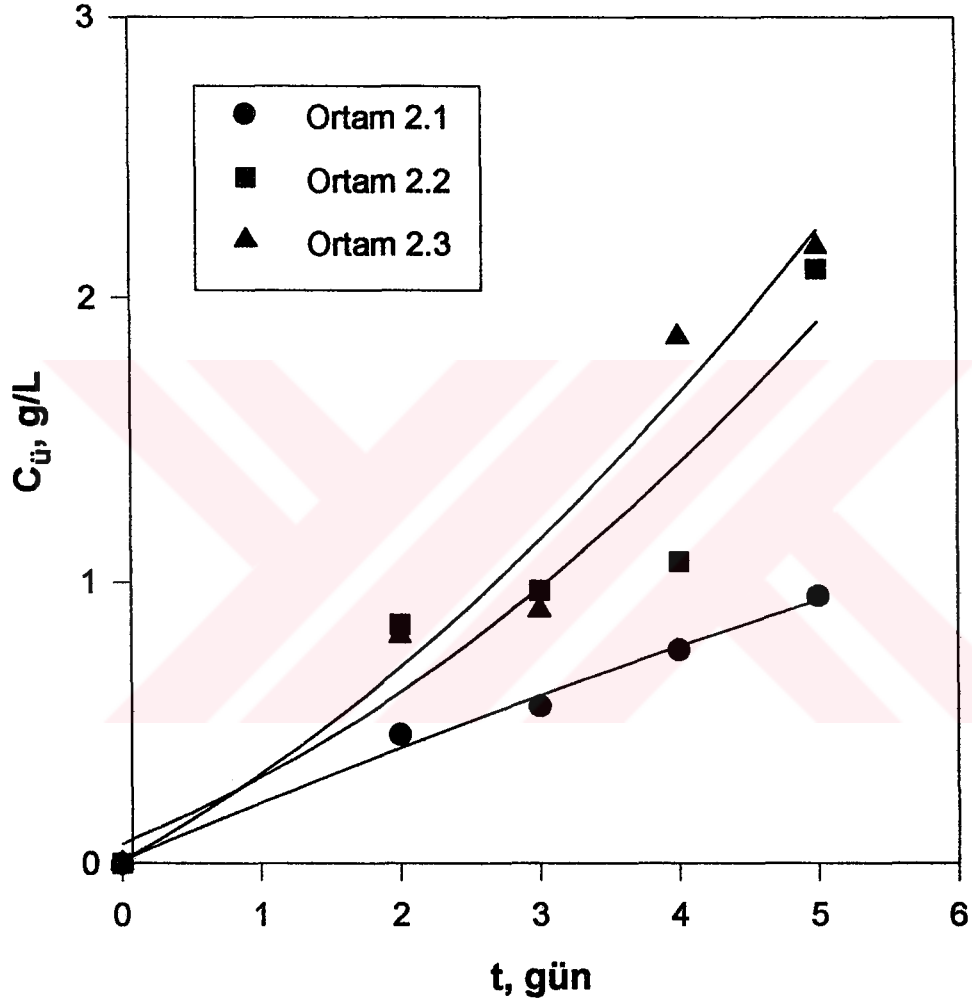
Ön aktiveştirme ortamındaki azot derişiminin sitrik asit üretimine etkisini görmek amacıyla aktiveştirilen pelletler 5. gün sonunda süzölüp hepsi ayrı ayrı Ortam 2.3’e yani 0.05 g/L NH_4NO_3 içeren sıvı ortama aktarılmıştır. Düşük azot derişimi içeren Ortam 2.3’de aktiveşen pelletlerin yeni ortamda daha fazla sitrik asit ürettiği görülmüştür



Şekil 5.3 Pellet ağırlığı/pellet sayısının, w/n , zamanla değişimine ortamların etkisi.

$T=30^{\circ}\text{C}$, $N=100$ devir/min, $C_{s0}=140$ g/L, $Q_v=1.0$ vvm hava, $\text{pH}=4.5$,

$d_p=3$ mm, 0.2 g pellet/ml sıvı



Şekil 5.4. Ön aktifleşme ortamlarında üretilen sitrik asitin zamanla değişimi.

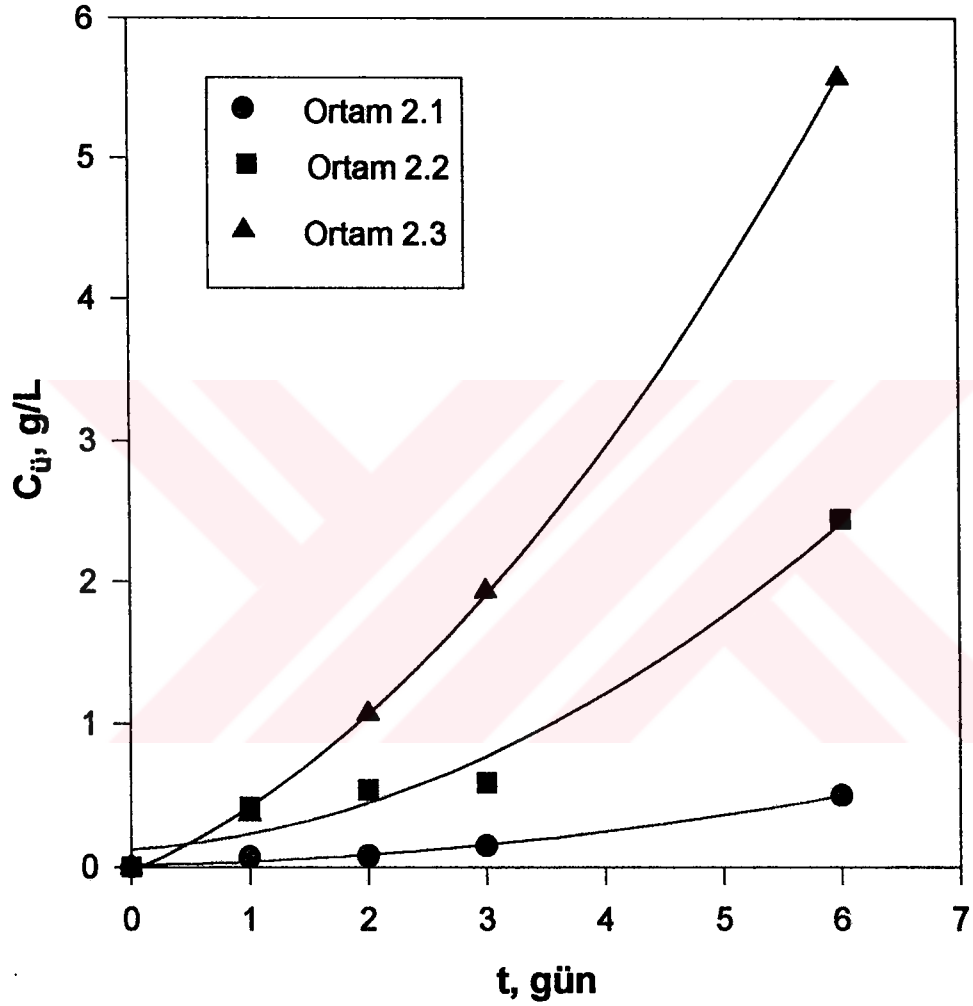
$T=30^{\circ}\text{C}$, $N=100$ devir/min, $C_{s0}=140$ g/L, $\text{pH}=4.5$, $Q_v=1.0$ vvm

hava, $d_p=3$ mm, 0.2 g pellet/ml sıvı

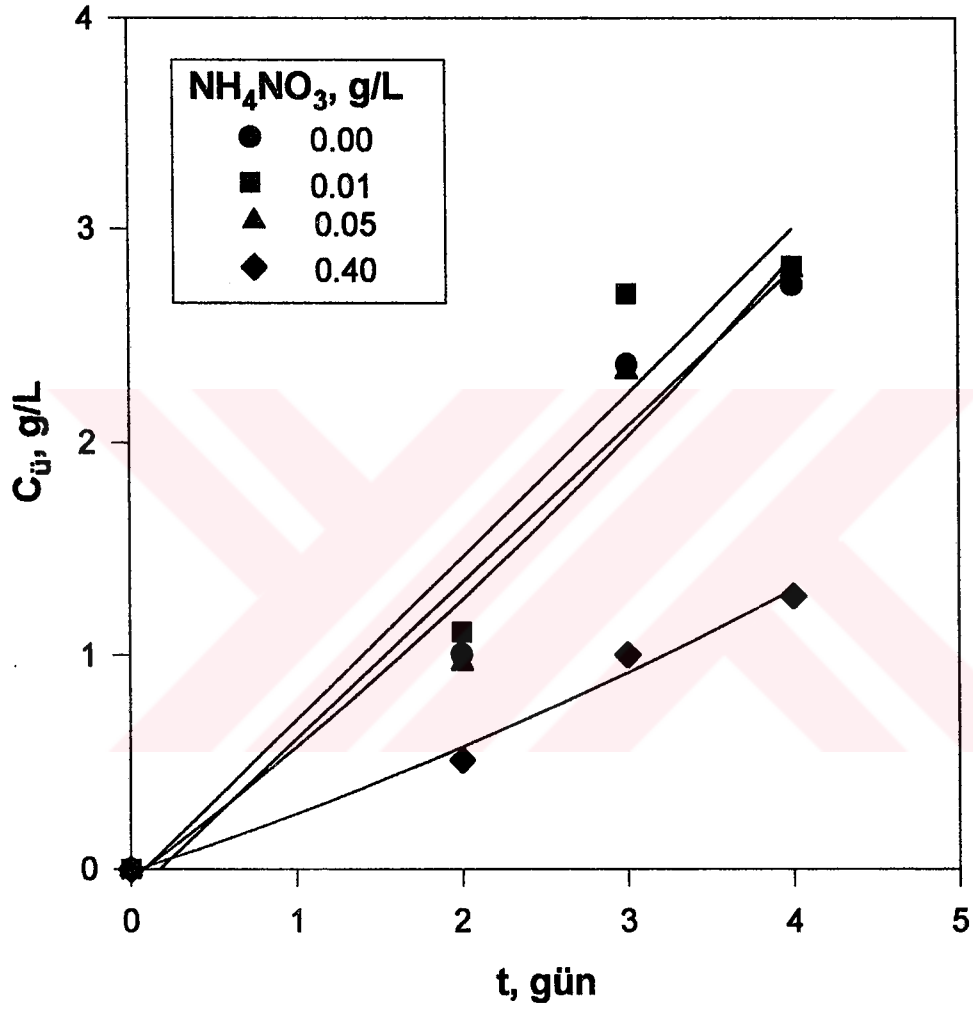
(Şekil 5.5). Gerçekte azot derişimi yüksek ortamda aktifleştirilen pelletlerin daha fazla sitrik asit üretmesi beklenirdi. 2.1 nolu ortamda aktifleşen pelletlerin yüzeyinde çok miktarda miselin oluştuğu gözlenmiştir. Fazla miktarda miselin oluşumu pelletlerde gözeneği tıkaş gözenek içi aktarımı kısıtlamış olabilir. Dolayısıyla bu ortamda aktifleşen pelletlerde sitrik asit üretimi düşmüş olabilir. Literatürde aktivasyon süresinin incelendiği bir çalışma yoktur. Sadece Eikmeier and Rehm (1984) aktifleştirme işlemini 2 gün, Gupta and Sharma (1994) ise 6 günde gerçekleştirdiklerini belirtmişlerdir.

5.1.4. Tutuklanmış mikroorganizmalarla sitrik asit üretimine azot derişiminin etkisi

Ön aktifleştirme işlemini tamamlanmış pelletlerin sitrik asit üretimine azot derişiminin etkisini belirlemek amacıyla, Ortam 2.3'ün azot derişimi değiştirilerek ortamlar hazırlanmıştır. $T=30^{\circ}\text{C}$, $\text{pH}=4.5$, $N=100$ devir/min, $Q_v=1.0$ vvm hava, $C_{s0}=140$ g/L ve 0.2 g pellet/ml sıvı koşullarında 0.4, 0.05, 0.01, 0.0 g/L NH_4NO_3 derişimlerinde deneyler yapılmış ve azot derişimlerinin sitrik asit derişimine etkisi belirlenmiştir (Şekil 5.6). Ön aktifleştirme ortamında pelletlerde mikroorganizma çoğalması sağlanmıştır. Sitrik asit üretimi sırasında pelletlerde aşırı misel oluşması istenmediği için sitrik asit üretim ortamındaki azot derişimi etkisini incelemek için düşük azot derişimi aralığında incelemeler yapılmıştır. 0.05, 0.01 g/L NH_4NO_3 ve hiç azotsuz ortamlarda üretilen sitrik asit hemen hemen aynı olmakla birlikte 0.01 g/L azot derişiminde biraz daha yüksek sitrik asit derişimine ulaşılmıştır. 0.4 g/L azot derişiminde ise sitrik asit üretimi belirgin şekilde azalmıştır. Sitrik asit üretiminde azot miktarının etkisi Zalokar'ın gözlemleriyle açıklanabilmektedir (Kristiansen and Sinclair 1979). Buna göre hif'lerdeki (hyphae) stoplazma yeni hücre oluşturacak tip'lere doğru akmaktadır. Beslemedeki azot hif'lerde bulunan tip'de yeni hücrelerin oluşturulmasını sağlamaktadır. Yaşlı hücreler ise azot kısıtlaması çekecek, karbon deposu olacak ve sitrik asit üretecektir. Oluşan hücre sayısı azot derişimi ile artacaktır, oluşan yeni hücrelerle de stoplazma akımı artacaktır. azot derişimi arttığında depo hücre oluşum hızı artmakta ve sitrik asit derişimi artmaktadır.



Şekil 5.5. Ortam 2.1, Ortam 2.2 ve Ortam 2.3’de ön aktifleştirilen pelletlerin ayrı ayrı Ortam 2.3’deki ürettikleri sitrik asit derişiminin zamanla değişimi. $T=30^{\circ}\text{C}$, $N= 100$ devir/min, $C_{\text{so}}=140$ d/L, $\text{pH}=4.5$, $Q_v=1.0$ vvm hava, $d_p=3$ mm, 0.2 g pellet/ml sıvı



Şekil 5.6. Sitrik asit derişiminin zamanla değişimine azot derişiminin etkisi

. $T=30^{\circ}\text{C}$, $N=100\text{devir/min}$, $C_{s0}=140\text{ g/L}$, $\text{pH}=4.5$, $Q_v=1.0\text{ vvm}$ hava

$d_p=3\text{mm}$, 0.2 g pellet/ml sıvı

Sitrik asit mitokondride üretilmektedir. Eğer akım çok belirgin hale gelirse hif'lerdeki tip'ler üretilmeden stoplazma taşınır. Bu durumda yeteri kadar azot kısıtlaması çekilmez ve sitrik asit üretimi düşer.

Bu mümkün olabilecek açıklamalardan dolayı yüksek azot ve düşük azot seviyelerinde sitrik asit derişimi düşmektedir. Optimum bir azot derişimi olmalıdır.

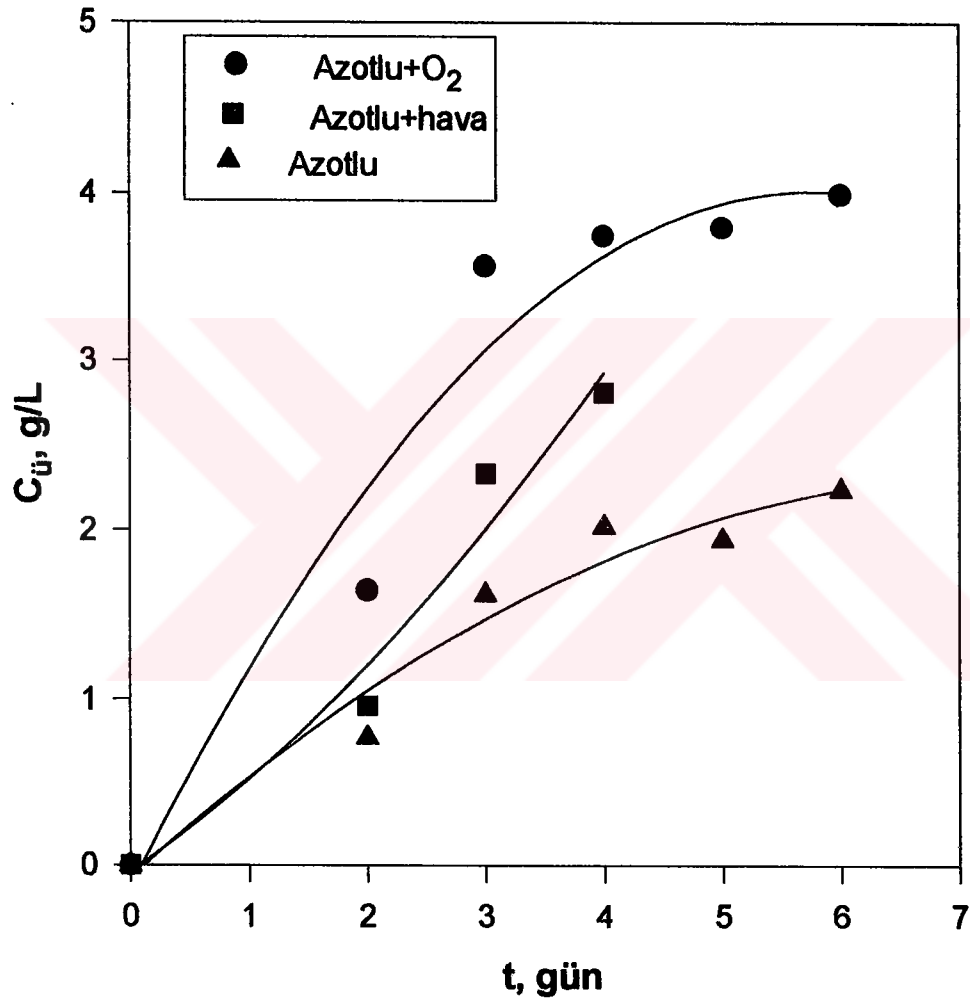
Bu çalışmada tutuklanmış pelletlerle sitrik asit üretiminde 0.01 g/L NH_4NO_3 derişiminde en yüksek verimi elde edilmiştir. Fakat daha sonraki dolgulu kolon çalışmalarında, uzun süre kullanımda miselleşmeyi önlemek için hiç azot içermeyen ortam tercih edilmiştir.

Literatürde Kristiansen and Sinclair (1979) serbest *Aspergillus foetidus* mikroorganizmasıyla sitrik asit üretiminde azot derişimi etkisini incelemişler ve 0.8 g/L NH_4NO_3 derişiminin optimum olduğunu belirtmişlerdir. Eikmeier and Rehm (1984) tutuklanmış *Aspergillus niger* mikroorganizmasıyla sitrik asit üretime azot derişimi etkisini incelemişler, 0.2 g/L NH_4NO_3 derişiminde maksimum sitrik asit derişimine ulaşıldığını belirtmişlerdir. Eikmeier et al (1984) Ca-aljinata tutuklanmış *A. niger* mikroorganizmasıyla sitrik asit üretiminde pellet morfolojisine azot derişiminin etkisinin inceledikleri çalışmalarında 0.05 g/L NH_4NO_3 derişiminde pellet yüzeyinde misel oluşumunun hemen hemen hiç olmadığı ve ilave difüzyon etkilerinin ihmal edileceği belirtilmektedir. Yine bu çalışmada da 0.4 g/L NH_4NO_3 derişiminde pellet yüzeyinde çok miktarda misel oluşumunun gözlemlendiği belirtilmektedir.

5.1.5. Tutuklanmış mikroorganizma ile sitrik asit üretime hava ve oksijen etkisi

0.05 g/L NH_4NO_3 içeren azotlu ve azotsuz ortamlarda sitrik asit üretime havanın ve oksijenin etkisini belirlemek amacıyla 1.0 vvm hava, 0.75 vvm oksijen akış hızlarında hava ve oksijen içermeyen durumlarda, $T=30^\circ\text{C}$, $N=100$ devir/min, $\text{pH}=4.5$, 0.2 g pellet/ml sıvı ve $C_{s0}=140$ g/L koşullarında deneyler yapılmıştır.

Azotlu ortamda hava ve oksijenin etkisi Şekil 5.7'de gösterilmiştir. Şekilden de görüldüğü gibi O_2 beslemesiyle daha yüksek sitrik asit derişimine ulaşılmıştır. Hiç hava beslemesinin olmadığı koşullarda derişim daha çok düşmüştür. Azot içeren ortamda O_2



Şekil 5.7. Azotlu ortamda oksijen varlığının sitrik asit derişimine etkisi. $T=30^{\circ}\text{C}$,
 $N=100$ devir/min, $C_{s0}=140$ g/L, $\text{pH}=4.5$, $d_p=3$ mm, 0.2 g pellet/ml sıvı

beslemesi ile sitrik asit derişimi havaya göre %33, hiç hava ve O₂ beslemesi olmayan ortama göre %85 artmaktadır.

Azotsuz ortamda hava ve O₂'nin etkisi Şekil 5.8'de görölmektedir. Yine burada da hiç hava ve oksijen içermeyen ortamda sitrik asit derişimi düşmektedir. O₂ beslemesinin olduğu durumdaki sitrik asit derişimi hava beslemesinin olduğu duruma göre %6, hiç hava beslemesinin olmadığı duruma göre %42 artmaktadır.

Şekillerden de görüldüğü gibi ortama hava yerine saf O₂ beslemesi yapıldığında sitrik asit derişimi artmaktadır. Bu artış azotlu ortamda daha fazla olmaktadır.

Azotlu ve azotsuz ortamlara O₂'nin etkisini daha net görebilmek için Şekil 5.9 incelenirse azot+O₂ içeren ortamda en yüksek sitrik asit derişimi elde edildiği görölür.

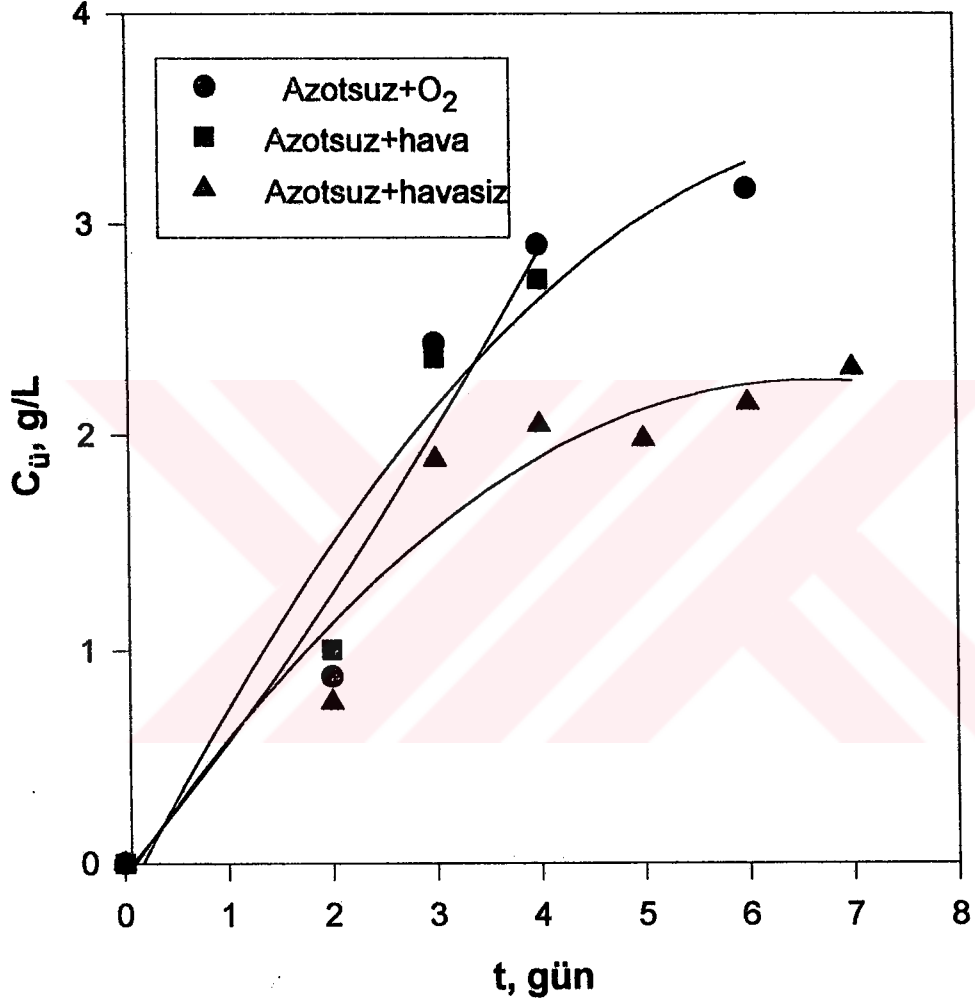
Şekil 5.10'da azotlu ve azotsuz ortamda havanın sitrik asit derişimi üzerine etkisi görölmektedir. Hava kullanıldığında ortamın azotlu veya azotsuz olması sitrik asit derişimini çok fazla etkilememektedir. Fakat hiç hava kullanılmayan ortama göre hava kullanıldığında sitrik asit derişimi %39 artmıştır. Sitrik asit üretim prosesi oksijen kullanıldığında fazla ekonomik olmamaktadır. Dolayısıyla hava kullanımı önemli olmaktadır.

Glikoliz reaksiyonu sonucu oluşan pirüvat O₂ olan ortamda TCA çevrimine girer. Pirüvat oksijen ile okside olarak asetil-CoA oluşur. 2 karbonlu asetil-CoA ile 4 karbonlu okzalasetat tepkimeye girerek 6 karbonlu sitrik asit oluşmaktadır (Lehninger 1975). Sitrik asit oluşumunda O₂ önemli rol oynamaktadır.

Literatürde farklı azot derişimlerinde O₂ veya havanın sitrik asit derişimine etkisi incelenmemiştir. Fakat çözünmüş O₂ derişiminin artmasının sitrik asit derişimini artırdığı belirtilmektedir(Kristiansen and Sinclair 1979, Röhr et al 1983, Dawson et al 1989).

Kritiansen and Sinclair (1978) *Aspergillus foetidus* ile sitrik asit üretiminde hava yerine saf oksijenin kullanılmasıyla aynı sitrik asit derişimine 6 gün yerine 4 günde ulaşıldığını belirtmişlerdir.

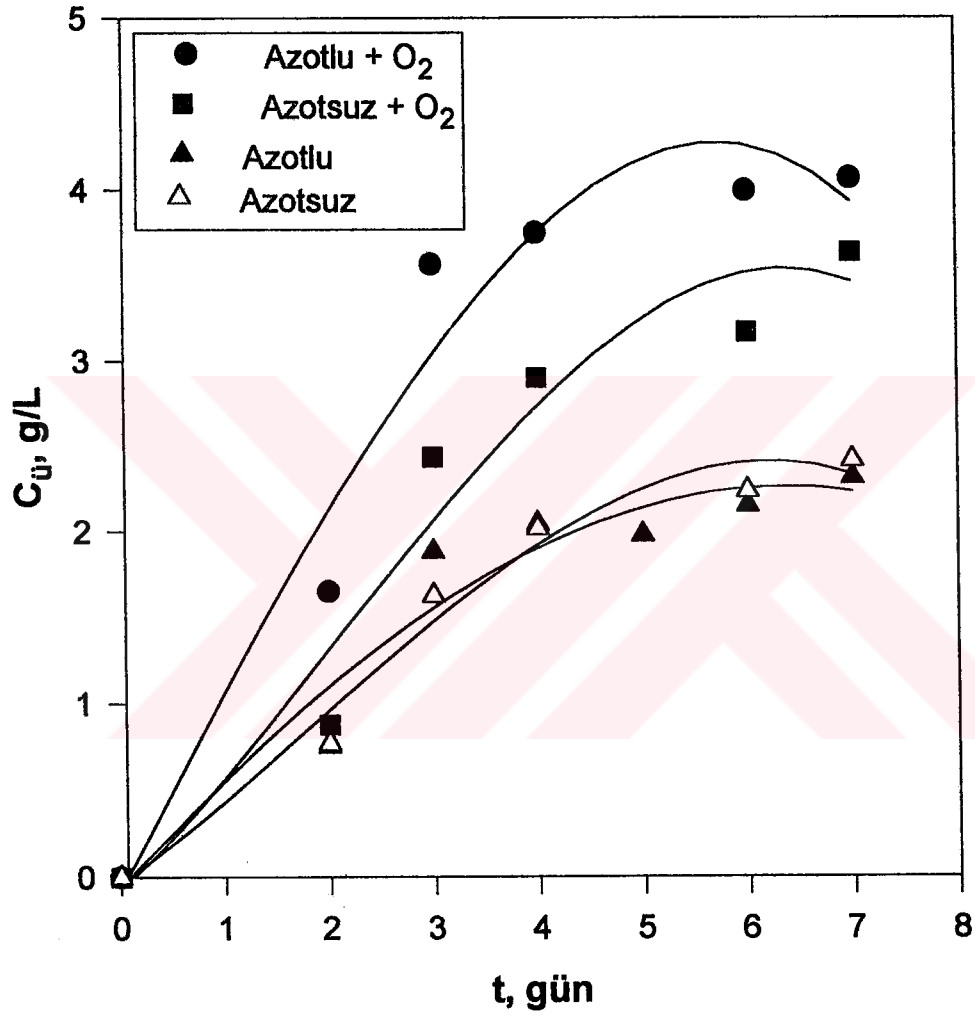
Horitsu et al (1985) çalışmalarında tutuklanmış *A. niger* mikroorganizmasını kullanarak sitrik asit üretiminde hava yerine saf O₂ kullanıldığında sitrik asit üretim hızının 1.7 kez daha yüksek olduğunu belirtmişlerdir.



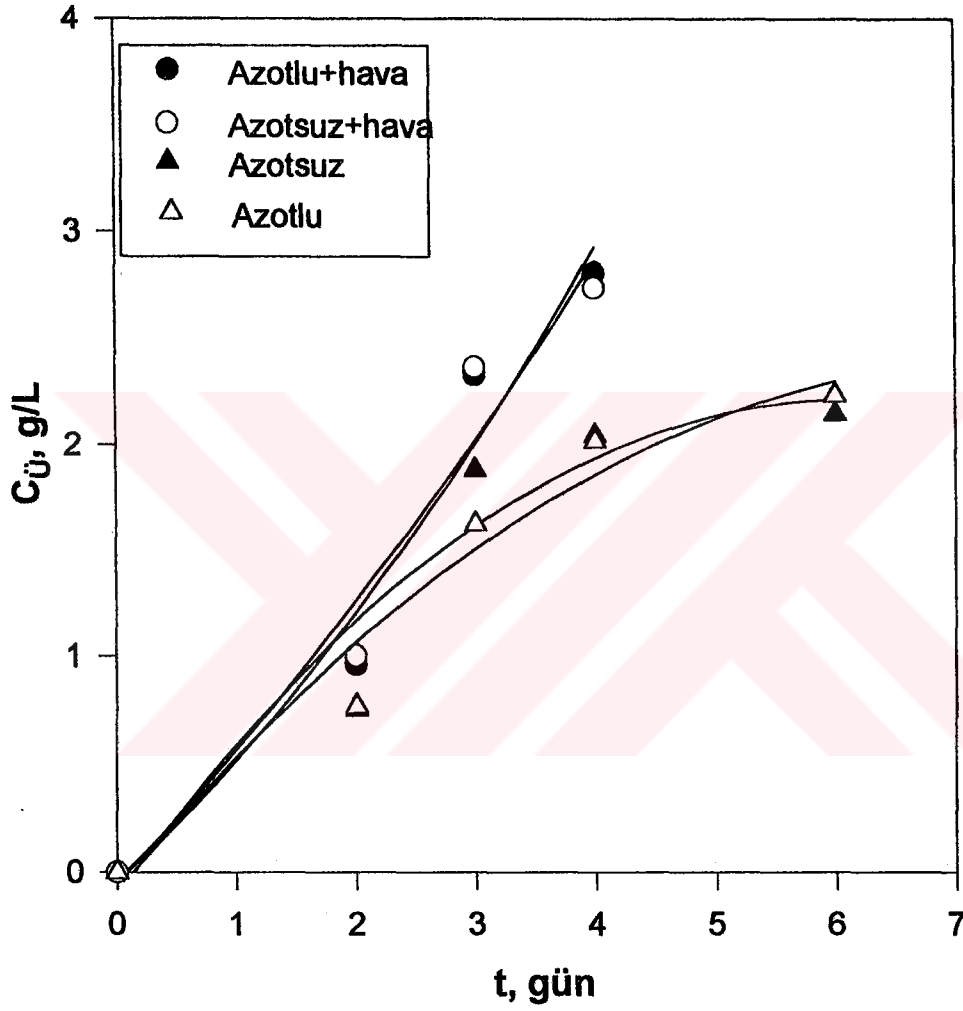
Şekil 5.8. Azotsuz ortamda oksijen ve havanın sitrik asit derişimine etkisi.

$T=10^{\circ}\text{C}$, $N=100$ devir/min, $C_{s0}=140$ g/L, $\text{pH}=4.5$, $d_p=3$ mm,

0.2 g pellet/ml sıvı



Şekil 5.9. Azotlu ve azotsuz ortamda oksijen varlığının sitrik asit derişimine etkisi. $T=30^{\circ}\text{C}$, $N=100$ devir/min, $C_{s0}=140$ g/L, $\text{pH}=4.6$, $d_p=3$ mm, 0.2 g pellet/ml sıvı



Şekil 5.10. Azotlu ve azotsuz ortamda hava varlığının sitrik asit derişimine etkisi.

$T=30^{\circ}\text{C}$, $N=100$ devir/min, $C_{s0}=140$ g/L, $\text{pH}=4.5$, $d_p=3$ mm, 0.2 g pellet/ml sıvı

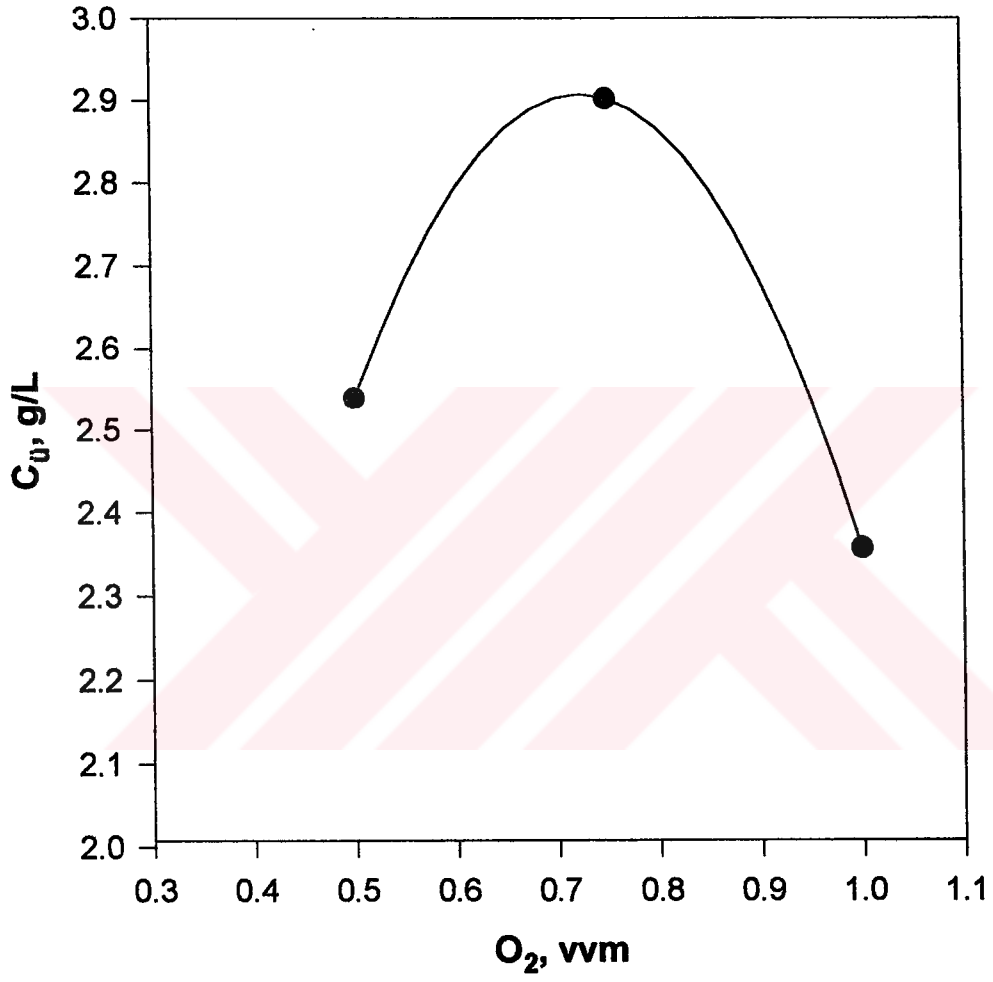
5.1.6. Tutuklanmış mikroorganizma ile sitrik asit üretimine oksijen akış hızının etkisi

Tutuklanmış mikroorganizma ile sitrik asit üretimine oksijen akış hızının etkisini belirlemek amacıyla $T=30^{\circ}\text{C}$, $N=100$ devir/min, $\text{pH}=4.5$, 0.2 g pellet/ml sıvı ve $t=4$ gün koşullarında, $C_{s0}=140\text{ g/L}$ ve azot içermeyen ortamda 0.5 , 0.75 , 1.0 vvm oksijen akış hızlarında deneyler yapılmıştır. O_2 vvm'ine karşı sitrik asit derişiminin verildiği Şekil 5.11'de; O_2 vvm'inin 0.5 'den 0.75 'e artmasıyla sitrik asit derişiminin artış gösterdiği, 1.0 vvm'e çıkmasıyla ise azaldığı görülmektedir. Oksijen akış hızının artmasının sitrik asit üretimini inhibe ettiği görülmektedir. Literatürde, farklı O_2 çözünürlüğünün sitrik asit üretimine etkisi araştırılmıştır. Dawson et al (1988) *A. niger* mikroorganizması ile sürekli sistemde sitrik asit üretimine O_2 çözünürlüğünün etkisini inceledikleri çalışmada aynı 0.075 h^{-1} seyrelme hızında O_2 çözünürlüğü %25'den %50'ye artmasıyla sitrik asit derişimi 1.4 'den 5.9 g/L 'ye arttığı, çözünürlüğün %75'e artmasıyla ise 1.7 'ye düştüğü belirtilmektedir. Bu sonuçlarla elde ettiğimiz sonuçlar uyum göstermektedir.

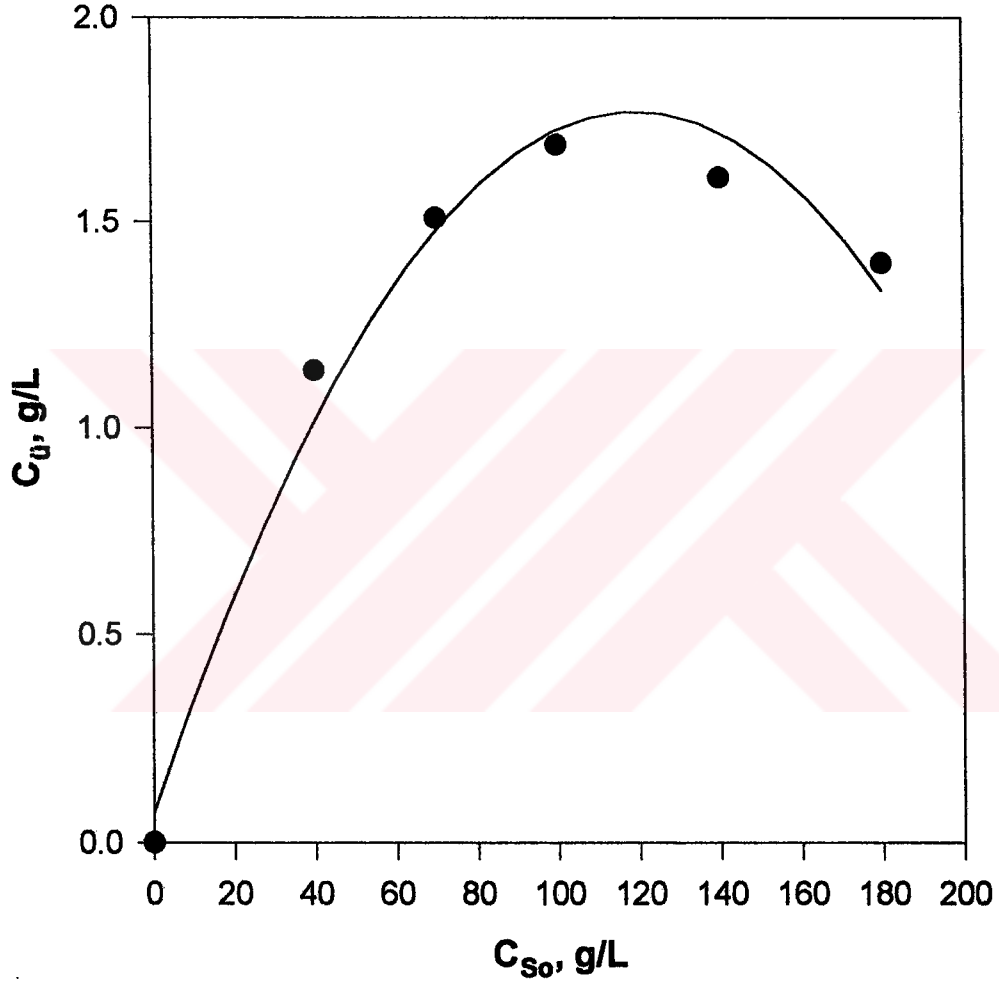
Bakteri, mayalar ve mantarlar içinde $3\text{ mmol O}_2/\text{g}$ kuru hücre-h olarak en az oksijen kullanım hızına sahip olan mikroorganizmanın *Aspergillus niger* olduğu bildirilmektedir (Shuler and Kargı 1992).

5.1.7. Tutuklanmış mikroorganizma ile sitrik asit üretimine başlangıç sakkaroz derişiminin etkisi

Tutuklanmış *A. niger* mikroorganizması ile sitrik asit üretimine sakkaroz başlangıç derişiminin etkisini incelemek amacıyla $T=30^{\circ}\text{C}$, $N=100\text{ rpm}$, $\text{pH}=4.5$, 0.2 g pellet/ml sıvı, $Q_v=0.75\text{ O}_2$ ve $t=4$ gün koşullarında azot içermeyen ortamda 40 , 70 , 100 , 140 , 180 g/L başlangıç sakkaroz derişimlerinde deneyler yapılmıştır. Elde edilen sonuçlar Şekil 5.12'de verilmiştir. Şekil incelendiğinde 100 - 140 g/L sakkaroz derişiminde sitrik asit derişiminin en yüksek olduğu, daha yüksek ve daha düşük sakkaroz derişimlerinde sitrik asit derişiminin azaldığı görülmektedir. Benzer şekilde, Tsay and To (1987) çalışmalarında serbest *A. niger* ile sitrik asit üretiminde başlangıç sakkaroz derişiminin 140 g/L değerinde maksimum sitrik asit derişimine ulaşıldığı, yüksek ve düşük sakkaroz



Şekil 5.11 Oksijen akış hızı ile sitrik asit derişiminin değışimi. $T=30^{\circ}\text{C}$, $N=100$ devir/min, $C_{so}=140$ g/L, $\text{pH}=4.5$, $d_p=3$ mm, 0.2 g pellet/ml sıvı, $t=4$ gün



Şekil 5.12. Sitrik asit derişiminin başlangıç sakkaroz derişimi ile değişimi.

$T=30^{\circ}\text{C}$, $N=100$ devir/min, $\text{pH}=4.5$, $Q_v=0.75$ vvm O_2 , $d_p=3$ mm, 0.2 g pellet/ml sıvı, $t=4$ gün

derişimlerinde ise azalma olduğunu belirtmişlerdir. Marison (1983) düşük sakkaroz derişimlerinde (<%15) okzalik asitin olduğunu ve sitrik asit veriminin düřtűđűnű belirtmiştir. Honecker et al (1989) tutuklanmış *A. niger* mikroorganizması ile sitrik asit üretimine sakkaroz derişiminin etkisini inceledikleri çalışmalarında 28 günlük tepkime süresi sonunuda 120 g/L sakkaroz derişiminde maksimum sitrik asit derişimine ulaşmışlardır. Yüksek sakkaroz derişimlerinde poliollerin olduğunu gözlemişlerdir.

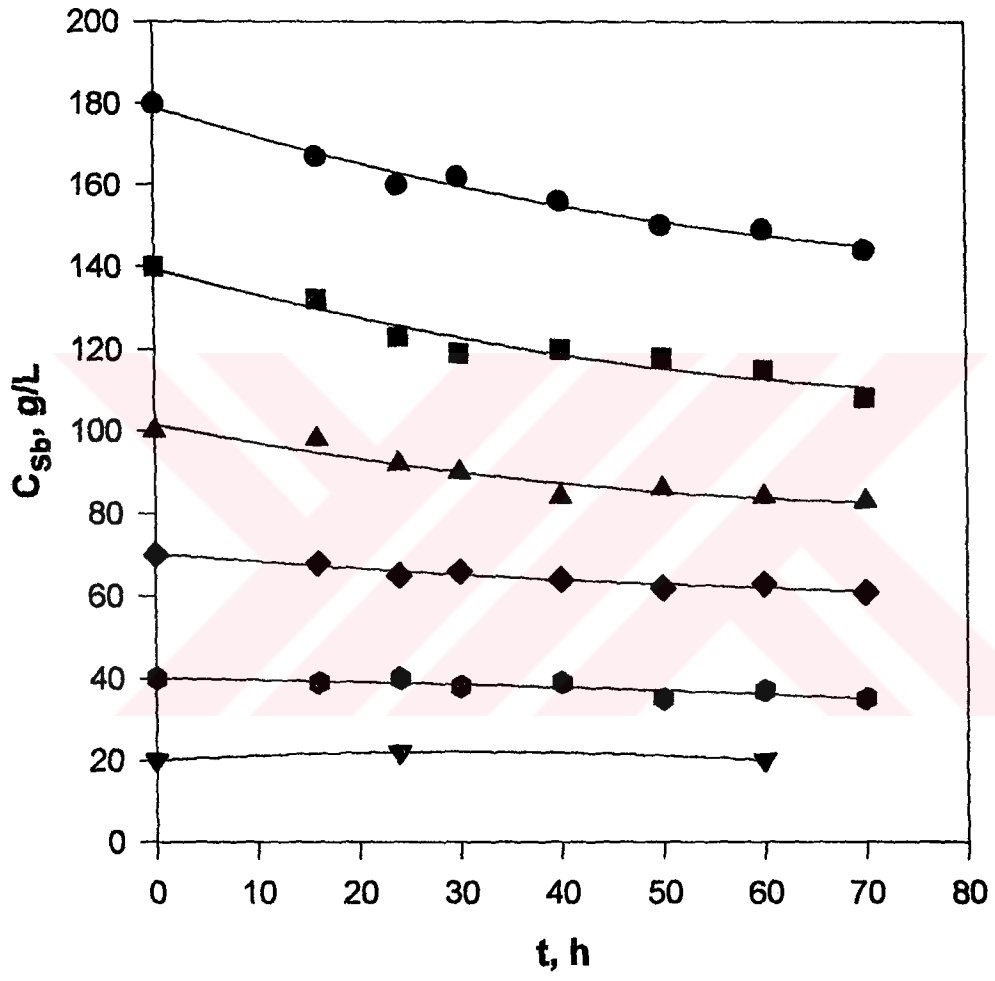
5.2. Sitrik Asit Üretim Kinetiği

Tutuklanmış mikroorganizmalarla gözlenen sitrik asit üretim kinetiğini sakkarozun kısıtlayıcı bileşen olduğu düşünűlerek incelenmiştir. Bu amaçla deneyler, $T=30^{\circ}\text{C}$, $N=100$ devir/min, $\text{pH}=4.5$, $Q_v=0.75$ vvm O_2 , ve 180, 140, 100, 70, 40, 20 g/L başlangıç substrat derişimlerinde gerçekleştirilmiştir. Zamana karşı alınan örneklerdeki sakkaroz derişimleri analizlendiğinde 40 g/L sakkaroz derişimindeki deneyde sakkaroz derişiminde azalma görűlmemiştir. 20 g/L'de ise sakkaroz derişiminde zamanla az miktarda artış görűlmüřtür (şekil 5.13). Bunların nedeni pelletlerin iki gün 140 g/L başlangıç sakkaroz derişimindeki ortamda ön aktifleşmesinin yapılması ve gözeneklere önceden difűzlenmiş olan sakkarozun kullanımı ve geri difűzlenmesi olabilir.

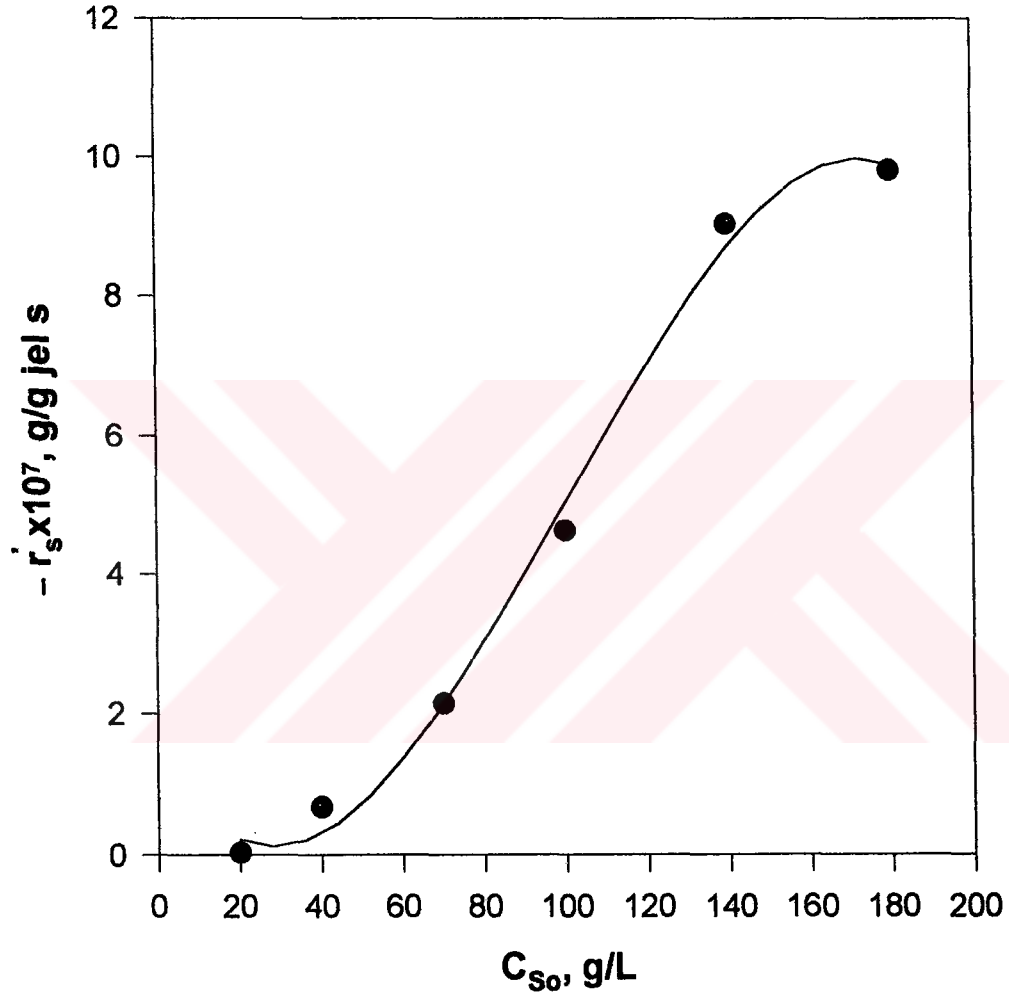
Elde edilen (t, C_{sb}) değerlerinden başlangıç biyotepkime hızları hesaplanmıştır. Deneysel verilerin $m=200$ g jel/L için Bölüm 3'de anlatılan ve (3.4) denklemiyle verilen substrat aktivasyon modeline uyduğu düşünűlmüřtür (Segel 1975).

Modelin kinetik parametreleri r_{Smax} , K_1 , K_2 lineer olmayan regresyon programı olan Marquardt-Levenberg programı ile bulunmuřtur. Buna göre standart sapması 0.951000 olarak bulunan deđerler $r_{Smax}=1.808 \times 10^{-6}$ g/gjel.s, $K_1=153$ g/L, $K_2=1315$ g/L olarak bulunmuř ve (5.1) denklemiyle gösterilmiştir. řekil 5.14'de görűldűđű gibi deney verileriyle model sonuçları birbiriyle olduđu uyumludur.

$$-r_s' = (1.808 \times 10^{-6}) \frac{C_{ss}^2 / (153)^2}{1 + C_{ss} / (1315) + C_{ss}^2 / (153)^2} \quad (5.1)$$



Şekil 5.13 Sakkaroz derişiminin zamanla değişimi. $T=30^{\circ}\text{C}$, $N=100$ devir/min, $\text{pH}=4.5$, $Q_v=0.75$ vvm O_2 , $d_p=3.0$ mm, 0.2 g pellet/ml sıvı



Şekil 5.14. Başlangıç sakkaroz derişimi ile sakkaroz tüketim hızının değişimi.

$T=30^\circ\text{C}$, $N=100$ devir/min, $\text{pH}=4.5$, $Q_v=75$ vvm O_2 , $d_p=3$ mm, 0.2 g pellet/ml sıvı

5.3. Kalma Süresi Dağılımı Deneyleri

Kalma süresi dağılımı analizi için izleyici olarak Blue Dekstran çözeltisi seçilmiştir. KSD verilerinin değerlendirilmesinde model seçimine karar vermek amacıyla, izleyicinin Ca-aljinat taneciklerine adsorplanması ve difüzenmesi araştırılmıştır. Bu amaçla karıştırılmalı 250 ml'lik kesikli reaktörde 20 g Ca-aljinat pelletleri ve 2 g/L derişiminde Blue Dekstran çözeltisi ile kesikli olarak deney yapılmıştır. 5 saatlik deney sonucunda, başlangıçtaki Blue Dekstran derişiminde zamanla değışimin olmadığı görölmüştür (EK 7). Sonuç olarak izleyicinin pelletlere adsorplanmadığı ve difüzenmediği kabul edilmiştir.

Dolgulu kolon biyoreaktörde, idealden sapmayı belirlemek amacıyla farklı gaz ve sıvı hızlarında ve farklı tanecik çaplarında, açık-kapalı tank koşullarında, pulse izleyici girişı ile kalma süresi dağılımı deneyleri yapılmıştır. Zamanla çıkış akımındaki izleyici derişimi izlenmiş ve $(t, C_i(t))$ verileri elde edilmiştir (EK 8). (3.1) denkleminde $E(t)$ dağılımı ve (3.2) denkleminde ortalama kalma süresi $\bar{t}$ hesaplanmıştır. Elde edilen $(t, E(t))$ ve t verileri ve denklem (3.3)'den θ ve $(\theta, E(\theta))$ değeri hesaplanmıştır. Lineer olmayan Marquardt-Levenberg paket programı (Bevington 1969) ile $(\theta, E(\theta))$ verileri kullanılarak (2.11) denkleminde verilen eksenel dağılım modelinin zaman alanında uygunlaştırmayla Peclet sayıları hesaplanmıştır. Yapılan bütün hesaplamalar için örnek bir hesaplama EK 9'da verilmiştir.

Bulunan sonuçlar değerlendirilerek sıvı faz tanecik Peclet sayısı olarak adlandırılan Bodenstein sayısı, gaz faz tanecik Reynolds sayısı ve tanecik çapı/reaktör çapı (d_p/D_c) oranını içeren korelasyon geliştirilmiştir. (3.18) denkleminde önerilen korelasyonun katsayıları Marquardt-Levenberg yöntemine dayalı doğrusal olmayan regresyon programı ile bulunmuştur.

Ayrıca sıvı faz ortalama kalma süresi verilerinden yararlanarak (3.19) denkleminde sıvı hold-up hesaplanmış ve (3.21) denkleminde önerilen sıvı faz tanecik Reynold sayısı ve d_p/D_c oranına bağlı olarak korelasyon geliştirilmiştir.

5.3.1 Peclet sayısına sıvı akış hızının etkisi

Dolgulu kolon biyoreaktörde sıvı eksenel dağılım katsayısını içeren sıvı faz Peclet sayısına sıvı hızının etkisini belirlemek amacıyla 1.91×10^{-5} , 3.67×10^{-5} , 5.87×10^{-5} , 8.81×10^{-5} m/s sıvı hızlarında ve 5.51×10^{-3} m/s gaz hızında, 0.2412 ($d_p=4.10$ mm), 0.2094 ($d_p=3.56$ mm), 0.1471 ($d_p=2.50$ mm), 0.0912 ($d_p=1.55$ mm) tanecik çapı/reaktör çapı, d_p/D_c oranlarında deneyler yapılmıştır. Seçilen bu sıvı akış hızı aralığı biyokimyasal sistemlerdeki kalma süresine bağlı olarak tespit edilmiştir. Biyokimyasal tepkimeler genellikle yavaş tepkimeler olduğu için 0.5-20 h (Godia 1987, Gülşen and Mehmetoğlu 1988) gibi uzun kalma sürelerine, dolayısıyla sürekli sistemlerde düşük sıvı akış hızlarına sahiptirler. Çizelge 5.3'de Peclet sayısı, Pe 'nin farklı d_p/D_c oranında sıvı hızıyla değişimi görülmektedir.

Çizelge 5.3'den de görüldüğü gibi, sıvı akış hızının 1.91×10^{-5} m/s'den 8.81×10^{-5} m/s'ye artmasıyla bütün tanecik çaplarında Peclet sayılarında çok fazla bir değişim yoktur. İncelenen aralıkta Peclet sayısı sıvı hızından etkilenmemektedir. Benzer şekilde Hamamcı and Ryu (1987) tapered (konik) dolgulu kolon biyoreaktörde yaptıkları çalışmada, 3.0×10^{-4} m/s gerçek sıvı hızından daha düşük hızlarda Peclet sayısının sıvı hızından etkilenmediğini belirtmişlerdir. Kim et al (1992) akışkan yataklı reaktörde yaptıkları çalışmada 0.02 - 0.12 m/s gibi sıvı hızı aralığında sıvı faz eksenel dağılım katsayısının sıvı hızının artmasıyla arttığını belirtmişlerdir. Yine Stiegel ve Shah (1977) dolgulu kolon reaktörde yaptıkları çalışmada $0.25 - 3.0 \times 10^{-2}$ m/s sıvı hızı aralığında Peclet sayısının sıvı hızının artmasıyla arttığını belirtmişlerdir. Son iki çalışmada kimyasal tepkimeler için uygun olan gaz ve sıvı akış hızları aralığında çalışılmıştır. Görüldüğü gibi hızlar oldukça yüksektir.

5.3.2. Peclet sayısına gaz akış hızının etkisi

Dolgulu kolon biyoreaktör performansına gaz hızının etkisini belirlemek amacıyla 1.47×10^{-3} , 3.67×10^{-3} , 5.51×10^{-3} , 7.34×10^{-3} ve 11.0×10^{-3} m/s gaz hızlarında, 5.87×10^{-5} m/s sıvı hızında ve 0.2412 ($d_p=4.10$ mm), 0.2094 ($d_p=3.56$ mm), 0.1471 ($d_p=2.50$ mm) ve 0.0912 ($d_p=1.55$ mm) d_p/D_c oranlarında KSD deneyleri yapılmıştır. Aerobik

Çizelge 5.3. Peclet sayılarının ve regrasyon katsayılarının sıvı akış hızıyla ve d_p/D_e oranıyla değişimi ($U_G = 5.51 \times 10^{-3}$, m/s)

$U_L \times 10^3$, m/s	$d_p/D_e = 0.2412$		$d_p/D_e = 0.2094$		$d_p/D_e = 0.1471$		$d_p/D_e = 0.0912$	
	Pe	r^2	Pe	r^2	Pe	r^2	Pe	r^2
1.91	3.62	0.73052	5.59	0.84788	8.21	0.98047	7.94	0.93540
3.67	4.86	0.79222	6.32	0.91233	9.33	0.90103	14.57	0.96739
5.87	5.09	0.79608	6.00	0.88368	8.92	0.96835	11.93	0.93093
8.81	4.76	0.78774	4.21	0.89034	12.99	0.96017	14.03	0.95881

fermentasyon sistemlerinde genellikle 0.5-3.0 L/L/min (2.25×10^{-3} - 13.5×10^{-3} m/s) (Seiskari et al 1985, Dawson et al 1988) aralığındaki havalandırma hızlarında çalışılmaktadır. Çalışmadaki gaz hızı aralığı bu bilgilere dayanılarak tespit edilmiştir.

KSD verilerinin eksenel dağılım modeline zaman alanında uygunlaştırılmasıyla bulunan Peclet sayılarının farklı d_p/D_c oranlarında gaz hızıyla değişimi regresyon katsayılarıyla birlikte Çizelge 5.4'de verilmiştir. Ayrıca KSD verilerinin zaman alanında uygunlaştırılmasındaki model sonucunda bulunan $E(\theta)_{\text{model}}$ ve $E(\theta)_{\text{deney}}$ verilerinin uyumunu gösteren örnek bir sonuç EK 9'da verilmiştir. Sıvı faz Peclet sayısının gaz sıvı akış hızıyla değişimi Şekil 5.15'de görülmektedir. Şekilden de görüldüğü gibi, Peclet sayısı, bütün tanecik çaplarında gaz hızının artmasıyla azalmaktadır.

Gaz hızının artması kolon içinde sıvı fazın daha fazla karışmasına yol açmaktadır. Böylece kolon hidrodinamiği piston akıştan sapma göstermektedir. Yani gaz hızının artmasıyla Peclet sayısının azalması sıvı faz eksenel dağılım katsayısını artırmaktadır. Kim et al (1992) akışkan yataklı reaktörde yüksek gaz hızlarında (0.02-0.12 m/s) çalışmışlar, gaz hızının artmasının sıvı faz eksenel dağılım katsayısını artırdığını belirtmişlerdir.

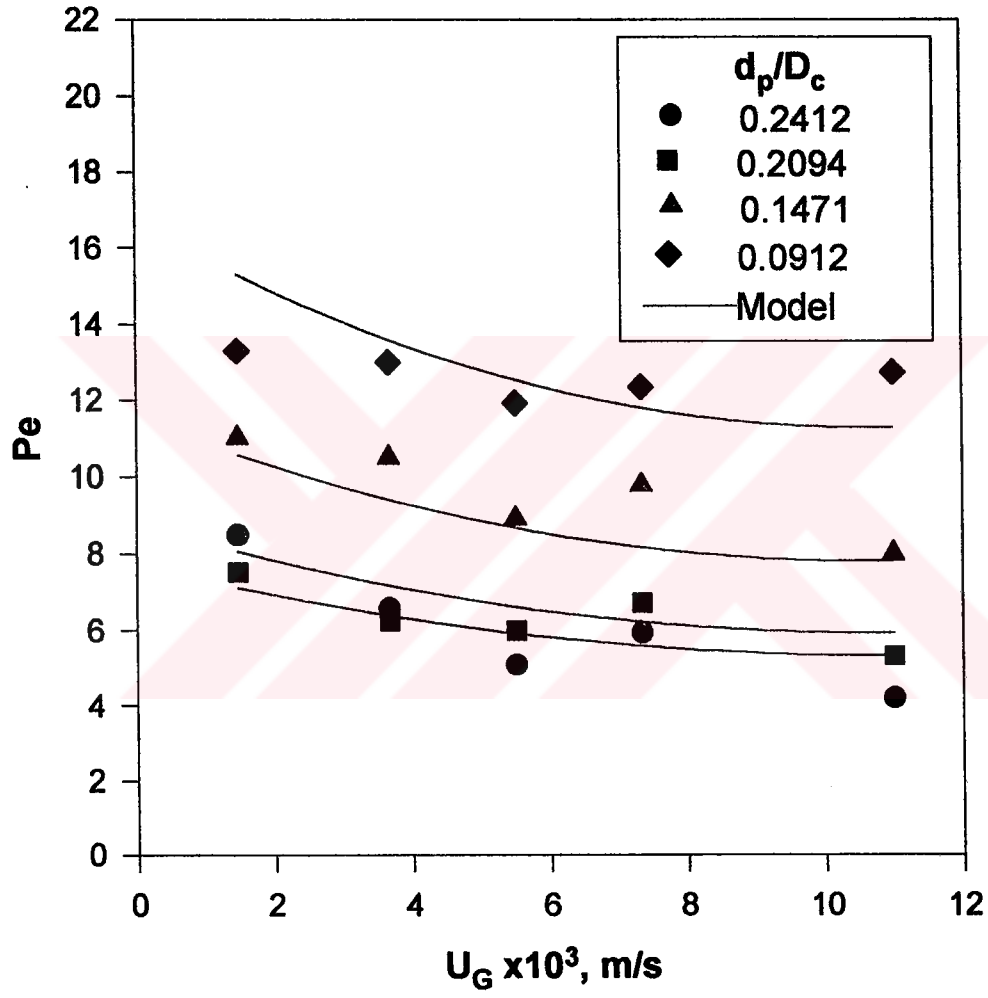
Yine Stiegel and Shah (1977) dolgulu kolon reaktörde 0.13 - 0.75 m/s gaz hızı aralığında çalışmışlar, bu çalışmadaki sonuçlara benzer şekilde gaz hızını artmasıyla sıvı faz Peclet sayısının azaldığını belirtmişlerdir.

5.3.3. Peclet sayısına tanecik çapı/reaktör çapı, d_p/D_c oranının etkisi

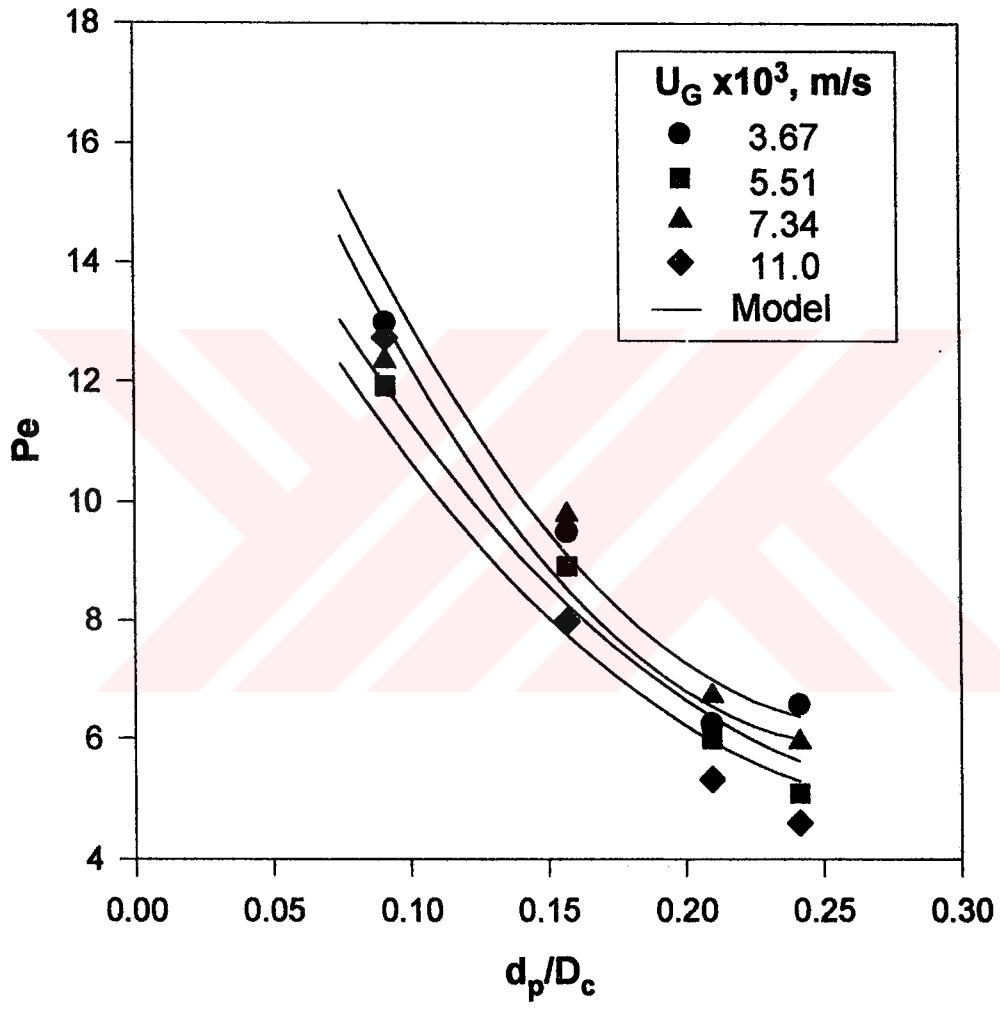
Dolgulu kolon biyoreaktördeki eksenel karışmaya tanecik çapı/reaktör çapı, d_p/D_c oranının etkisini belirlemek amacıyla 0.2412 ($d_p=4.10$ mm), 0.2094 ($d_p=3.56$ mm), 0.1471 ($d_p=2.56$ mm) ve 0.0912 ($d_p=1.55$ mm) d_p/D_c oranlarında, 1.91×10^{-5} - 8.81×10^{-5} m/s sıvı hızı aralığında, 1.47×10^{-3} - 11.0×10^{-3} m/s gaz hızı aralığında KSD deneyleri yapılmıştır. Şekil 5.16'da ise Peclet sayısının farklı gaz hızlarında d_p/D_c ile değişimi verilmiştir. Bütün gaz hızlarında d_p/D_c oranının artmasıyla Pe azalmaktadır. Şekillerden de görüldüğü gibi sıvı faz eksenel dağılımı üzerine d_p/D_c çok etkili olmaktadır. Dolgulu kolon biyoreaktörde tanecik çapının artması yatak gözenekliliğini artırmaktadır. Büyük tanecik çaplı reaktörde yatak gözenekliliği daha büyük olduğundan buralardaki sıvının

Çizelge 5.4 Peclet sayılarının ve regradasyon katsayılarının gaz akış hızıyla ve d_p/D_c oranıyla değişimi
($U_L = 5.87 \times 10^{-5}$, m/s)

$U_G \times 10^3$, m/s	$d_p/D_c = 0.2412$			$d_p/D_c = 0.2094$			$d_p/D_c = 0.1471$			$d_p/D_c = 0.0912$		
	Pe	r^2		Pe	r^2		Pe	r^2		Pe	r^2	
1.47	8.50	0.96080		7.52	0.93110		11.02	0.97860		13.54	0.98807	
3.67	6.58	0.88739		6.25	0.89605		9.15	0.96501		13.60	0.98597	
5.51	5.09	0.79608		6.00	0.88368		8.92	0.96835		11.93	0.93093	
7.34	5.94	0.84356		6.71	0.91572		9.79	0.94707		12.34	0.98914	
11.00	4.20	0.75351		5.33	0.82565		8.73	0.95482		12.74	0.97488	



Şekil 5.15. Peclet sayısının gaz hızıyla değişimi, $U_l = 5.87 \times 10^{-5} \text{ m/s}$



Şekil 5.16. Peclet sayısının Tanecik çapı/reaktör çapı, d_p/D_c ile değişimi. $U_L = 5.87 \times 10^{-5}$ m/s

karışması daha etkin olmaktadır. Tanecik çapıyla Peclet sayısının azalması sıvı faz eksenel dağılım katsayısının artmasıyla sonuçlanır.

Literatürde, Cassanello et al (1992) üç fazlı dolgulu kolon biyoreaktörde tanecik çapının azalmasının reaktör performansını artırdığını belirtmişlerdir. Yine Stiegel and Shah (1977) dolgulu kolon reaktördeki çalışmalarında tanecik çapının artmasıyla sıvı faz Peclet sayısının azaldığını göstermişlerdir.

5.3.4. Bodenstein sayısı için korelasyonun geliştirilmesi

Reaktör tasarım parametrelerinin bulunmasında reaktör hidrodinamiği çok büyük önem taşır. Eksenel dağılım katsayısı dolgulu kolon reaktörün davranışını belirlemektedir. Bu amaçla, bu çalışmada biyokimyasal koşullarda dolgulu kolon biyoreaktör performansına yani tanecik Peclet sayısı olarak tanımlanan Bodenstein sayısına (Bo) etki ettiği bulunan gaz hızları ve d_p/D_c oranlarına bağlı olan ve Bölüm 3’de (3.18) denklemleriyle gösterilen korelasyon geliştirilmiştir.

Eksenel dağılım modelinin (2.11) denklemi ile verilen çözümüne (Levenspiel 1979) Marquardt-Levenberg paket programı yardımıyla zaman alanında uygunlaştırma ile bulunan Peclet sayılarından aşağıdaki eşitlikle Bodenstein sayılarına geçilmiştir.

$$Bo = (d_p/L)Pe \quad (5.1)$$

Bodenstein sayıları, incelenen gaz hızı aralığındaki tanecik gaz faz Reynolds sayıları ve incelenen d_p/D_c değerlerindeki veriler Marquardt-Levenberg regresyon programı kullanılarak değerlendirilmiştir. Bulunan katsayı değerleri, $a' = 0.166$, $b' = -0.157$, $c' = 0.386$ ’dir. Bu katsayıların bulunmasındaki regresyon katsayısı $r^2 = 0.99147$ ’dir. Korelasyonun geçerli olduğu sıvı hızı aralığı $1.91 \times 10^{-5} \leq U_L \leq 8.85 \times 10^{-5}$ m/s, gaz hızı aralığı $0.00147 \leq U_G \leq 0.0110$ m/s, d_p/D_c aralığı $0.0912 \leq d_p/D_c \leq 0.2412$ ’dir. Bulunan sabitler (3.18) denkleminde yerine yazılarak geliştirilen korelasyon aşağıdaki denklemlerle verilebilir.

$$Bo = 0.166 Re_G^{-0.157} \left(\frac{d_p}{D_c} \right)^{0.386} \quad (5.2)$$

Şekil 5.15, 5.16'da model sonuçları ile deney sonuçlarının iyi bir uyum içinde olduğu görülmektedir.

Literatürde akış hızı aralığı biyokimyasal tepkime sistemine uyan bir çalışma bulunmamaktadır. Dolgulu kolon reaktör için geliştirilen korelasyonlarda genellikle sıvı ve gaz hızı aralığı yüksektir.

Stiegel and Shah (1977) dolgulu kolon reaktör için aşağıdaki korelasyonu geliştirmişlerdir.

$$Bo = 0.128(Re_L)^{0.245} (Re_G)^{-0.16} (ad_p)^{0.53} \quad (5.3)$$

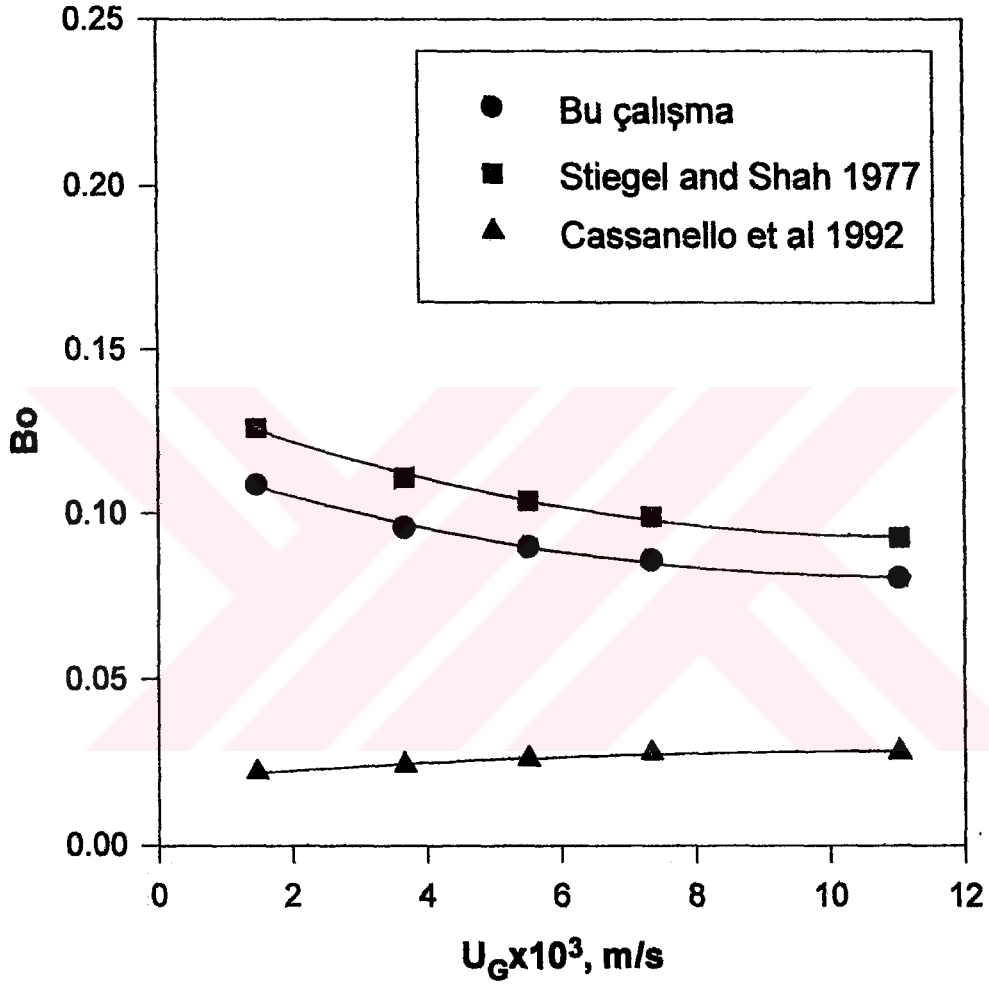
Bu korelasyonun geçerli olduğu sıvı hızı aralığı $0.0025 < U_L < 0.03$ m/s, gaz hızı aralığı $0.13 < U_G < 0.75$ m/s'dir.

Literatürde gaz ve sıvı Reynold sayılarına bağlı olarak verilmiş bir başka korelasyon, Cassanello et al (1992) tarafından gaz ve sıvı akımının birlikte yukarı akışlı dolgulu kolon için geliştirilen korelasyondur (Denklem 5.4). Bu korelasyonun geçerli olduğu gaz ve sıvı akış hızı aralığı sırasıyla $4.3 \times 10^{-3} < U_G < 39.0 \times 10^{-3}$ m/s ve $2.9 \times 10^{-3} < U_L < 29.0 \times 10^{-3}$ m/s'dir.

$$Bo = 0.05 Re_L^{0.53} Re_G^{0.134} \quad (5.4)$$

Stiegel and Shah (1977)'in ve Cassanello et al (1992)'un geliştirdikleri korelasyonlar ile bu doktora çalışmasındaki korelasyonun karşılaştırılması (EK 10) Şekil 5.17'de verilmiştir. Şekillerden de görüldüğü gibi Stiegel and Shah'ın korelasyonundan hesaplanan Bodenstein sayıları bu çalışmadaki korelasyondan hesaplanan Bodenstein sayılarından biraz daha yüksek olmakla birlikte uyumlu olduğu söylenebilir. Bu fark korelasyonlar için geçerli olan gaz ve sıvı hızlarının farklılığından oluşmaktadır. Cassanello et al (1992)'un geliştirdiği korelasyondan hesaplanan Bo'ı ise oldukça düşüktür. Denklem (5.4)'e bakılacak olursa Bo'nın Re_G ile arttığı görülmektedir. Bu çalışmada ve Stiegel and Shah (1977)'nin çalışmasındaki korelasyonlarda ise Bo, Re_G ile azalmaktadır.

Literatürde dolgulu kolon reaktörlerin idealden sapması üzerine yapılan çalışmaların çoğu kimyasal sistemler üzerinedir. Dolayısıyla geliştirilen korelasyonların gaz ve sıvı akış hızı aralığı biyokimyasal sistemlere göre daha yüksek olmaktadır. Bu çalışmada ise biyokimyasal sistemler için sıvı faz Bodenstein sayısı için korelasyon geliştirilmiştir.



Şekil 5.17. $d_p/D_c = 0.2412$ ($d_p=4.10 \text{ mm}$) ve $U_L=5.87 \times 10^{-5} \text{ m/s}$ için korelasyon sonuçlarının karşılaştırılması

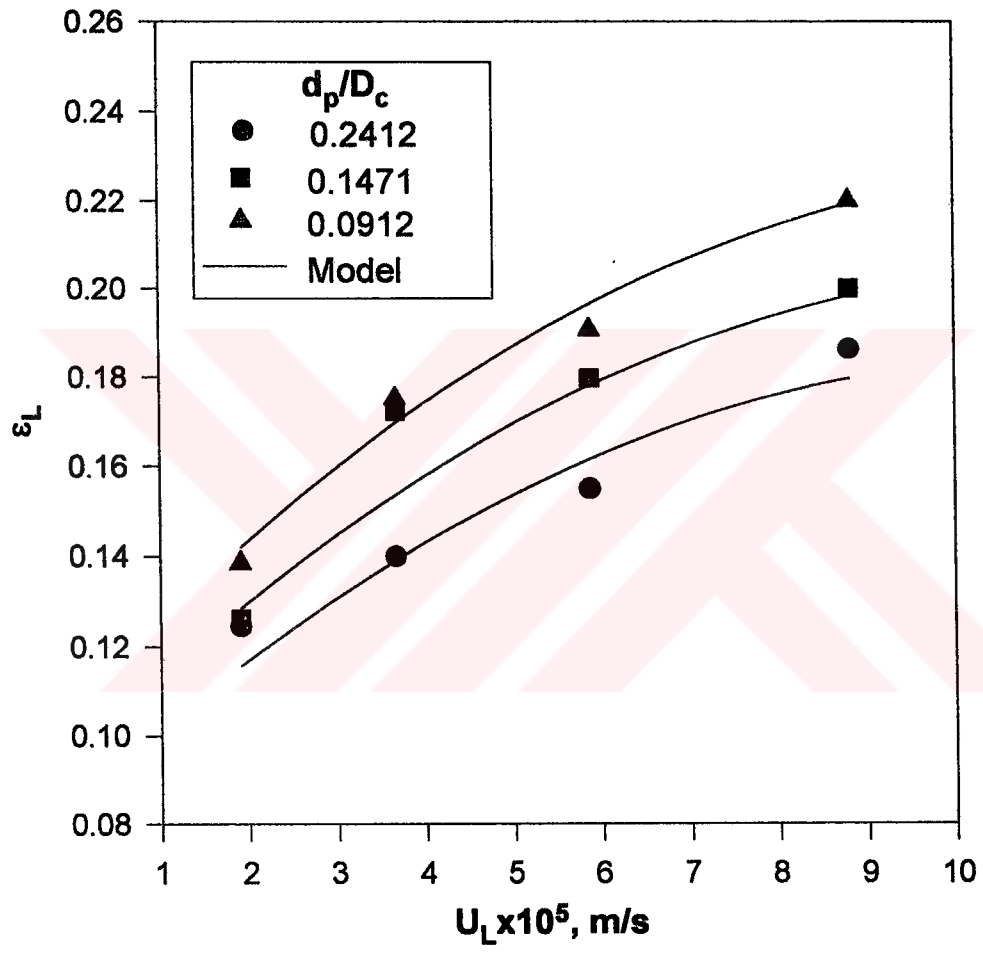
5.3.5. Sıvı hold-up'a sıvı akış hızının etkisi

Dolgulu kolon biyoreaktörde sıvı hold-up'a sıvı akış hızının etkisini belirlemek amacıyla 1.91×10^{-5} , 3.67×10^{-5} , 5.87×10^{-5} , 8.81×10^{-5} m/s sıvı hızlarında ve 5.51×10^{-3} m/s gaz hızında, 0.2412 ($d_p=4.10$ mm), 0.2094 ($d_p=3.56$ mm), 0.1471 ($d_p=2.50$ mm), 0.0912 ($d_p=1.55$ mm) tanecik çapı/reaktör çapı, d_p/D_c oranlarında KSD deneyleri yapılmıştır. Elde edilen ortalama kalma süresi, $\bar{t}$ verilerinin (3.19) denklemiyle değerlendirilmesiyle sıvı hold-up değerleri hesaplanmıştır. Şekil 5.18'de farklı tanecik çapı/reaktör çapı oranlarında sıvı hold-up'ın sıvı akış hızıyla değişimi verilmiştir. Şekilden de görüldüğü gibi bütün tanecik çapı/reaktör çapı oranlarında sıvı akış hızının artmasıyla sıvı hold-up artmaktadır (Çizelge EK15).

Sabit gaz akış hızında sıvı akış hızının artması kolon içindeki sıvı miktarını artırmaktadır. Literatürde de benzer sonuçlar elde edilmiştir. Stiegel and Shah (1977) 0.25×10^{-2} - 3.0×10^{-2} m/s sıvı akış hızı aralığında reaktör boşluk hacmi temeline göre tanımladığı sıvı hold-up'ın sıvı akış hızının artmasıyla arttığını bulmuşlardır. Benzer şekilde Eroğlu and Doğu 0.65×10^{-3} - 1.5×10^{-3} m/s sıvı akış hızı aralığında sızıntılı akış reaktörde yaptıkları çalışmada sıvı akış hızının artmasıyla sıvı hold-up'ın arttığını belirtmişlerdir.

5.3.6. Sıvı hold-up'a gaz akış hızının etkisi

Dolgulu kolon biyoreaktörde sıvı hold-up'a gaz akış hızının etkisini belirlemek amacıyla 1.47×10^{-3} , 3.67×10^{-3} , 7.34×10^{-3} ve 11.0×10^{-3} m/s gaz hızlarında, 5.87×10^{-5} m/s sıvı hızında ve 0.2412 ($d_p=4.10$ mm), 0.2094 ($d_p=3.56$ mm), 0.1471 ($d_p=2.50$ mm) ve 0.0912 ($d_p=1.55$ mm) d_p/D_c oranlarında yapılan KSD deney verilerinden sıvı hold-up değerleri hesaplanmıştır. Çizelge 5.5'de incelenen bütün tanecik çaplarında sıvı hold-up'ın gaz hızıyla değişimi verilmiştir. Çizelgeden de görüldüğü gibi gaz akış hızının artmasıyla sıvı hold-up'ta düzenli bir artış veya azalma olamamıştır. Sonuç olarak sıvı hold-up'ın incelenen gaz akış hızı aralığında değişmediği söylenebilir. Benzer şekilde Eroğlu and Doğu (1983) sızıntılı akış reaktörde yaklaşık 7.45×10^{-4} - 15.0×10^{-4} m/s gaz akış hızı aralığında yaptıkları çalışmada sıvı hold up'ın gaz akış hızından etkilenmediğini



Şekil 5.18. Sıvı hold-up'ın sıvı akış hızı ile değişimi. $U_G = 5.51 \times 10^{-3}$ m/s

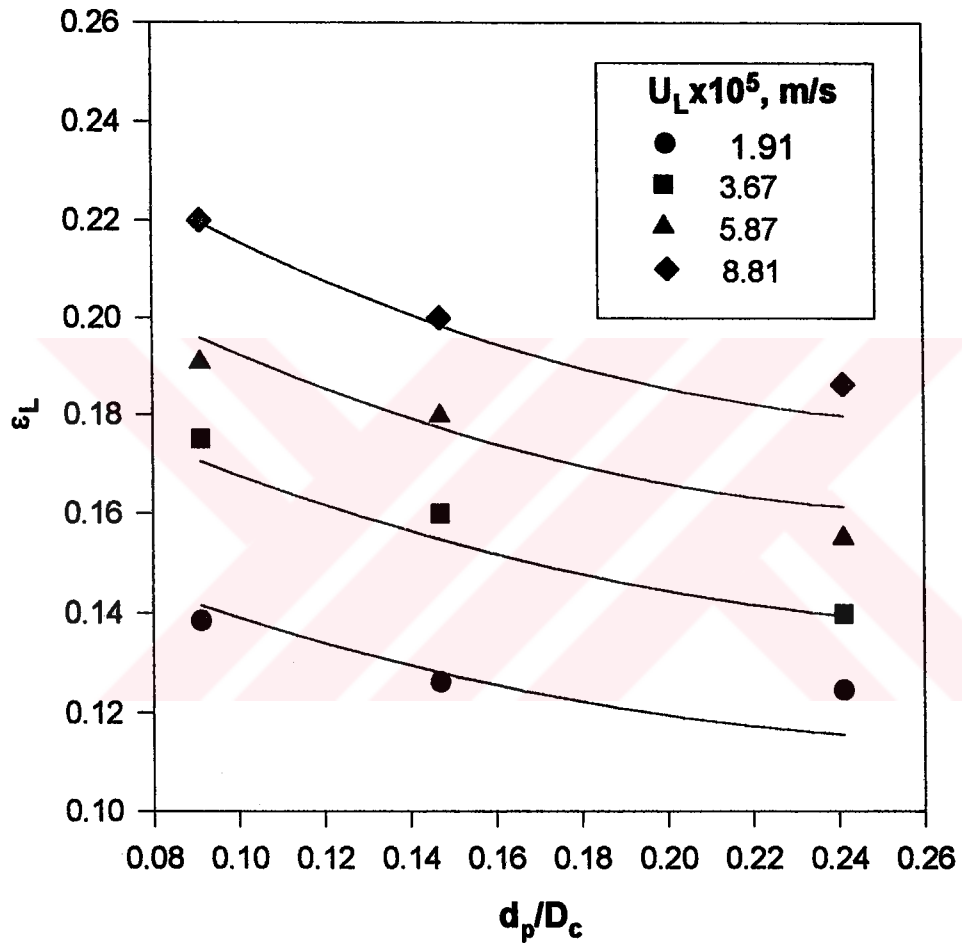
Çizelge 5.5. Sıvı hold-up'ın gaz hızıyla ve d_p/D_c oranıyla değişimi. ($U_L=5.87 \times 10^{-5}$ m/s)

$U_G \times 10^3, \text{m/s}$	ϵ_L			
	$d_p/D_c=0.2412$	$d_p/D_c=0.2094$	$d_p/D_c=0.1471$	$d_p/D_c=0.0912$
1.47	0.1518	0.1633	0.1748	0.1807
3.67	0.1458	0.1566	0.1813	0.1646
5.51	0.1550	0.1782	0.1797	0.1812
7.34	0.1223	0.1574	0.2031	0.1453
11.01	0.1384	0.1548	0.1588	0.1283

belirtmişlerdir. Stiegel and Shah (1977) gaz sıvı birlikte yukarı akışlı dolgu kolon reaktörde 0.13 - 0.75 m/s gaz akış hızı aralığı gibi daha yüksek aralıkta yaptıkları çalışmada sıvı hold-up'ın gaz akış hızının artmasıyla azaldığını belirtmişlerdir.

5.3.7. Sıvı hold-up'a tanecik çapı/reaktör çapı oranının etkisi

Dolgu kolon biyoreaktörde sıvı hold-up'a tanecik çapı/reaktör çapı, d_p/D_c oranının etkisini belirlemek amacıyla 0.2412 ($d_p=4.10$ mm), 0.2094 ($d_p=3.56$ mm), 0.1471 ($d_p=2.56$ mm) ve 0.0912 ($d_p=1.55$ mm) d_p/D_c oranlarında, 1.91×10^{-5} - 8.81×10^{-5} m/s sıvı hızı aralığında, 1.47×10^{-3} - 11.0×10^{-3} m/s gaz hızı aralığında yapılan KSD deneyleri sonucunda sıvı hold-up değerleri hesaplanmıştır. Şekil 5.19'da ise sıvı-hold up'ın farklı gaz hızlarında d_p/D_c ile değişimi verilmiştir. Bütün gaz hızlarında d_p/D_c oranının artmasıyla sıvı hold-up azalmaktadır. Burada verilen sıvı hold-up statik ve dinamik hold-up'ların toplamı olarak verilmiştir. Tanecik çapı küçüldüğünde reaktördeki tanecik sayısı artacak ve dolayısıyla statik hold-up artacaktır. Tanecik çapının azalmasıyla statik hold-up artacak bu da toplam sıvı hold-up'ı artıracaktır. Stiegel and Shah (1977) eşdeğer tanecik çapı 0.173 in ve 0.150 in olan iki silindirik dolgu büyüklüğünde çalışmış ve tanecik çapının 0.150 in'den 0.175 in'e artmasıyla sıvı hold-up'ın arttığını göstermiştir. Michell and Furzer (1972) sıvı hold-up için Otake ve Okada tarafından geliştirilen korelasyonu kullanmışlar ve sıvı hold-up'ın tanecik çapından etkilenmediğini



Şekil 5.19. Sıvı hold-up'ın tanecik çapı/reaktör çapı, d_p/D_c ile değişimi.

$$U_G = 5.51 \times 10^{-3} \text{ m/s}$$

belirtmişlerdir. Fakat bu sonuçlar sızıntılı akış reaktörler için verilmiştir.

5.3.8. Sıvı hold-up için korelasyonun geliştirilmesi

Çok fazlı reaktörlerin tasarımında eksenel dağılım katsayısı gibi sıvı hold-up da çok önemlidir. Bu nedenle bu çalışmada biyokimyasal koşullarda, gaz ve sıvı birlikte yukarı akışlı dolgulu kolon biyoreaktörde sıvı hold-up korelasyonunun çıkartılması amaçlanmıştır. Bölüm 5.3.5, 5.3.6 ve 5.3.7’de görüldüğü gibi incelenen gaz, sıvı akış hızlarında ve tanecik çaplarında sıvı hold-up sıvı akış hızı ve tanecik çapı/reaktör çapı oranından etkilenmektedir. Bu sonuçlara göre sıvı hold-up korelasyonu için sıvı faz tanecik boş kolon Reynold sayısına ve tanecik çapı/reaktör çapı oranına bağlı olarak (3.21) denklemiyle önerilen korelasyon geliştirilmiştir (Denklem 5.5).

$$\varepsilon_L = 0.117 \text{Re}_L^{0.289} d_p / D_c^{-0.498} \quad (5.5)$$

Deney verilerinin Marquardt-Levenberg lineer olmayan regrasyon programı kullanılarak Denklem (5.5)’de katsayıların bulunmasındaki regrasyon katsayısı $r^2 = 0.98654$ ‘dür. Korelasyonun geçerli olduğu sıvı hızı aralığı $1.91 \times 10^{-5} \leq U_L \leq 8.85 \times 10^{-5}$ m/s, gaz hızı aralığı $1.47 \times 10^{-3} \leq U_G \leq 11.0 \times 10^{-3}$ m/s, d_p/D_c aralığı $0.0912 \leq d_p/D_c \leq 0.2412$ ’dir.

Şekil 5.18, 5.19’da model sonuçları ile deney sonuçlarının iyi bir uyum içinde olduğu görülmektedir.

Literatürde akış hızı aralığı biyokimyasal tepkime sistemine uyan bir çalışma bulunmamaktadır. Birlikte yukarı akışlı dolgulu kolon reaktör için geliştirilen korelasyonlarda genellikle sıvı ve gaz hızı aralığı yüksektir.

Stiegel and Shah (1977) yukarı akışlı dolgulu kolon reaktörde sıvı hold-up için aşağıdaki korelasyonu geliştirmişlerdir.

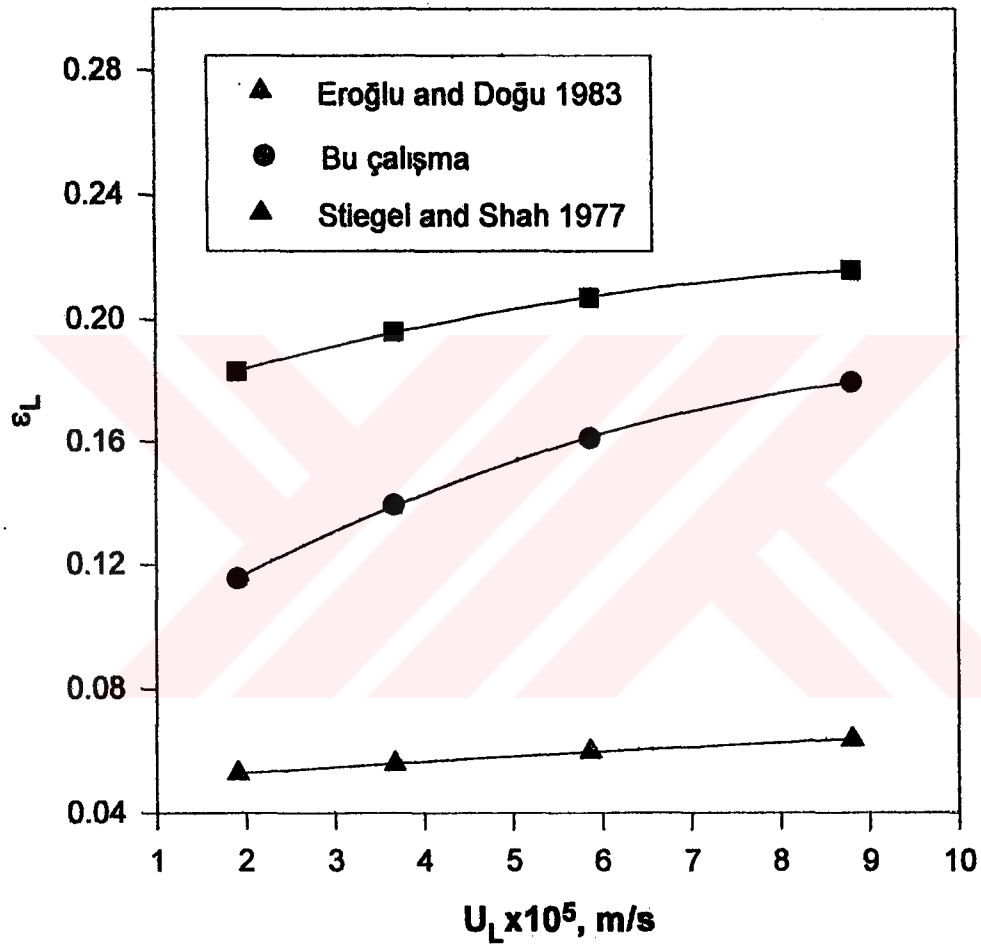
$$h_L = 1.47 \text{Re}_L^{0.11} \text{Re}_G^{-0.14} (ad_p)^{-0.41} \quad (5.6)$$

Bu korelasyonun geçerli olduğu sıvı hızı aralığı $0.25 \times 10^{-2} < U_L \leq 3.0 \times 10^{-2}$ m/s, gaz hızı aralığı $0.13 < U_G \leq 0.75$ m/s'dir.

Stiegel and Shah (1977)'ın sıvı hold-up için geliştirdiği korelasyon ile bu çalışmadaki korelasyonun karşılaştırılması Şekil 5.20'de verilmiştir. Şekilden de görüldüğü gibi Stiegel and Shah (1977)'ın korelasyonuyla hesaplanan sıvı hold-up değerleri daha yüksek bulunmuştur. Bunun nedeni daha yüksek sıvı hızlarında çalışmış olmalarıdır. Sıvı hold-up değerlerinde çalışma düzeni de önemlidir. Gaz ve sıvı akımı birlikte yukarı akışlı reaktörde sıvı hold-up değerleri sızıntılı akış reaktörlere göre daha yüksek olmaktadır (Cassanello et al 1992). Bu fark Şekil 5.20'de, bu çalışmadaki değerler ile Eroğlu and Doğu (1983)'ün sızıntılı akış reaktörler için geliştirdikleri korelasyon değerlerinde görülmektedir. Eroğlu ve Doğu (1983)'ün sızıntılı akış reaktörler için geliştirdikleri korelasyon aşağıda verilmiştir.

$$\varepsilon_L = 0.038 Re_L + 0.05 \quad (5.7)$$

Korelasyonların karşılaştırılmasındaki örnek hesaplamalar EK 11'de verilmiştir.



Şekil 5.20. $d_p/D_c = 0.2412$ ($d_p=4.10$ mm) için sıvı hold-up korelasyon sonuçlarının karşılaştırılması.

5.4. Dolgulu Kolon Biyoreaktörde Sitrik Asit Üretimi ve Model Sonuçlarının Karşılaştırılması.

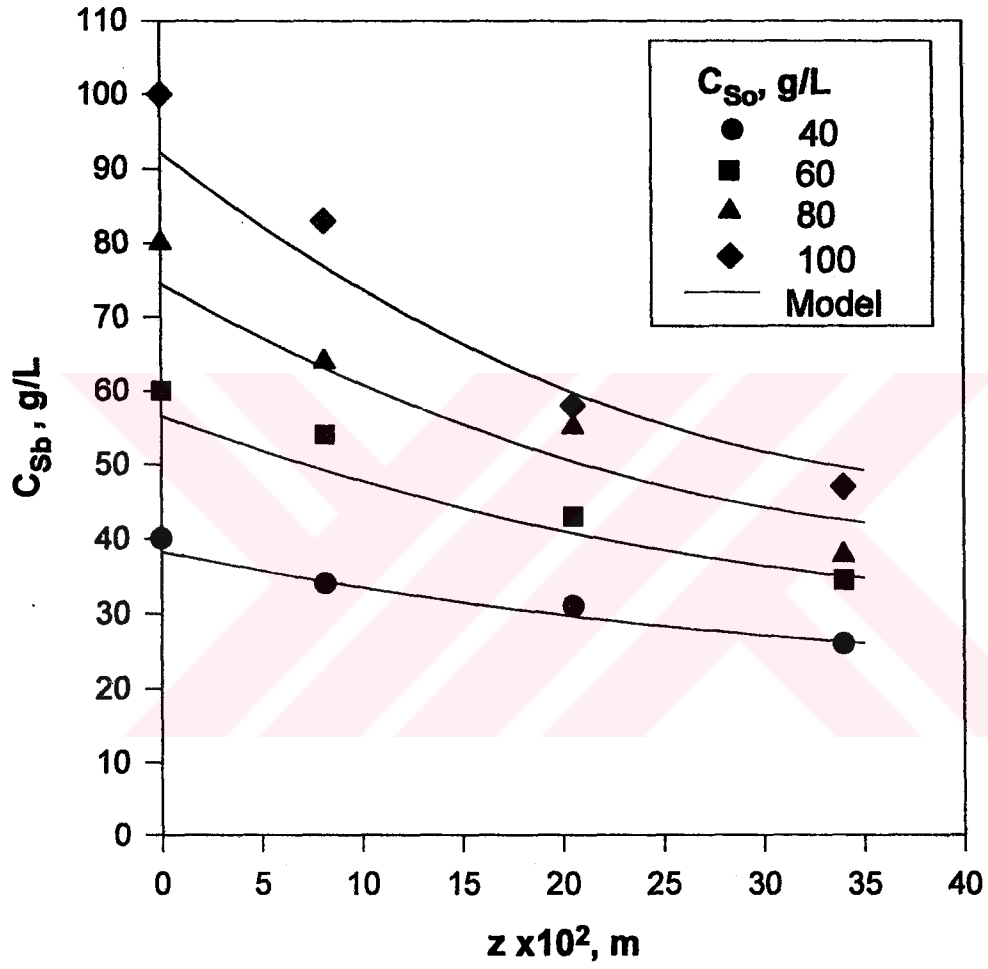
Dolgulu kolon biyoreaktörün modellenmesi Bölüm 3’de ayrıntılı olarak anlatılmıştır. Bu varsayımlara dayanarak incelenen deney şartlarında, sıvı faz kütle aktarım katsayısı (EK 12), sıvı faz eksenel dağılım katsayısı (EK 13), Danckwerts sınır koşullarında 2.dereceden lineer olmayan diferansiyel denklemin ve üçüncü dereceden cebirsel denklemin (EK 14) ortak çözümünden model sonuçları hesaplanmıştır.

5.4.1. Farklı sakkaroz derişimlerindeki model çözümleri

Dolgulu kolon biyoreaktörün modellenmesinin gerçekleştirildiği bu çalışmada $D_f=0.23 \text{ h}^{-1}$ değerine karşılık gelen sıvı hızında ve $Q_v=0.75 \text{ vvm}$ ’e karşılık gelen gaz hızında, $d_p=3.0 \text{ mm}$ ve $\varepsilon=0.30$ değerinde, (5.3) denkleminde sıvı faz Peclet sayısı , (3.17) denkleminde sıvı faz kütle aktarım katsayısı hesaplanıp, $m=244 \text{ g pellet}/215 \text{ cm}^3$ reaktör hacmi için (3.14), (3.16) ve (3.20) denklemlerinin çözümleri gerçekleştirilmiştir. $C_{s0}=40, 60, 80, 100 \text{ g/L}$ sakkaroz derişimleri için yapılan çözümler sonucunda kolon boyunca sakkaroz derişimleri elde edilmiştir. $T=30^\circ\text{C}$, $\text{pH}=3.4$, $d_p=3.0 \text{ mm}$, $\varepsilon=0.30$, $Q_v=0.75 \text{ vvm}$ O_2 ve $w=244 \text{ g pellet}$ koşullarda gerçekleştirilen deney sonucunda kolon boyunca alınan örnekler analizlenmiş model çözümleriyle karşılaştırılmalı olarak Şekil 5.21’de gösterilmiştir. Şekilden de görüldüğü gibi kolon boyunca sakkaroz derişimi azalmaktadır. Ayrıca model sonuçlarıyla deney sonuçları iyi bir uyum göstermektedir.

Literatürde sitrik asit üretiminin gerçekleştirildiği reaktör modellenmesine ilişkin herhangi bir çalışmaya rastlanamamıştır. Genellikle çalışmalar etanol üretiminin gerçekleştirildiği reaktörler üzerinedir (Godia et al 1987, Hamamcı and Ryu 1987, Petersen and Davison 1995).

Yine literatürde model çözümleri üzerine yapılan çalışmaların kısıtlı olduğu görülmüştür. Godia et al (1987) κ -carregenana tutuklanmış *S. cerevisiae* mayası ile etanol tepkimesi varlığındaki dolgulu kolon biyoreaktörün modellenmesini gerçekleştirmişlerdir. Modeldeki substrat derişimi yüzey derişimi olarak yazılmış fakat yüzey derişiminin nasıl bulunduğu açık olarak belirtilmemiştir.



Şekil 5.21. Dolgulu kolon boyunca sakkaroz derişiminin başlangıç sakkaroz derişimi ile eğişimi. $D_t=0.23 \text{ h}^{-1}$, $T=30^\circ\text{C}$, $d_p=3 \text{ mm}$, $\text{pH}=3.4$, $Q_v=0.75$ vvm O_2 $\epsilon=0.30$, $w=244 \text{ g pellet}$

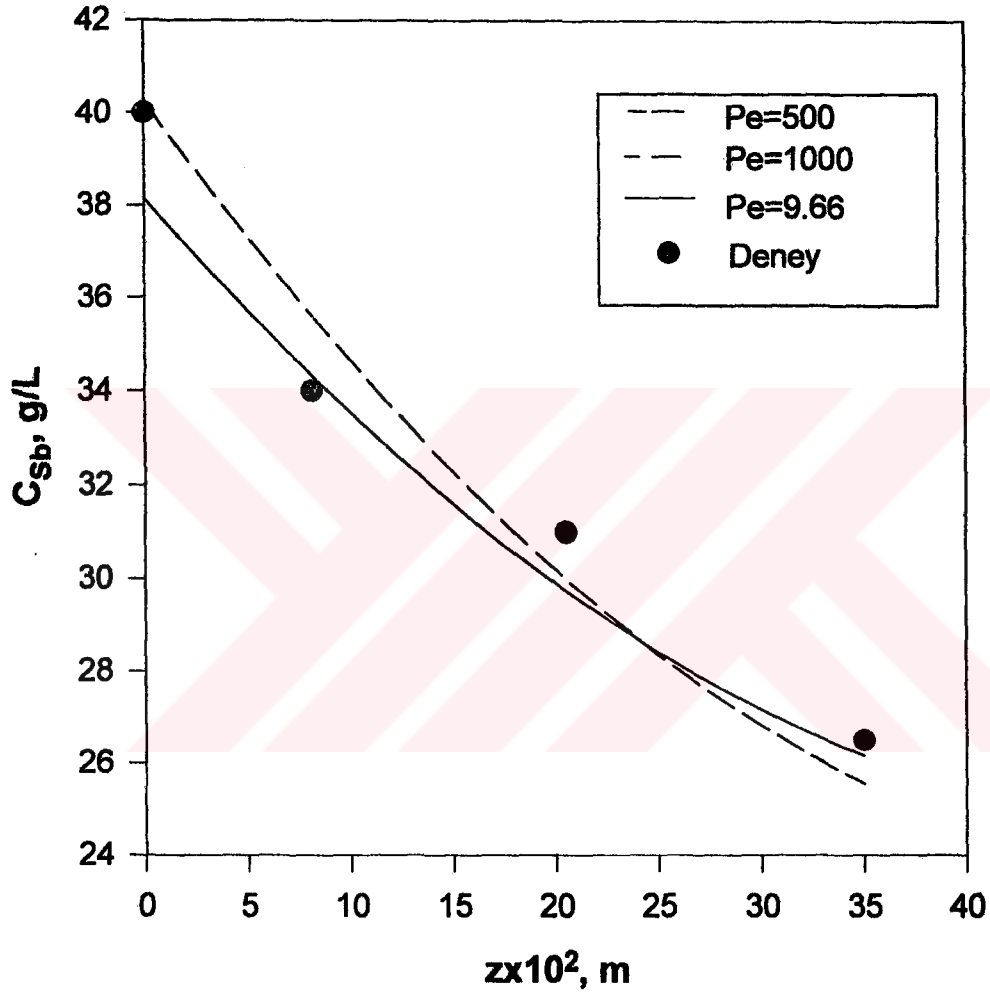
Hamamcı and Ryu (1987) çalışmalarında, etanol tepkimesi varlığındaki tapered (konik) dolgulu kolon biyoreaktörün modellenmesi gerçekleştirmişler denklem çözümlerinde Danckwerts sınır koşullarını kullanmışlar ve sınır değer problemi halindeki denklemleri başlangıç değer problemine çevirerek çözümünün yapıldığını belirtmişlerdir.

Ching and Ho (1984) glukozun fruktoza enzimatik dönüşümünün gerçekleştirildiği dolgulu kolon biyoreaktörün modellenmesi çalışmasında kütle aktarım kısıtlamasını ihmal etmiş ve lineer olmayan Michaelis-Menten hız denklemini 1. mertebe kinetik kabul ederek lineerleştirmiştir. Denklem analitik olarak çözülmüştür. Çözümleri dağılma modeliyle, piston akış modeliyle ve tam karışmalı reaktör modeliyle gerçekleştirip deney verileriyle en iyi uyumu dağılma modelinin gösterdiğini belirtmişlerdir.

Lortie and Thomas (1986) ise literatürdeki farklı enzimatik tepkime sonuçlarını kullanarak dolgulu kolon reaktörün modellenmesini piston akış varsayımına göre yazmış ve çözümünü gerçekleştirmiştir. Deney verileri ile iyi bir uyum gösterdiğini belirtmişlerdir. Sıvı faz eksenel dağılım katsayısının ihmal edilebileceğini belirtmişlerdir.

Bu çalışmada dolgulu kolon biyoreaktörün eksenel dağılım modeli veya piston akış modeliyle çözümündeki farklılığı görmek amacıyla Peclet sayıları 500 ve 1000 alınarak eksenel dağılım modeli çözülmüştür. Peclet sayısının 500'ün üzerindeki değerlerindemodel sonuçlarında fazla değişimin olmadığı görülmüş ve piston akış varsayımına ulaşıldığı kabul edilmiştir. Şekil 5.22'de $C_{s0}=40$ g/L, $D_r=0.23$ h⁻¹ ve bölüm 5.4.1.'deki koşullarda gerçekleştirilen deney sonuçlarıyla model denkleminin, incelenen koşullardaki $Pe=9.54$ değerinde ve $Pe=500$, $Pe=1000$ değerlerinde çözümü yapılmıştır. Deney verileri ile model sonuçlarındaki uyumun regrasyon katsayısına bakıldığında, $Pe=9.66$ iken $r^2=0.973575$, $Pe=500$ iken $r^2=0.949697$ ve $Pe=1000$ iken $r^2=0.941634$ bulunmuştur. Sonuç olarak bu reaktör boyutunda ve bu koşullarda dolgulu kolon biyoreaktörün modellenmesinde aralarında çok büyük bir fark olmamakla birlikte eksenel dağılım modelinin uygun olduğu söylenebilir.

Bu doktora çalışmasında sıvı faz eksenel dağılımı dikkate alınarak ve sıvı faz kütle aktarımı kısıtlamasına göre model denklemleri yazılmış ve ikinci dereceden lineer olmayan diferansiyel denklem ile üçüncü dereceden cebirsel denklemin çözümü Danckwerts sınır koşullarıyla eş anlı olarak kısıtlayıcı bileşen olarak sakkaroz

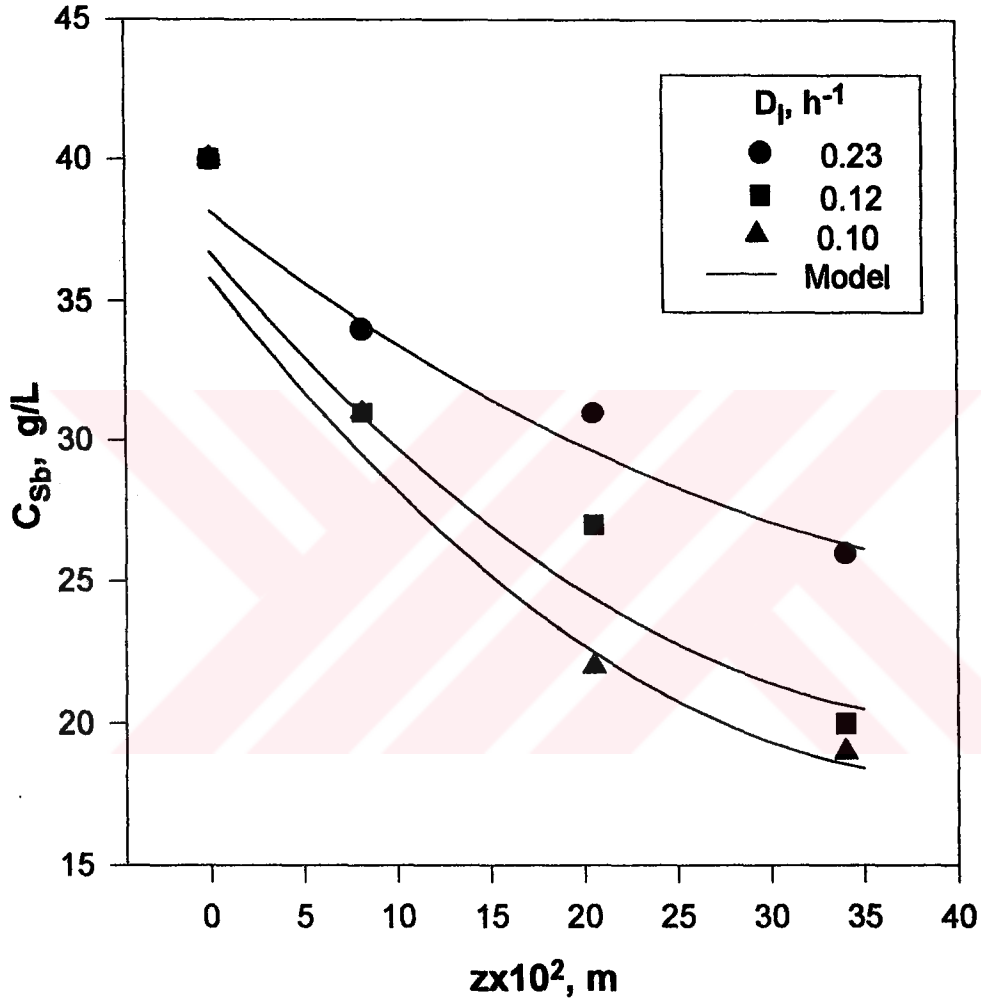


Şekil 5.22. $C_{s0}=40$ g/L için dolgulu kolon boyunca sakkaroz derişiminin farklı Peclet sayıları ile değişimi. $T=30^{\circ}\text{C}$, $d_p=3$ mm, $\text{pH}=3.4$, $Q_v=0.75$ vvm O_2 , $\epsilon=0.30$, $w=244$ g pellet

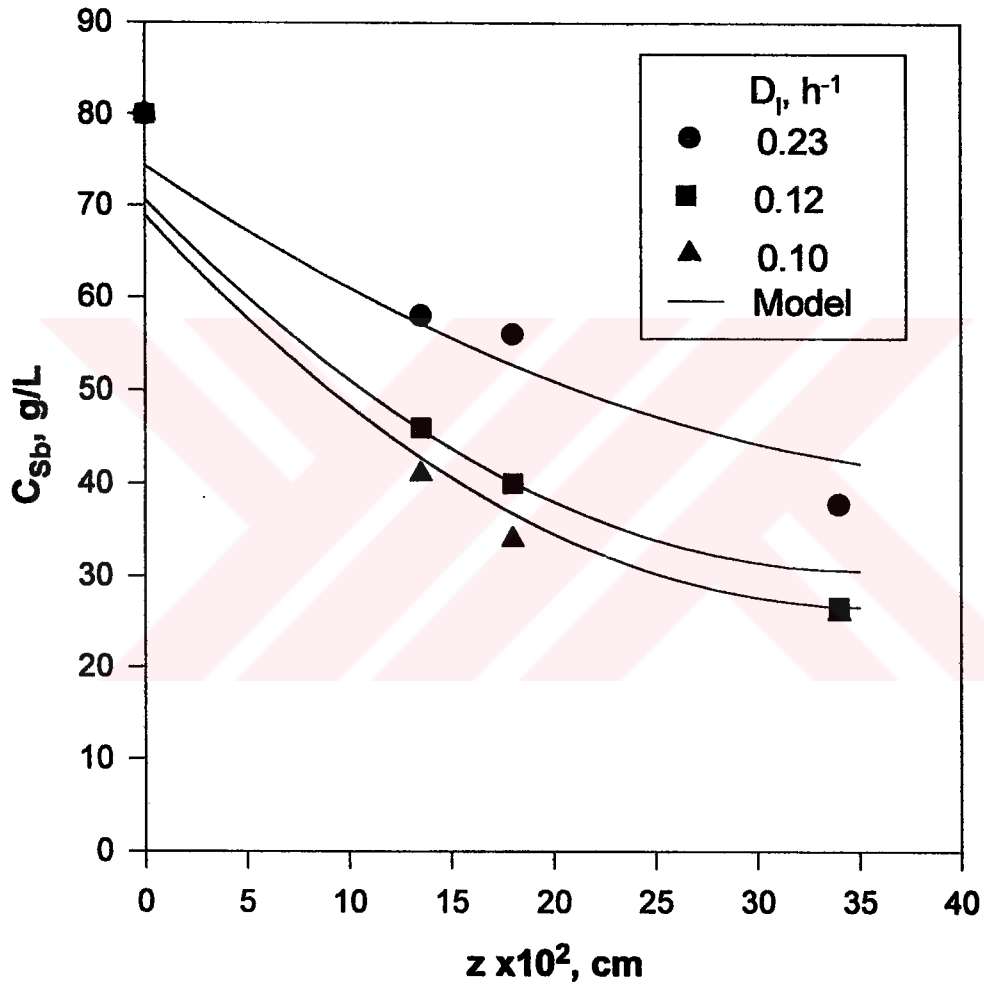
düşünülerek çözülmüştür. Sonuçların deney verileriyle iyi bir uyum sağladığı görülmüştür.

5.4.2. Farklı seyrelme hızlarındaki model çözümleri

0.10, 0.12, 0.23 h^{-1} seyrelme hızlarına karşılık gelen sıvı hızlarında ve $Q_v=0.75$ vvm O_2 akış hızına karşılık gelen gaz hızında, $d_p=3.0$ mm pellet çapında ve $\epsilon=0.30$ boşluk kesrinde sıvı faz Peclet sayısı ve kütle aktarım katsayısı hesaplanarak model denklemlerinin çözümleri gerçekleştirilmiştir. Sonuçlar, bölüm 5.4.1'deki koşullarda gerçekleştirilen deney sonuçlarıyla karşılaştırmalı olarak $C_{so}=40$ g/l için Şekil 5.23'de ve $C_{so}=80$ g/L için Şekil 5.24'de verilmiştir. Şekillerden de görüldüğü gibi bütün seyrelme hızlarında kolon boyunca sakkaroz derişimleri azalmaktadır. En yüksek seyrelme hızında daha kısa kalma süresine sahip olduğu için sakkaroz derişimindeki azalma daha az olmaktadır. Deney verileriyle model sonuçları iyi bir uyum içindedir. Çalışmada model çözümleri eksenel dağılma dikkate alınarak gerçekleştirilmiştir. Eksenel dağılım katsayısını içeren Pe için geliştirilen korelasyondan hesaplanarak alınmıştır. Sonuç olarak geliştirilen bu korelasyonun bu tip biyokimyasal sistemler için uygun olduğu söylenebilir.



Şekil 5.23. $C_{s0}=40$ g/L için dolgulu kolon boyunca sakkaroz derişiminin seyrelme hızı ile değişimi. $T=30^{\circ}C$, $d_p=3$ mm, $pH=3.4$, $Q_v=0.75$ vvm O_2 , $\epsilon=0.30$, $w=244$ g pellet



Şekil 5.24. $C_{s0}=80$ g/L için dolgulu kolon boyunca sakkaroz derişiminin seyrelme hızı ile değişimi. $T=30^\circ\text{C}$, $d_p=3$ mm, $\text{pH}=3.4$, $\varepsilon=0.30$, $Q_v=0.75$ vvm O_2 $w=244$ g pellet

6. SONUÇLAR

Bu çalışmada *Aspergillus niger* mikroorganizmasıyla sitrik asit üretimine etki eden parametreler incelenmiş, sitrik asit üretim kinetiği belirlenmiş ve tutuklanmış hücrelerle oksijen beslemeli dolgulu kolonda sitrik asit üretimi gerçekleştirilerek reaktör modellenmiştir. Modelde yer alan sıvı faz eksenel dağılım katsayısının ve sıvı hold-up'ın belirlenmesi için, üç fazlı dolgulu kolon biyoreaktörde kalma süresi dağılımı analizi gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmalar sonucunda Peclet sayısı ve sıvı hold-up için korelasyonlar geliştirilmiştir. Dolgulu kolon biyoreaktör modellenmesi ile elde edilen denklemler, geliştirilen kinetik ifadenin ve korelasyonların kullanımıyla Danckwerts sınır koşullarında paket program ile bilgisayarda çözülmüştür. Model ve deney sonuçları karşılaştırılmıştır. Sonuçlar aşağıdaki gibi özetlenebilir.

1. Bir aerobik fermentasyon olan *Aspergillus niger* ile sitrik asit üretiminde, üretim ortamı literatürdeki ortamlar ele alınarak modifiye edilmiştir. Azot derişiminin çok önemli olduğu görülmüş ve en iyi ortamın Bölüm 5'de verilen ortam 2 olduğu görülmüştür.
2. Serbest mikroorganizma ile sitrik asit üretiminde, pH=2.0 ve 4.5 değerlerinde iki maksimum sitrik asit derişimine ulaşılmıştır.
3. Tutuklanmış mikroorganizmanın optimum ön aktivasyon süresinin 2 gün ve ön aktivasyon ortamının Bölüm 5'de verilen ortam 2.3 olduğu bulunmuştur. Bu ortamda azot derişimi 0.05 g/L dir.
4. Tutuklanmış mikroorganizma ile sitrik asit üretiminde 0.01 g/L azot derişiminde en yüksek sitrik asit derişimi elde edilmiştir. Hiç azot içermeyen ortamda pellet yüzeyinde en az miselleşme görülmüştür. Azot derişimi 0.4 g/L iken en düşük sitrik asit derişimi ile ortamda ve pellet yüzeyinde en fazla miselleşme elde edilmiştir.
5. Tutuklanmış mikroorganizma ile sitrik asit üretiminde 0.05 g/L azot içeren ortamda, oksijen beslemesi yapıldığında sitrik asit derişimi, hava kullanıldığı duruma göre % 33 hiç hava ve O₂ beslemesi olmayan duruma göre % 85 artmıştır. Azot içermeyen ortamda O₂ beslemesinin etkisi daha az olmaktadır. Bu durumda sitrik asit derişimi havaya göre % 6 artarken hiç besleme olmayan duruma göre % 42 artmaktadır.

6. Tutuklanmış mikroorganizma ile sitrik asit üretiminde O_2 akış hızının 0.5 vvm'den 0.75 vvm'e çıkmasıyla sitrik asit derişimi artarken O_2 akış hızının 1.0 vvm'e çıkmasıyla azalmıştır.
7. Tutuklanmış mikroorganizma ile sitrik asit üretiminde en yüksek sitrik asit derişimi 100 - 140 g/L başlangıç sakkaroz derişiminde elde edilmiştir.
8. Tutuklanmış mikroorganizma ile gözlenen sakkaroz tüketim hızının substrat aktivasyon modeline uyduğu düşünülerek elde edilen kinetik ifade aşağıda verilmiştir.

$$-r_{sb} = (1.88 \times 10^{-6}) \frac{C_{sb}^2 / (153)^2}{1 + C_{sb} / (1315) + C_{sb}^2 / (153)^2} \quad , \text{ g/g jel s}$$

9. Dolgulu kolon biyoreaktörde kalma süresi dağılımı deneyleri gerçekleştirilmiş, 1.91×10^{-5} - 8.81×10^{-5} m/s sıvı akış hızı aralığında Peclet sayısının sıvı hızından etkilenmediği görülmüştür.
10. Dolgulu kolon biyoreaktörde, 1.47×10^{-3} - 11.0×10^{-3} m/s gaz akış hızı aralığında Peclet sayısı gaz hızının artmasıyla azalmıştır.
11. Dolgulu kolon biyoreaktörde, 0.0912 - 0.2412 d_p/D_c oranı aralığında Peclet sayısı d_p/D_c oranının artmasıyla azalmıştır.
12. İncelenen gaz, sıvı hızı ve d_p/D_c oranında Bodenstein sayısını (tanecik Peclet sayısı), tanecik sıvı faz Reynolds sayısına ve d_p/D_c oranına bağlayan korelasyon geliştirilerek aşağıda verilmiştir. Bu korelasyon literatürde daha yüksek gaz ve sıvı için geliştirilen korelasyonla karşılaştırılmış, sonuçların farklı olduğu görülmüştür.

$$Bo = 0.166 Re_G^{-0.157} \left(\frac{d_p}{D_c} \right)^{0.386}$$

13. Dolgulu kolon biyoreaktörde, 1.91×10^{-5} - 8.81×10^{-5} m/s sıvı akış hızı aralığında sıvı hold-up değerlerinin sıvı hızının artmasıyla arttığı görülmüştür.
14. Dolgulu kolon biyoreaktörde, 1.47×10^{-3} - 11.0×10^{-3} m/s gaz akış hızı aralığında Peclet sayısı gaz hızıyla etkilenmediği görülmüştür.
15. Dolgulu kolon biyoreaktörde, 0.0912 - 0.2412 d_p/D_c oranı aralığında sıvı hold-up d_p/D_c oranının artmasıyla azalmıştır.

16. İncelenen gaz, sıvı hızı ve d_p/D_c oranında sıvı hold-up'ın tanecik sıvı faz Reynolds sayısına ve d_p/D_c oranına bağlayan korelasyon geliştirilerek aşağıda verilmiştir. Bu korelasyon literatürde daha yüksek gaz ve sıvı için geliştirilen korelasyonla karşılaştırılmış, sonuçların farklı olduğu görülmüştür.

$$\varepsilon_{L_i} = 0.117 \text{Re}_{L_i}^{0.289} \left(\frac{d_p}{D_c} \right)^{-0.498}$$

17. Üç fazlı dolgulu kolon biyoreaktörün aksenal dağılım etkileri dikkate alınarak yazılan model geliştirilen kinetik ifade ve Peclet sayısı korelasyonu kullanılarak bilgisayarda çözülmüştür. 4.06×10^{-3} m/s gaz hızı ve 2.71×10^{-6} - 6.226×10^{-6} m/s sıvı hızı aralığında ve farklı sakkaroz derişimlerinde yapılan deney sonuçlarıyla model sonuçları karşılaştırılmış ve iyi bir uyum sağladığı gözlenmiştir. Geliştirilen korelasyonlar diğer heterojen biyotepkime sistemleri için de kullanılabilir.

7. ÖNERİLER

1. Sitrik asit üretimini daha fazla artırmak için farklı mikroorganizma türleri sunanabilir. Ayrıca daha geniş bir aralıkta azot derişiminin ve azot kaynağının etkisi araştırılabilir. Yine sitrik asit derişimini artırmak için pH ve oksijen aktarımı kontrollü üretim gerçekleştirilebilir.
2. Tutuklanmış *A. niger* pelletlerinin yüzeyinde misel oluşmasını en aza indirecek ortam tasarımı yapılabilir.
3. Dolgulu kolonda sürekli olarak sitrik asit üretiminde daha hassas düşük besleme hızlarına inebilecek pompa kullanılarak daha düşük hızlara inilerek verimliliği artırılabilir.
4. Dolgulu kolonda kolon boyunca örnek alma noktaları geliştirilerek daha verimli biçimde örnek alma yapılabilir.
5. Sıvı faz eksenel dağılım etkileri L/D_c oranı daha büyük reaktörde incelenerek değişim gözlemlenebilir.
6. Kalma süresi dağılımı deneylerinde noktasal ölçümle analizlenebilecek izleyici kullanılarak daha sık ve daha fazla veri alınabilir.

KAYNAKLAR

- Anabtawi,M.Z., Ibrahim,G.A. and Nabhan,M.B.W.,** 1996. Gas holdup and axial dispersion coefficient in gas-liquid cocurrent spout-fluid beds. *Separation Science Technology*, 31(14):p.1893-1905.
- Atiqullah,M., Hassan,M.M. and Beg, S.A.,** 1990. Modeling of axial and recycle backmixing effects in a biological packed bed loop reactor, *The Chemical Engineering Journal*, 44:p.B57-B67.
- Backer,L.D. and Baron,G.,** 1994. Residence time distribution in a packed bed bioreactor containing porous glass particles : Influence of the presence of immobilized cells. *J.Chem.Tech.Biotechnol.*, 59:p.297-302.
- Berovic,M., Cimerman,A., Steiner,W. and Koloini T.,** 1991. Submerged citric acid fermentation : rheological properties of *Aspergillus niger* broth in a stirred tank reactor, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*,34:p.579-581.
- Bevington,P.R.,** 1969. Data reduction and error analysis for the physical sciences, Mc Graw-Hill, New York.
- Briffaud,J. and Engasser,M.,** 1979. Citric acid production from glucose.II.Growth and excretion kinetics in a trickle-flow fermentor. *Biotechnology and Bioengineering*, 21:p.2093-2111.
- Cassanello,M.C., Martinez,O.M. and Cukierman, A.L.,** 1992. Effect of the liquid axial dispersion on the behavior of fixed bed three phase reactors. *Chemical Engineering Science*, 47:p.3331-3338.
- Ching,C.B. and Ho,Y.Y.,** 1984. Flow dynamics of immobilized enzyme reactors, *Appl. Microbiol.Biotechnol.*,20:p.303-309.
- Chithra,N. and Baradarajan,A.,** 1990. Mathematical analysis of the performance of a packed-bed coimmobilized bioreactor, *J.Chem.Tech.Biotechnol.*, 49:p.115-127.
- Dale,M.C., Okos,M.R. and Wankat,P.C.,**1985. An immobilized cell reactor with simultaneous product separation. II.Experimental reactor performance. *Biotechnology and Bioengineering*, 27:p.943-952.

- Danckwerts,P.V.**, 1953. Continuous flow systems, Chemical Engineering Science, Vol 2, 1, 1-12.
- Dawson,M.W., Maddox,I.S., Boag,I.F. and Brooks,J.D.**, 1988. Application of fed-batch culture to citric acid production by *Aspergillus niger*: the effects of dilution rate and dissolved oxygen tension. Biotechnol. Bioeng., 32, p. 220-226.
- Dawson,M.W., Maddox,I.S. and Brooks,J.D.**, 1989. Evidence for nitrogen catabolite repression during citric acid production by *Aspergillus niger* under phosphate- limited growth conditions. Biotechnol. Bioeng., 33, p. 1500-1504.
- Dubois,M., Gilles,K.A., Hamilton,I.K., Rebers,P.A. and Smith F.**, 1956. Colorimetric method for determination of sugars nad related substances. Analytical Chemistry, 28(3):p.350-356.
- Eikmeier,H., and Rehm,H.J.**, 1982. Formation of gluconic acid at low pH-values by free and immobilized *Aspergillus niger* cells during citric acid fermentation. Appl.Microbiol.Biotechnol. 20, p.365-370.
- Eikmeier,H., and Rehm,H.J.**, 1984. Production of citric acid immobilized *Aspergillus niger*. Appl.Microbiol.Biotechnol. 20, p.365-370.
- Eikmeier,H., Westmeier,F. and Rehm,H.J.**, 1984. Morphological development of *Aspergillus niger* immobilized in Ca-alginate and κ -carrageenan. Appl.Microbiol.Biotechnol. 19, p.53-57.
- Eikmeier,H. and Rehm,H.J.**,1987. Stability of calcium-alginate during citric acid production of immobilized *Aspergillus niger*. Appl. Microbiol. Biotechnol , 26:p.105-111.
- El-Temtamy,S.A., El-Sharnoubi,O.Y. and El-Halwagi,M.M.**, 1979. Liquid dispersion in gas-liquid fluidized beds Part I:Axial Dispersion. The axially dispersed plug-flow model. The Chemical Engineering Journal, 18:p.151-159.
- Eroğlu,I. and Doğu,T.**, 1983. Chemical Engineering Science, Vol 38, 5, 801-815.
- Fogler,S.H.**, 1992. Elements of chemical reaction engineering. 2nd edition, PTR Prentice Hall , New Jersey.

- Godia,F., Casas,C. and Sola, Ç.,** 1987. Mathematical modelization of a packed-bed reactor performance with immobilized yeast for ethanol fermentation, *Biotechnology and Bioengineering*, 30:p.836-843.
- Gupta, S. and Sharma,C.B.,** 1994. Continuos production of citric acid from sugarcane molasses using a combination of submerged immobilized and surface stabilized cultures of *Aspergillus niger* KCU 520. *Biotechnology Letters*, 16(6):p.599-604.
- Gülsen,S. and Mehmetoglu,Ü.,** 1988. Ethanol production by immobilized *Zymomonas mobilis* in a packed bed reactor and effects of CO₂ on column performance. *Chem. Biochem. Eng.*, Q2(4):p.227-229.
- Gürgün, V. ve Halkman,A.K.,** 1988. Mikrobiyolojide sayım yöntemleri, Gıda Teknolojisi derneği yayın no 7, Ankara.
- Hamamci,H. and Ryu, D.D.Y.,**1987. Performance of tapered column packed-bed bioreactor for ethanol production, *Biotechnology and Bioengineering*, 29.p.994-1002.
- Honecker,S., Bisping,B., Yang,Z. and Rehm,H.J.,** 1989. Influence of sucrose concentration and phosphate limitation on citric acid. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 31:p.17-24.
- Horitsu,H., Adachi,S., Takahashi,Y., Kawai,K. and Kawano,Y.,** 1985. Production of citric acid by *Aspergillus niger* immobilized in polyacrylamide gels. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 22:p.8-12.
- Hossain,M., Brooks,I.D. and Maddox,I.S.,** 1983. Production of citric acid from whey permeate by fermentation using *Aspergillus niger* . *New Zealand Journal of Dairy Science and Technology*, 18:p.161-168.
- IGM,** 1997, Ihracat ve Ithalat raporlari
- Iliuta,I., Thyrión,F.C., Muntean,O., Giot,M.,**1996. Residence time distribution of the liquid in gas-liquid cocurrent upflow fixed bed reactors. *Chemical Engineering Science*, Vol 51, 20, 4579-4593.
- Illiuta,I.,**1997. Performance at fixed bed reactors with two phase upflow and downflow. *I.Chem.Tech.Biotechnol.*, 68:p.47-56.

- Kim,S.D., Kim,H.S. and Han,J.H.**,1992. Axial dispersion characteristics in three-phase fluidized beds, *Chemical Engineering Science*, 47:p.3419-3426.
- Kirk,R.E. and Othmer,D.F.**, 1993. *Encyclopedia of Chemical technology*, 4th edition, vol 6, John Wiley & Sons, New York.
- Kristiansen,B. and Charley,R**: 1980. Continuous process for production of citric acid. *Advances in Biotechnology*, Vol.1, Pergamon Press, p.221-227.
- Kristiansen,B. and Sinclair,C.G.**, 1978. Production of citric acid in batch culture. *Biotechnology and Bioengineering*, 20:p.1711-1722.
- Kristiansen,B. and Sinclair, C.G.**, 1979. Production of citric acid in continuous culture. *Biotechnol. Bioeng.* XXI, p.297-315.
- Lehninger,A.L.**, 1975. *Biochemistry*, 2nd edition, Worth Publishers, New York.
- Levenspiel,O.**, 1972. *Chemical Reaction Engineering*. 2nd edition, John Wiley & Sons, New York.
- Levenspiel,O.**, 1979. *The Chemical Reactor Omnibook*. OSU Book Stores, Corvallis.
- Lortie,R. and Pelletier,D.**, 1992. Comparison between dispersion and plug-flow models for fixed-bed enzyme reactors, *AIChE Journal*, 38(9):p.1477-1480.
- Lortie,R. and Thomas,D.**, 1986. Heterogeneous one-dimensional model for fixed bed enzyme reactors. *Biotechnology and Bioengineering*, 28:p.1256-1260.
- Lu, M., Brooks,J.D. and Maddox,I.S.**,1997. Citric acid production by solid-state fermentation in a packed-bed reactor using *Aspergillus niger*. *Enzyme Microb. Technol.*, vol 21, 392-397.
- Marier,J.R. and Boulet M.**,1958. Direct determination of citric acid in milk with an improved pyridine-acetic anhydride method, *J.Dairy Sci.*, 4:p.1683-1692.
- Marison,I.W.**, 1983. *Biotechnology for Engineers*, Scragg A.H.(Editor). John Wiley & Sons; p.322-336, New York.
- McCabe,W.L. and Smith,J.C.**, 1967. *Unit operations of chemical engineering*. Second ed., Mc Graw-Hill Inc., New York.
- Michell,R.W. and Furzer,I.A.**, 1972. Mixing in trickle flow through packed beds. *Chem. Enng. J.*, 4, 53-63.
- Michelsen,M.L.**,1994. The axial dispersion model and orthogonal collocation, *Chemical Engineering Science*, Vol. 49, 21, 3675-3676.

- Mochizuki,S. and Matsui,T.,** 1974. Liquid-solid mass transfer rate in liquid- gas upward cocurrent flow in packed beds. *Chemical Engineering Science*, Vol 29, 1328-1330.
- Moresi,M., Parente,E., Ricciardi,A. and Lanorte,M.,** 1996. Effect of dissolved oxygen concentration on pH-controlled fed-batch gluconate production by immobilized *Aspergillus niger*. Wijffels,R.H., Buitelaar,R.M., Bucke,C. and Tramper,J. (Editors), *Immobilized Cells : Basics and Applications*, Elsevier Science, p.370-378.
- Nath,s. and Chand,S.,** 1996. Mass transfer and Biochemical reaction in immobilized cell packed bed reactors: Correlation of experiment with theory. *J.Chem. Tech. Biotechnol.*, 66:p.286-292.
- Ostergaard,K. and Michelsen,M.L.,** 1969. On the use of the imperfect tracer pulse method for determination of hold-up and axial mixing. *The Canadian Journal of Chemical Engineering* , 47:p.107-112.
- Perry,R.H. and Green,D.,** 1984. *Perry's Chemical Engineers' Hand book*, Sixth Edition, Mc graw Hill.
- Petersen,J.N. and Davison, B.H.,** 1995. Development of a predictive description of an immobilized-cell, three phase, fluidized bed bioreactor. *Biotechnology and Bioengineering*, Vol.46, 139-146.
- Ring,Z.E. and Missen,R.W.,** 1991. Trickle-bed reactors: tracer study of liquid holdup and wetting efficiency at high temperature and pressure. *The Canadian Journal of Chemical Engineering* , 69:p.1016-1020.
- Roehr,M., Zehentgruber,O. and Kubicek,C.P.,** 1981. Kinetics of biomass formation and citric acid production by *Aspergillus niger* on pilot plant scale. *Biotechnology and Bioengineering*, 23:p.2433-2445.
- Röhr,M., Kubicek,C.P. and Kominek,J.,** 1983. Citric Acid. Rehm,H.J. and Reed, G.(Editors), Dellweg,H.(Vol.Editor), *Biotechnology*, Vol. 3, Verlag Chemie, p.420-465, Weinheim.
- Sassi,G., Ruggeri,B., Specchia,V. and Gianetto,A.,**1991. Citric acid production by *A.niger* with banana extract. *Bioresource Technology*, 37: p.259-269.
- Segel,I.H.,** 1975. *Enzyme Kinetics*, John Wiley & Sons,p.398-405, New York.

- Seiskari,P., Linko,Y.Y. and Linko P., 1985.** Continuous production of gluconic acid by immobilized *Gluconobacter oxydans* cell bioreactor. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 21:p.356-360.
- Shah,Y.T., 1979.** Gas-liquid-solid reactor design. Mc Graw-Hill Inc.
- Shu,P. and Johnson, M.J., 1948.** Production of submerged fermentation with *Aspergillus niger* . *Industrial and Engineering Chemistry*,40(7):p.1202-1205.
- Shuler,M.L. and Kargi,F.,1992.** *Bioprocess Engineering*, PTR Prentice Hall, New Jersey, p.278
- Stiegel,G.J. and Shah,Y.T., 1977.** Backmixing and liquid holdup in a gas-liquid cocurrent upflow packed column. *Ind.Eng.Chem.,Process Des.Dev.*, 16(1):p.37-43.
- Swaine,D.E. and Daugulis,A.S., 1988.** Review of liquid mixing in packed bed biological reactors. *Biotechnology Progress*,4(3):p.134-148.
- Swaine,D.E. and Daugulis,A.S., 1989.** Liquid residence time distributions in immobilized cell bioreactors. *Biotechnology and Bioengineering*, 33:p.604-612.
- Thompson,V.S. and Worden,R.M., 1992.** The effect of tracer diffusion on liquid axial dispersion in a three phase fluidized bed bioreactor. *Chemical Engineering Science*, 47:p.3435-3441.
- Tsamatsoulis,D. and Papayannakos,N., 1994.** Axial dispersion and hold-up in a bench-scale trickle-bed reactor at operating conditions. *Chemical Engineering Science*, 49:p.523-529.
- Tsay,S.S. and To K.Y., 1987.** Citric acid production using immobilized conidia of *Aspergillus niger* TMB 2022. *Biotechnology and Bioengineering*, 29:p.297-304.



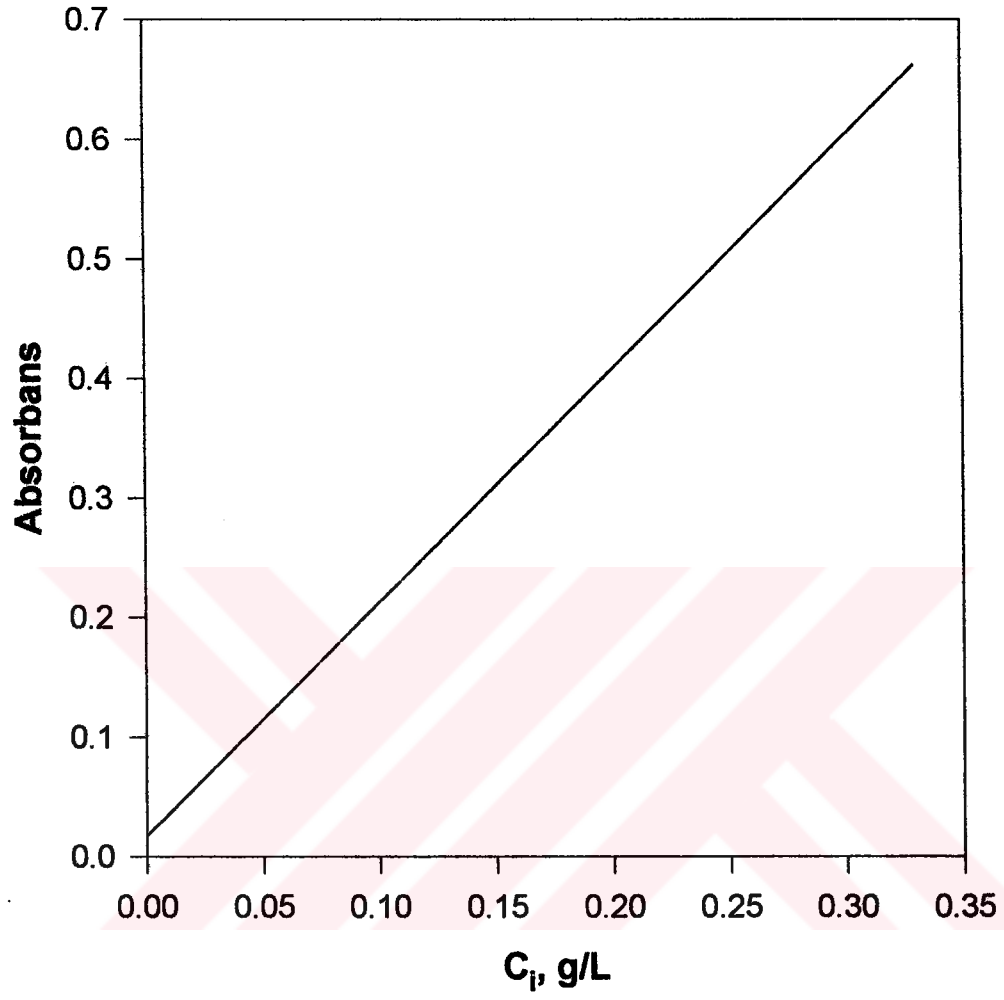
EK 1. Blue dekstran analizi ve kalibrasyon doğrusu

Blue dekstran analizi spektrofotometrik olarak gerçekleştirilmiştir. Kalibrasyon eğrisi için 0.33 - 0.012 g/L derşim aralıklarında Blue dekstran-su çözeltisi hazırlanmış suya karşı spektrum taraması yapılmış ve en uygun dalga boyu olarak $\lambda=300$ nm seçilmiştir. Çözeltilerin absorbansları okunduktan sonra elde edilen veriler “En Küçük Kareler Yöntemiyle” değerlendirilmiş ve doğru denklemi (EK 1) eşitliğiyle verilmiştir.

Blue dekstran derşimine karşı absorbans grafiğe geçirilerek kalibrasyon grafiği elde edilmiştir (şekil EK1).

$$y = 1.895 x + 0.033$$

(EK 1)



Şekil EK1. Blue dekstran kalibrasyon doğrusu

EK 2. *Aspergillus niger* sporlarının sayım yöntemi ve kalibrasyon doğrusu

A. Spor sayım yöntemi

Petri üzerinde katı ortamda çoğaltılan *A.niger* sporları bir petriden 10 ml steril suya alınmıştır. Bu spor çözeltisinden 1/10, 3/40 ve 1/20 oranında saf su ile seyreltilmiş örnekler hazırlanmıştır. Örneklerdeki sporlar Thoma lamı üzerinde mikroskop altında sayılmıştır (Çizelge EK 2). Her bir çözelti ile 16 büyük kareden okunan spor sayısının ortalamaları alınarak (EK 2.1) denklemiyle ml'deki spor sayısı hesaplanır (Gürgün ve Halkman 1988).

Çizelge EK 2. Thoma lamında her bir 16 kareden okunan spor sayıları

Seyrelme oranı	Ölçüm sayısı						Ortalama
	1	2	3	4	5	6	
1/10	20	30	10	18	10	-	18
3/40	25	14	17	4	12	24	16
1/20	2	10	4	-	-	-	4

$$SS = (A) (SF) (10000)$$

(EK 2.1)

Denklemdaki,

SS : Sayım sonucu

A : 16 büyük kareden sayılan ortalama spor sayısı

SF : Seyrelme faktörü

Hesaplamalar:

Seyrelme oranı : 1/10 için SF = 10, A = 18, SS = 1.8×10^6

Seyrelme oranı : 3/40 için SF = 13 33, A = 16, SS = 2.13×10^6

Seyrelme oranı : 1/20 için SF = 20 A = 4 SS = 0.8×10^6

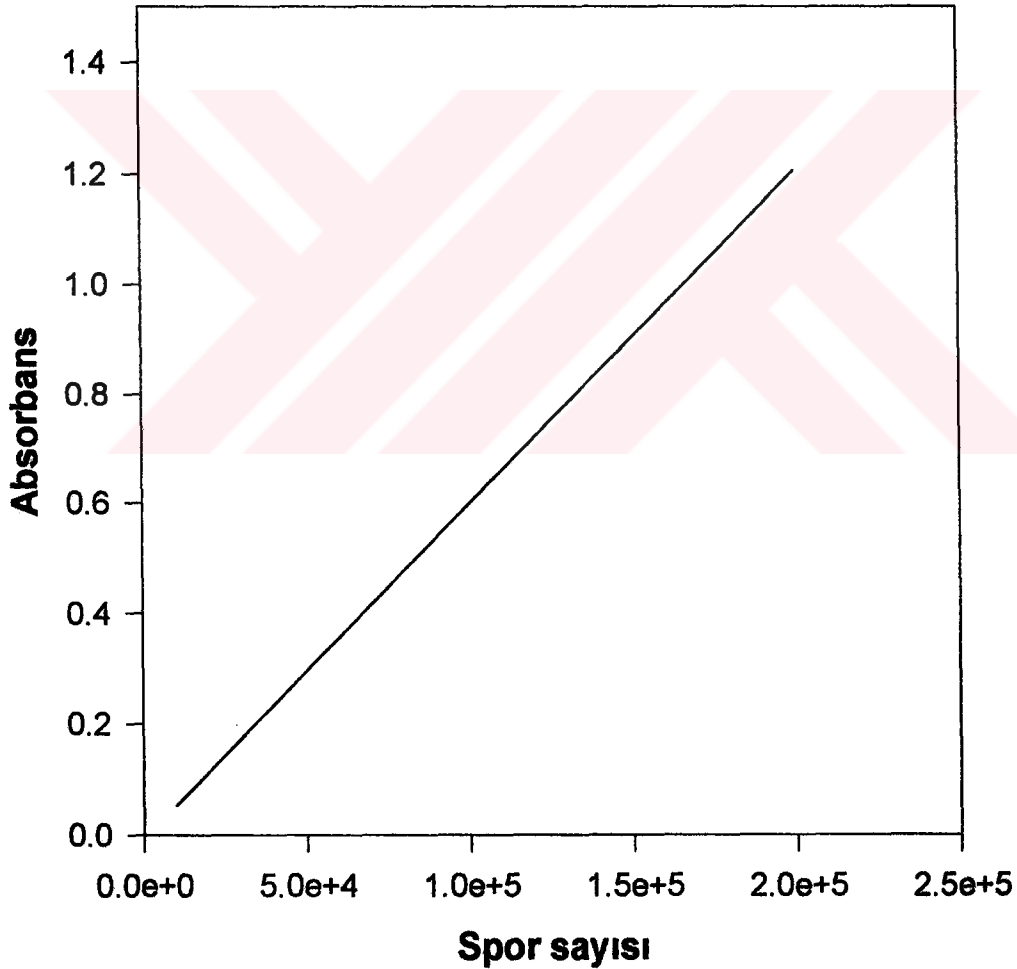
$$\text{Spor sayısı} = (1.8 \times 10^6 + 2.13 \times 10^6 + 0.8 \times 10^6) / 3 = 1.6 \times 10^6$$

$$\text{Spor sayısı} = 1.6 \times 10^6 \text{ spor/10 ml}$$

B. Kalibrasyon doğrusu

1.6×10^5 - 0.27×10^5 aralığında spor sayısına sahip çözeltiler hazırlanmış ve UV spektrofotometresinde spektrumları alınmıştır. Absorbans ölçümlerinin yapılacağı en uygun dalga boyu olarak $\lambda=285$ nm seçilmiştir. Farklı spor sayısına sahip çözeltileri için okunan absorbanslar “En Küçük Kareler Yöntemi” ile değerlendirilerek denklem EK 2.2’deki doğru denklemi ve Şekil EK 2’deki kalibrasyon grafiği elde edilmiştir.

$$y = 6.076.10^6 x - 8.27.10^{-3} \quad (\text{EK 2.2})$$

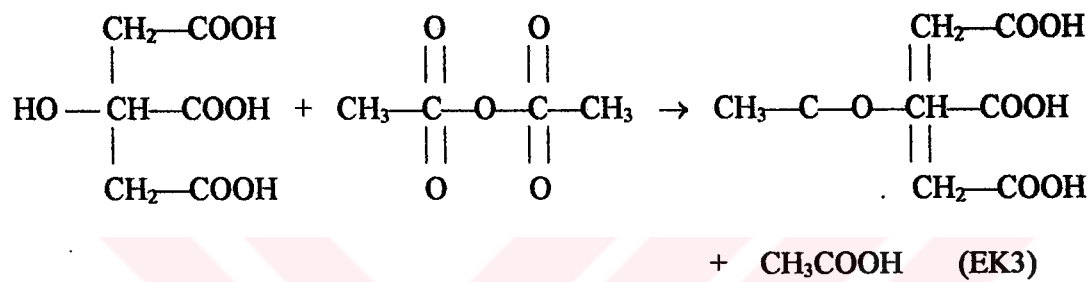


Şekil EK 2. *A.niger* sporlarının kalibrasyon doğrusu

EK 3. Sitrik asit analiz yöntemi ve kalibrasyon doğrusu

A. Analiz yöntemi

Sitrik asit, pridin-asetik anhidrit (PAA) yöntemiyle renkli esteri oluşturularak spektrofotometrik olarak analizlenebilmektedir. Bu yöntemde pridin ortamda su tutucu ve ortamı bazik yapıcı olarak görev almaktadır. Sitrik asit ile asetik anhidrit denklem EK 3'deki tepkimeyle ester oluşturmaktadır.



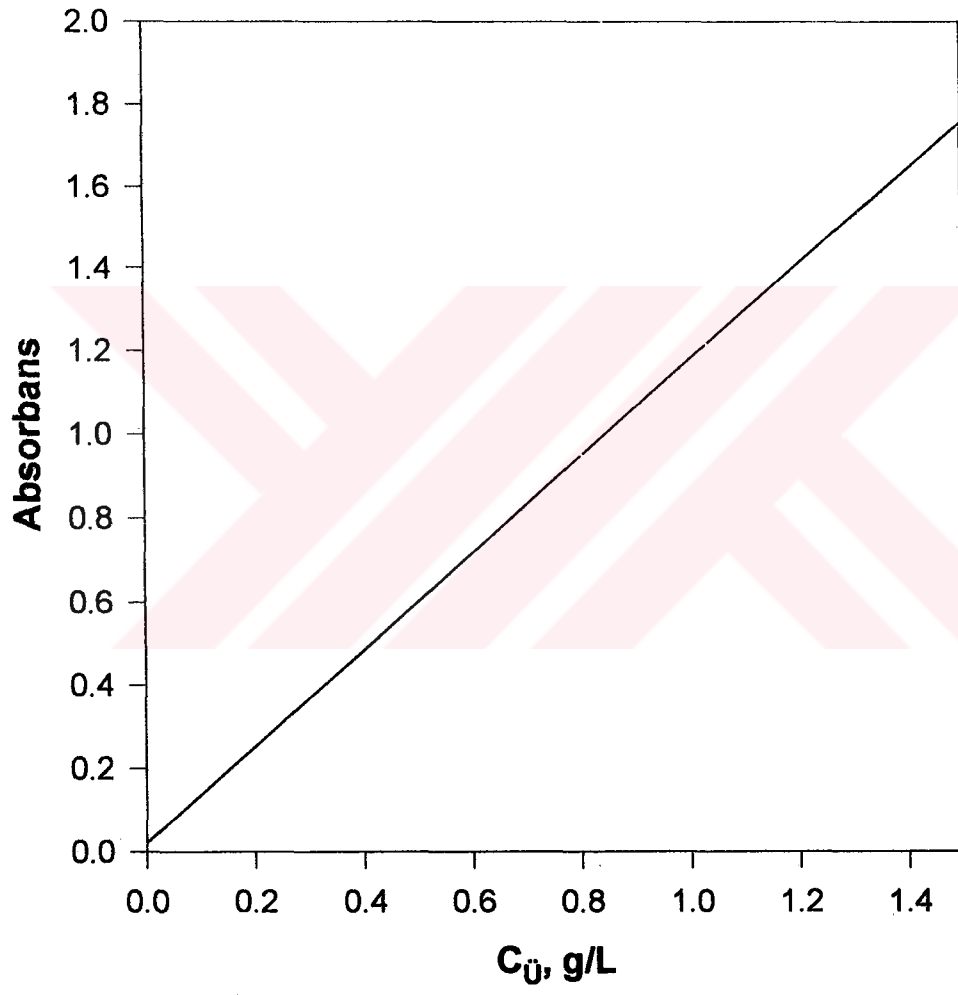
Pridin asetik anhidrit yöntemi

- 25-200 µg sitrik asit içeren örnekten 1 ml kalorimetrik tüpe alınır.,
- 1.3 ml pridin ilave edilip vortekslenir.
- 5.7 ml asetik anhidrit ilave edilerek tekrar vortekslenir. Ekzotermik bir tepkime olduğu için ısı açığa çıkar. Örnekler derhal daha önceden hazırlanmış 32 °C'deki sabit sıcaklık banyosuna alınır.
- 30 min sabit sıcaklık banyosunda bekletilir ve ve ikinci 30 min içinde spektrofotometrik olarak köre karşı $\lambda=425 \text{ nm}$ 'de analizlenir.

B. Kalibrasyon doğrusu

25 - 200 µg/ml derişim aralığına seyreltilerek hazırlanan sitrik asit çözeltilerinin analizleri UV spektrofotometresinde absorbansları okunarak gerçekleştirilmiştir. Veriler "En Küçük Kareler Yöntemi" ile değerlendirilerek denklem EK 3.1'deki doğru denklemi ve Şekil EK 3'deki kalibrasyon grafiği elde edilmiştir.

$$y = 1.158 x + 0.021 \quad (3.1)$$



Şekil EK 3. Sitrik asit kalibrasyon doğrusu

EK 4. Sakkarozun kalibrasyon doğru denklemi

Sakkaroz kalibrasyonu için, 70 -180 g/L sakkaroz derişimlerinde hazırlanan ortamlar sterillendikten sonra alınan örnekler 50 kat seyreltilmiştir. Yüksek basınç sıvı kromatografisinde (HPLC) analizlenerek elde edilen pik alanlarının “En Küçük Kareler Yöntemi” ile değerlendirilmesiyle denklem EK 4’de verilen kalibrasyon doğru denklemi elde edilmiştir.

$$y = 6125.266 x -43963.81$$

(EK4)



EK 5. Fermentasyon ortamının yoğunluk ve viskozitesinin bulunması

A. Yoğunluk bulunması

Farklı başlangıç sakkaroz derişimleri için ortam yoğunlukları aşağıdaki şekilde hesaplanıp Çizelge EK 5.1’de verilmiştir.

5 ml hacminde piknometre kullanılmıştır.

Örnek hesaplama :

$C_{so} = 100 \text{ g/L}$ ortam için

$T = 30^\circ\text{C}$

$m = 5.2 \text{ g}$ (5 ölçüm ortalaması)

$v = 5 \text{ ml}$

$\rho_L = m/v = 5.2/5 = 1.04 \text{ g/ml}$

Çizelge EK 5.1. Farklı başlangıç sakkaroz derişimlerindeki ortam yoğunlukları

$C_{so}, \text{g/L}$	$\rho_L, \text{g/ml}$
40	1.028
60	1.030
80	1.032
100	1.040

B. Viskosite bulunması

Farklı başlangıç sakkaroz derişimleri için ortam viskozitesi aşağıdaki şekilde hesaplanıp Çizelge EK 5.2’de verilmiştir.

Ölçümlerde Haake Fisoons viskosimetresi kullanılmıştır.

Örnek hesaplama:

$C_{bo} = 40 \text{ g/L}$ olan ortam için;

τ (Kayma gerilimi): 0.0 0.0 0.0 0.0 0.1 0.2 0.4 0.7 1.2 2.3
 γ (Kayma hızı) : 0.9 1.5 2.8 4.6 7.7 12.9 21.4 35.9 59.9 100

$$\mu(10^3 \text{ } xcp) = \frac{(\tau_{10} - \tau_7)1.78}{(\gamma_{10} - \gamma_7)27} \quad (\text{EK 5.1})$$

Ölçülen değerler (τ) denklem (EK5.1)'de yerine konursa,

$$\mu = \frac{(2.3 - 0.4)1.7}{(100 - 21.4)27} = 3.2535cp$$

Çizelge EK5.2. farklı başlangıç sakkaroz derişimlerindeki ortam viskoziteleri

C_{so} , g/L	μ_l , mPa s
40	3.2535
60	3.2535
80	3.2835
100	3.4247

EK 6. Literatürdeki farklı sitrik asit ortamları

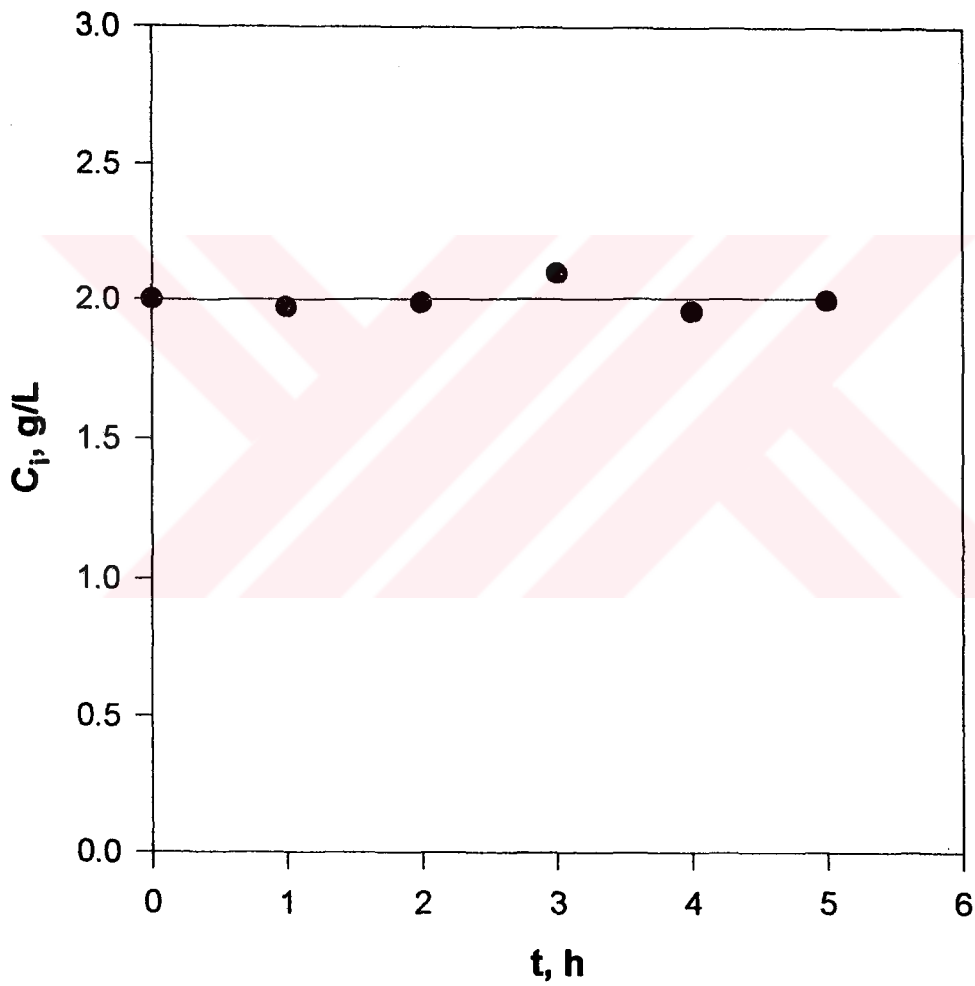
Çizelge EK 6. Literatürdeki farklı sitrik asit ortamları

Bileşen/Ortam	1	2	3	4
Sakkaroz, g/L	140	140	140	250
KH ₂ PO ₄ , g/L	2.5	2.0	0.2	0.2
MgSO ₄ .7H ₂ O, g/L	0.25	0.5	0.3	0.3
NH ₄ NO ₃ , g/L	2.5	-	0.4	0.4
(NH ₄) ₂ SO ₄	-	2.0	-	-
Fe ⁺³ , mg/L	1.3	0.1	0.1	0.1
Cu ⁺² , mg/L	0.06	0.06	-	-
Zn ⁺² , mg/L	0.25	0.1	0.25	0.25
Mn ⁺² , mg/L	<1.0	-	-	-

1. Shu and Johnson 1948
2. Kritiansen and Charley 1981
3. 4. Eikmeir and Rehm 1984

EK 7. Blue dekstran çözeltisinin ca-aljinat jeline adsorpsiyonunun incelenmesi

250 ml reaktör hacminde, $N=150$ devir/min karıştırma hızında, $C_{i0}=2$ g/L başlangıç izleyici derişiminde 20 g ca-aljinat tanecikleriyle oda sıcaklığında 5 saat süreyle kesikli, karıştırmalı tepkime kabında deney yapılmıştır. Zamanla alınan örneklerdeki blue dekstran derişimi analizlenmiş ve değişimin olmadığı görölmüştür (Şekil EK 7).



Şekil EK 7. Blue dekstran derişiminin zamanla değişimi. $N=150$ devir/min,
 $C_{i0}=2$ g/L, $w=20$ g

EK 8. Kalma süresi deney verilerinin toplu sonuçları

Dolgulu kolon reaktörde kolon gerçekleştirilen KSD deneyleri sonunda elde edilen, farklı koşullarda, izleyici derişiminin zamanla değışimi Çizelge EK8.1-8.8’de verilmiştir.



Çizelge EK 8.1. $d_p=4.1$ mm için farklı gaz akış hızlarında izleyici derişiminin zamanla değişimi. $U_L=5.87 \times 10^{-5}$ m/s

$U_G = 1.47$		$U_G = 3.67$		$U_G = 5.51$		$U_G = 7.34$		$U_G = 11.01$	
t, min	$C_i, \text{g/L}$	t, min	$C_i, \text{g/L}$	t, min	$C_i, \text{g/L}$	t, min	$C_i, \text{g/L}$	t, min	$C_i, \text{g/L}$
2.0	0.005	2.0	0.010	1.5	0.003	1.5	0.007	1.5	0.019
3.5	0.035	4.0	0.076	4.0	0.060	4.5	0.068	4.5	0.071
7.0	0.121	8.0	0.107	8.0	0.060	8.0	0.058	8.0	0.057
11.0	0.110	12.0	0.077	12.0	0.045	12.0	0.041	12.0	0.040
15.0	0.072	16.0	0.052	16.5	0.033	16.0	0.025	16.0	0.030
19.0	0.044	20.0	0.027	21.0	0.023	20.0	0.015	20.0	0.022
23.0	0.025	24.0	0.017	25.0	0.014	24.0	0.003	24.0	0.017
27.0	0.009	28.0	0.008	29.0	0.006	25.0	0.001	28.0	0.0047
30.0	0.001	30.0	0.002	33.0	0.0016	-	-	29.0	0.0010
-	-	-	-	37.0	0.0003	-	-	-	-

Çizelge EK 8.2. $d_p=3.56$ mm için farklı gaz akış hızlarında izleyici derişiminin zamanla değişimi. $U_t=5.87 \times 10^{-5}$ m/s

$U_G = 1.47$ m/s		$U_G = 3.67$ m/s		$U_G = 5.51$ m/s		$U_G = 7.34$ m/s		$U_G = 11.01$ m/s	
t , min	C_i , g/L	t , min	C_i , g/L	t , min	C_i , g/L	t , min	C_i , g/L	t , min	C_i , g/L
1.5	0.005	2.0	0.009	1.5	0.001	1.5	0.001	1.5	0.005
4.0	0.058	4.0	0.072	4.0	0.071	4.0	0.062	4.0	0.082
8.0	0.114	8.0	0.110	8.0	0.100	8.0	0.099	8.0	0.093
12.0	0.104	12.0	0.087	12.0	0.098	12.0	0.081	12.0	0.068
16.0	0.073	16.0	0.060	16.0	0.067	16.0	0.055	16.0	0.046
20.0	0.049	20.0	0.041	20.0	0.046	20.0	0.034	20.0	0.030
24.0	0.026	24.0	0.023	24.0	0.032	24.0	0.021	24.0	0.022
28.0	0.012	28.0	0.014	28.0	0.023	28.0	0.012	28.0	0.0084
31.0	0.001	32.0	0.002	32.0	0.0106	31.0	0.0012	32.0	0.0048
-	-	-	-	36.5	0.0048	-	-	36.0	0.0037

Çizelge EK 8.5. $d_p=4.10$ mm için farklı sıvı akış hızlarında izleyici derişiminin zamanla değişimi. $U_G=5.51 \times 10^{-3}$ m/s

$U_L = 1.91$		$U_L = 3.67$		$U_L = 5.87$		$U_L = 8.81$	
t, min	$C_i, \text{g/L}$	t, min	$C_i, \text{g/L}$	t, min	$C_i, \text{g/L}$	t, min	$C_i, \text{g/L}$
2.5	0.011	2.0	0.003	1.5	0.003	2.0	0.002
9.5	0.072	5.5	0.066	4.0	0.060	3.5	0.065
18.5	0.058	10.5	0.057	8.0	0.060	6.5	0.059
27.5	0.045	15.5	0.044	12.0	0.045	9.5	0.045
37.0	0.033	20.5	0.031	16.5	0.033	12.5	0.037
47.0	0.026	25.5	0.024	21.0	0.023	15.5	0.026
57.0	0.020	30.5	0.014	25.0	0.014	18.5	0.024
67.0	0.015	35.5	0.0074	29.0	0.0058	21.5	0.017
78.5	0.0058	40.5	0.0032	33.0	0.0016	24.5	0.012
91.5	0.0010	-	-	37.0	0.0032	27.5	0.0084
-	-	-	-	-	-	35.0	0.0020

Çizelge EK 8.6. $d_p=3.56$ mm için farklı sıvı akış hızlarında izleyici derişiminin zamanla değişimi. $U_G=5.51 \times 10^{-3}$ m/s

$U_L = 1.91$		$U_L = 3.67$		$U_L = 5.87$		$U_L = 8.81$	
t, min	$C_i, \text{g/L}$	t, min	$C_i, \text{g/L}$	t, min	$C_i, \text{g/L}$	t, min	$C_i, \text{g/L}$
2.5	0.004	2.5	0.002	1.5	0.001	2.5	0.008
9.5	0.069	4.0	0.047	4.0	0.071	3.5	0.037
18.5	0.051	9.0	0.075	8.0	0.100	6.5	0.078
27.5	0.034	14.0	0.058	12.0	0.098	9.5	0.070
36.0	0.024	19.0	0.041	16.0	0.067	12.5	0.051
44.0	0.0058	24.0	0.026	20.0	0.046	15.5	0.030
52.0	0.016	29.0	0.012	24.0	0.032	18.5	0.017
-	-	34.0	0.0031	28.0	0.023	21.5	0.0021
-	-	-	-	32.0	0.011	-	-
-	-	-	-	36.5	0.0048	-	-

Çizelge EK 8.7. $d_p=2.50$ mm için farklı sıvı akış hızlarında izleyici derişiminin zamanla değişimi. $U_G=5.51 \times 10^{-3}$ m/s

$U_L = 1.91$		$U_L = 3.67$		$U_L = 5.87$		$U_L = 8.81$	
$t, \text{ min}$	$C_i, \text{ g/L}$	$t, \text{ min}$	$C_i, \text{ g/L}$	$t, \text{ min}$	$C_i, \text{ g/L}$	$t, \text{ min}$	$C_i, \text{ g/L}$
4.5	0.001	5.0	0.001	2.5	0.007	2.5	0.010
8.0	0.030	9.0	0.064	3.5	0.021	4.5	0.066
16.0	0.083	13.5	0.108	7.0	0.090	7.5	0.125
24.0	0.102	18.5	0.108	11.0	0.110	10.5	0.099
32.0	0.080	23.5	0.084	15.0	0.089	13.5	0.053
40.0	0.060	28.5	0.059	19.0	0.059	16.5	0.020
48.0	0.034	33.5	0.056	23.0	0.037	19.5	0.0016
56.0	0.027	38.5	0.022	27.0	0.021	-	-
64.0	0.014	43.5	0.010	31.0	0.007	-	-
77.0	0.001	50.0	0.002	35.0	0.0016	-	-

Çizelge EK 8.8. $d_p=1.55$ mm için farklı sıvı akış hızlarında izleyici derişiminin zamanla değişimi. $U_G=5.51 \times 10^{-3}$ m/s

$U_L = 1.91$		$U_L = 3.67$		$U_L = 5.87$		$U_L = 8.81$	
$t, \text{ min}$	$C_i, \text{ g/L}$	$t, \text{ min}$	$C_i, \text{ g/L}$	$t, \text{ min}$	$C_i, \text{ g/L}$	$t, \text{ min}$	$C_i, \text{ g/L}$
5.0	0.005	4.5	0.004	2.5	0.001	2.0	0.005
8.0	0.025	6.5	0.020	5.0	0.040	3.5	0.028
16.5	0.110	11.5	0.097	9.0	0.125	6.5	0.112
25.0	0.125	16.5	0.114	13.0	0.127	9.5	0.102
33.0	0.106	21.5	0.084	17.0	0.093	12.5	0.059
41.0	0.071	26.5	0.047	21.0	0.052	15.5	0.024
49.0	0.044	31.5	0.017	25.0	0.025	18.5	0.0106
57.0	0.041	35.0	0.004	29.0	0.006	-	-
65.0	0.026	-	-	31.0	0.001	-	-
75.0	0.010	-	-	-	-	-	-
79.0	0.002	-	-	-	-	-	-

EK 9. Kalma süresi deneylerindeki hesaplamalar

KSD deneyleri sonucunda kolon çıkışında alınan örnekler analizlenip $(t, C(t))$ verileri elde edilmiştir. 5.87×10^{-5} m/s sıvı hızı . 5.51×10^{-3} m/s gaz hızı ve $d_p = 1.55$ mm ($d_p/D_c=0.0912$) tanecik çapı için gerçekleştirilen deneylerin örnek hesaplamaları aşağıda verilmiştir.

$$U = \sum C_i(t) \Delta t \quad (\text{EK9.1})$$

Çizelge EK 9.1’de verilen $(t, C_i(t))$ (Şekil EK 9.1) verileri denklem (EK 9.1)’de yerine yazılarak $U= 1.841$ olarak bulunur. Denklem (EK 9.2) kullanılarak $E(t)$ verileri elde edilir (Çizelge EK 9.1).

$$E(t) = C_i(t)/U \quad (\text{EK9.2})$$

Hesaplanan $(t, E(t))$ verilerinden denklem (EK 9.3) denklemi kullanılarak ortalama kalma süresi $\bar{t} = 13.884$ min olarak bulunur.

$$\bar{t} \approx \sum tE(t)\Delta t \quad (\text{EK9.3})$$

Denklem (EK9.4) ve (EK9.5)’den sırasıya normalize zaman ve normalize E dağılımı elde edilir.

$$\theta = t/t \quad (\text{EK9.4})$$

$$E(\theta) = E(t)/t \quad (\text{EK9.5})$$

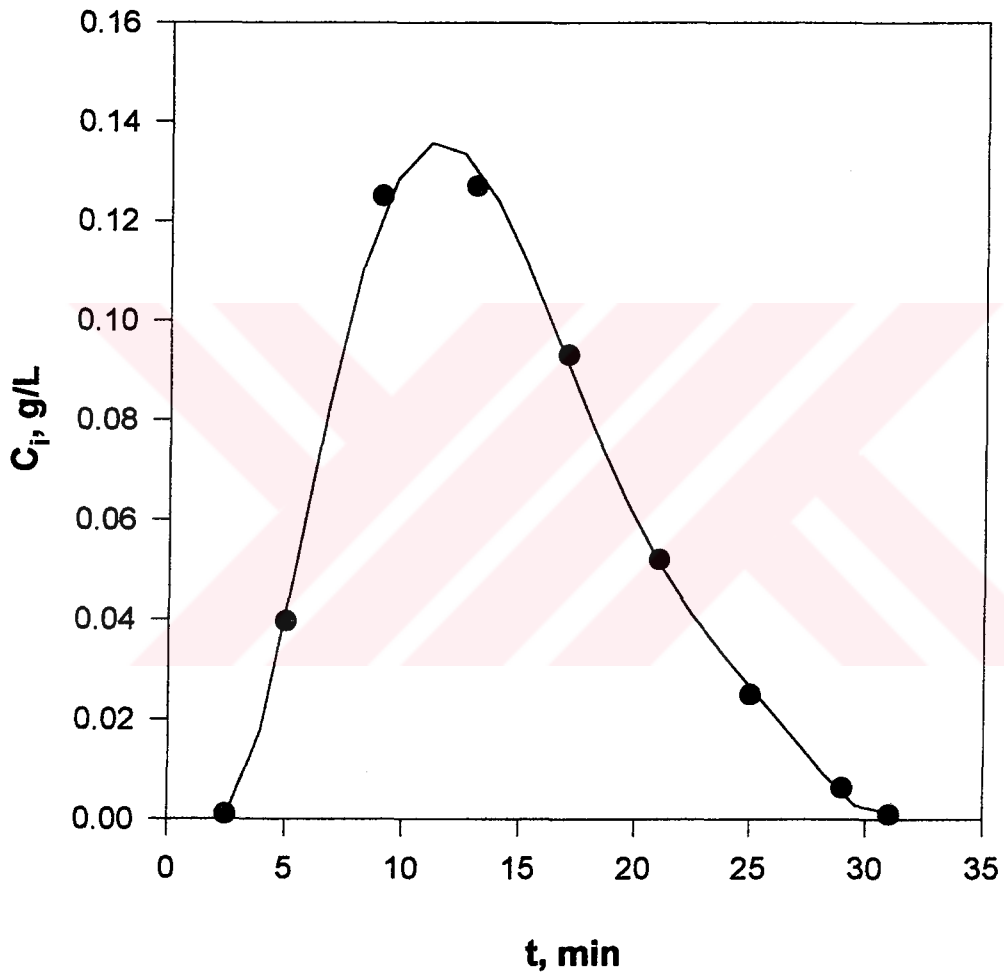
$(\theta, E(\theta))$ verilerinin Denklem (EK 9.6)’ya zaman alanında uygunlaştırılmasıyla Peclet sayıları hesaplanmıştır. Burada verilen örnek hesaplama için $Pe=11.93$ elde edilmiştir. Zaman alanında uygunlaştırma ile elde edilen model sonuçlarıyla deney verileri arasındaki uyum örnek hesaplama için Şekil EK 9.2’de verilmiştir.

Çizelge EK9.1. $U_L=5.87 \times 10^{-5}$ m/s, $U_G=5.51 \times 10^{-3}$ m/s ve $d_p=1.55$ mm koşullarında
KSD deney verileri ve çözüm sonuçları

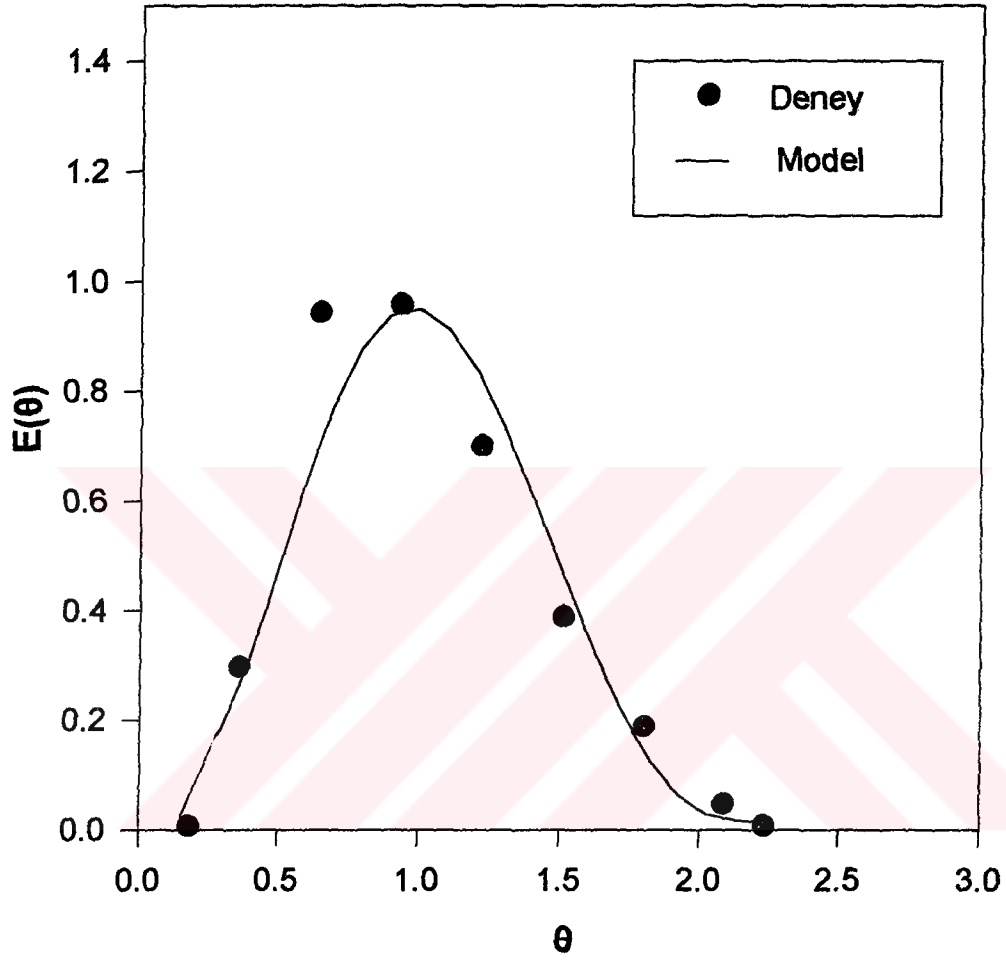
t. min	$C_i(t), g/L$	$E(t)$	θ	$E(\theta)$
2.5	0.001	0.00054	0.180	0.0075
5.0	0.0396	0.0215	0.360	0.298
9.0	0.125	0.0680	0.648	0.944
13.0	0.127	0.0690	0.936	0.958
17.0	0.093	0.0505	1.224	0.701
21.0	0.052	0.0280	1.512	0.386
25.0	0.025	0.0136	1.801	0.189
29.0	0.0063	0.0034	2.089	0.047
31.0	0.001	0.00045	2.233	0.0075

Kalma süresi deney verilerinden Denklem (EK 9.6)'dan hesaplanan varyans değerleri Çizelge EK 9.2'de verilmiştir.

$$\sigma^2 = \frac{\int_0^{\infty} t^2 C_i dt}{\int_0^{\infty} C_i dt} \equiv \frac{\sum t^2 C_i \Delta t}{\sum C_i \Delta t} \quad (\text{EK 9.6})$$



Şekil EK 9.1. KSD sonucu elde edilen derişimin zamanla değişimi. $U_L=5.87 \times 10^{-5}$ m/s, $U_G=5.51 \times 10^{-3}$ m/s ve $d_p=1.55$ mm



Şekil EK9.2.Eksenel dağılım modeline zaman alanında uygunlaştırma ile elde edilen sonuçların deney verileriyle uyumu. $U_L=5.87 \times 10^{-5}$ m/s, $U_G=5.51 \times 10^{-3}$ m/s ve $d_p=1.55$ mm

Çizelge EK9.2. Varyansın gaz akış hızı, sıvı akış hızı ve tanecik çapı/reaktör çapı oranıyla değişimi

$U_L \times 10^5, \text{ m/s}$	$U_G \times 10^3, \text{ m/s}$	$d_p/D_c=0.2412$ $\sigma^2, \text{ min}^2$	$d_p/D_c=0.2094$ $\sigma^2, \text{ min}^2$	$d_p/D_c=0.1471$ $\sigma^2, \text{ min}^2$	$d_p/D_c=0.0912$ $\sigma^2, \text{ min}^2$
5.87	1.47	51.23	50.16	35.81	41.07
5.87	3.67	56.25	63.28	41.33	35.16
5.87	5.51	71.76	74.21	51.20	34.95
5.87	7.34	42.34	56.73	59.05	29.85
5.87	11.01	57.06	70.22	36.72	17.13
1.91	5.51	511.94	175.38	291.36	311.18
3.67	5.51	107.22	85.13	112.58	50.50
5.87	5.51	71.76	74.24	51.20	34.95
8.81	5.51	39.59	66.69	17.27	14.52

EK 10. Bodenstein sayısı korelasyonlarının karşılaştırılması

Stiegel ve Shah (1977) tarafından geliştirilen korelasyondan (Denklem EK10.1), Cassanello et al (1992) tarafından geliştirilen korelasyondan (Denklem EK10.2) ve bu çalışmada geliştirilen korelasyondan (Denklem EK10.3) tanecik Peclet sayısı olan Bodenstein sayısının bulunması için örnek hesaplamalar aşağıda verilmiştir.

A. Stiegel and Shah'ın (1977) korelasyonundan Bodenstein sayısının hesaplanması

$$Bo = 0.128 Re_L^{0.245} Re_G^{-0.16} (ad_s)^{0.53} \quad (EK10.1)$$

Gaz faz olarak hava ve faz olarak sıvı faz olarak 0.05 M CaCl₂ çözeltisinin yoğunluğu ölçülmüş ve su ile yaklaşık aynı olduğu görüldüğü için sıvı suyun özellikleri literatürden alınmıştır (Perry and Green 1984).

Yatak gözenekliliği ϵ , pellet hacmi deneysel olarak, bir mezüre belli hacimde su doldurulup üzerine reaktöre doldurulacak pelletler katılıp son hacim ölçülmüş ve ilk hacim ile farkı alınarak bulunmuş, hesaplanan boş reaktör hacmi ile farkı alınarak sonucun reaktör hacmine bölünmesiyle hesaplanmıştır.

$$U_G = 1.47 \times 10^{-3} \text{ m/s}$$

$$U_L = 5.87 \times 10^{-5} \text{ m/s}$$

$$\rho_G = 1.1868 \times 10^{-3} \text{ kg/m}^3$$

$$\rho_L = 1000 \text{ kg/m}^3$$

$$\mu_G = 0.018 \times 10^{-3} \text{ kg/m s}$$

$$\mu_L = 0.96 \times 10^{-3} \text{ kg/m s}$$

$$d_p = 4.10 \text{ mm}$$

$$\epsilon = 0.31$$

$$D_e = 1.7 \times 10^{-2} \text{ m}$$

$$L = 27 \times 10^{-2} \text{ m}$$

$$ds = dp \text{ (küresel tanecik için)}$$

$$Re_G = d_p \rho_G U_G / \mu_G$$

$$Re_G = (4.1 \times 10^{-3}) (1.1868 \times 10^{-3}) (1.47 \times 10^{-3}) / (0.018 \times 10^{-3}) = 0.4455$$

$$Re_L = d_p \rho_L U_L / \mu_L$$

$$Re_L = (4.1 \times 10^{-3}) (1000) (5.87 \times 10^{-5}) / (0.96 \times 10^{-3}) = 0.2587$$

$$ad_s = 6(1-\varepsilon) \quad (\text{Shah 1979})$$

$$ad_s = 6(1-0.31) = 4.14$$

$$Bo = 0.128 (0.2587)^{0.245} (0.4455)^{-0.16} (4.14)^{0.53}$$

$$Bo = 0.1258$$

B. Cassanello et al'un (1992) korelasyonundan Bodenstein sayısının hesaplanması

$$Bo = 0.05 Re_L^{0.53} Re_G^{0.134} \quad (\text{EK 10.2})$$

$$Bo = 0.05 (0.2587)^{0.53} (0.4455)^{0.134}$$

$$Bo = 0.022$$

C. Bu çalışmadaki korelasyondan Bodenstein sayısının hesaplanması

$$Bo = 0.166 Re_G^{-0.157} (d_p / D_c)^{0.386} \quad (\text{EK10.3})$$

$$d_p / D_c = 4.1 \times 10^{-3} / 1.7 \times 10^{-2} = 0.2412$$

$$Bo = 0.166 (0.4455)^{-0.157} (0.2412)^{0.386}$$

$$Bo = 0.1086$$

EK 11. Sıvı hold-up korelasyonlarının karşılaştırılması

Stiegel ve Shah (1977) tarafından geliştirilen korelasyondan (Denklem EK11.1), Eroğlu and Doğu (1983) tarafından geliştirilen korelasyondan (Denklem EK11.2) ve bu çalışmada geliştirilen korelasyondan (Denklem EK11.3) sıvı hold-up'ın bulunması için örnek hesaplamalar EK 10'daki fiziksel özellikler kullanılarak aşağıda verilmiştir.

A. Stiegel and Shah'ın (1977) korelasyonundan sıvı hold-up'ın hesaplanması

$$h_L = 1.47 \text{Re}_L^{0.11} \text{Re}_G^{-0.14} (ad_s)^{-0.41} \quad (\text{EK 11.1})$$

$$\varepsilon_L = h_L \varepsilon$$

$$h_L = 1.47(0.2587)^{0.11}(0.4455)^{-0.14}(4.14)^{-0.41}$$

$$\varepsilon_L = 0.245$$

B. Eroğlu and Doğu'nun (1983) korelasyonundan sıvı hold-up'ın hesaplanması

$$\varepsilon_L = 0.038 \text{Re}_L + 0.05 \quad (\text{EK 11.2})$$

$$\varepsilon_L = 0.038(0.2587) + 0.05$$

$$\varepsilon_L = 0.06$$

C. Bu çalışmadaki korelasyondan sıvı hold-up'ın hesaplanması

$$\varepsilon_L = 0.117 \text{Re}_L^{0.289} \left(\frac{d_p}{D_c} \right)^{-0.498} \quad (\text{EK 11.3})$$

$$\varepsilon_L = 0.117(0.2587)^{0.289}(0.2412)^{-0.498}$$

$$\varepsilon_L = 0.161$$

EK 12. Sıvı faz kütle aktarım katsayısının hesaplanması

Sitrik asit üretiminin gerçekleştirildiği dolgulu kolondaki koşullarda sıvı faz kütle aktarım katsayısı denklem (EK12.1)'de verilen korelasyondan (Mochizuki and Matsui 1974) hesaplanmıştır.

$N_{ReL} < 5$ için,

$$Sh = 48 N_{ReG}^{1/4}$$

$$\frac{k_s d_e}{D_L} = 48 \left(\frac{d_e U_G \rho_G}{\mu_G} \right)^{1/4} \quad (EK12.1)$$

$$k_s = k_s' \varepsilon / (1 - \varepsilon)$$

$$D_L = 0.21 \times 10^{-5} \text{ cm}^2/\text{s} \text{ (Substrat difüzyon hızı) (Nath and Chand 1996)}$$

$$C_{So} = 40 \text{ g/L için,}$$

$$\rho_L = 1028 \text{ kg/m}^3$$

$$\mu_L = 3.2535 \text{ cp}$$

$$\rho_G = PM_{O_2}/RT = 0.644 \text{ kg/m}^3$$

$$\mu_G = 0.021 \times 10^{-3} \text{ kg/m s}$$

$$D_c = 2.8 \times 10^{-2} \text{ m}$$

$$d_p = 3.0 \times 10^{-3} \text{ m}$$

$$L = 0.35 \text{ m}$$

$$\varepsilon = 0.30$$

$$Q_L = 0.23 \times 10^{-6} \text{ m}^3/\text{min}$$

$$Q_G = 150 \times 10^{-6} \text{ m}^3/\text{min}$$

$$d_e = \varepsilon d_p / 1.5(1 - \varepsilon) \quad (\text{Mc Cabe and Smith 1967})$$

$$d_e = (0.3)(3 \times 10^{-3}) / 1.5(1 - 0.3) = 8.57 \times 10^{-4} \text{ m}$$

$$A_z = \pi/4 D^2 L = 6.127 \times 10^{-4} \text{ m}^2$$

$$U_G = Q_G / A_z = 0.406 \times 10^{-2} \text{ m/s}$$

$$U_L = Q_L / A_z = 6.226 \times 10^{-6} \text{ m/s}$$

$$N_{ReG} = d_e \rho_G U_G / \varepsilon \mu_G = 0.3557$$

$$N_{ReL} = d_e \rho_L U_L / \varepsilon \mu_L = 0.00562$$

Denklem (EK12.1)'den,

$$k_s'(8.57 \times 10^{-4}) / (0.21 \times 10^{-9}) = 48(0.3557)^{1/4}$$

$$k_s' = 9.083 \times 10^{-6} \text{ m/s}$$

$$k_s = 3.89 \times 10^{-6} \text{ m/s}$$

$$a = 6(1-\epsilon)/d_p = 6(1-0.30)/3 \times 10^{-3} = 1400 \text{ m}^2/\text{m}^3$$

$$k_s a = 5.45 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$$

EK 13. Peclet sayısının hesaplanması

EK 12'deki fiziksel özellikler ve koşullar kullanılarak Denklem (EK 10.3)'de Bodenstein sayısı hesaplanır.

$$Re_G = d_p U_G \rho_G / \mu_G = (3.0 \times 10^{-3})(0.406 \times 10^{-2})(0.644) / (0.021 \times 10^{-3})$$

$$Re_G = 0.3735$$

$$d_p / D_c = 3.0 \times 10^{-3} / 2.8 \times 10^{-2}$$

$$d_p / D_c = 0.1071$$

$$Bo = 0.166 (0.3735)^{-0.157} (0.1071)^{0.386}$$

$$Bo = 0.0818$$

$$Pe = L / d_p (Bo) = (0.35 / 3 \times 10^{-3})(0.0818)$$

$$Pe = 9.54$$

EK 14. Dolgulu kolon biyoreaktörün model denklemlerinin çözümü için yazılan kullanılan FORTRAN kodu.

```

Program Runcol
Implicit Double Precision(A-H,O-Z)
Parameter(Ildim = 500000)
Parameter(Iidim = 50000)
Dimension Fspace(Ildim),Ispace(Iidim)
Dimension Zeta(2),Tol(2),Ltol(2),Ipar(13),M(1),Fixpnt(1)
External Fsub,Dfsub,Gsub,Dgsub,Guess
Common /Prob/ Linnon
Common /Emine/u,xksa,Vm,xK1,xK2,xL,Cso,Pe,Da,St,FiS
Common /Emine2/Fis1
Common /Valpi/ Pi

```

```

Epsmin = 1.d-9

```

```

Notol = 2
Tol(1) = 1.d-6
Tol(2) = 1.d-4
Ltol(1) = 1
Ltol(2) = 2

```

```

Ncomp = 1
M(1) = 2

```

```

Linnon=1

```

```

Aleft = 0.d0
Aright = 1.0d0
Zeta(1) = 0.d0
Zeta(2) = 1.0d0

```

```

Ipar(1) = Linnon
Ipar(2) = 0
Ipar(3) = 5
Ipar(4) = Notol
Ipar(5) = Ildim
Ipar(6) = Iidim
Ipar(7) = 0
Ipar(8) = 0
Ipar(9) = 1
Ipar(10) = 0
Ipar(11) = 0
Ipar(12) = 0
Ipar(13) = 0

```

```

Call Colmod( Ncomp, M, Aleft, Aright, Zeta, Ipar, Ltol,
+ Tol, Fixpnt, Ispace, Fspace, Iflag, Eps, Epsmin,
+ Fsub, Dfsub, Gsub, Dgsub, Guess)

```

```

End

```

```

Subroutine Fsub(X,Z,F,Eps)
Implicit Double Precision(A-H,O-Z)
Dimension Z(*),F(*)
Common /Prob/ Linnon
Common /Emine/u,xksa,Vm,xK1,xK2,xL,Cso,Pe,Da,St,FiS
Common /Emine2/Fis1
Common /Valpi/ Pi

```

```

P(x)=((a+x)*x+b)*x+c
R(x)=(3*x+2*a)*x+b
write(*,*) a,b,c,Z(1),x

```

```

u=6.226e-4
xksa=5.45e-3
Pe=9.54
Cso=0.040
xL=35.0
Vm=2.05e-6
xK1=0.153
xK2=1.315
Da=Vm/(xksa*Cso)
St=xksa*xL/u
a=Da-Z(1)+xK1**2/Cso*xK2
b=xK1**2/Cso**2-xK1**2*Z(1)/xK2*Cso
c=-xK1**2*Z(1)/Cso**2
x=0.078
Px=P(x)
do 2 i=1,20
  x=x-P(x)/R(x)
  Px=P(x)
2 continue
FiS=x
F(1)=Pe*(Z(2)+St*(Z(1)-FiS))

```

```

Return
End

```

```

Subroutine Dfsub(X,Z,Df,Ncomp,Eps)
Implicit Double Precision(A-H,O-Z)
Dimension Z(*),Df(Ncomp,*)
Common /Prob/ Linnon
Common /Emine/u,xksa,Vm,xK1,xK2,xL,Cso,Pe,Da,St,FiS
Common /Emine2/Fis1

```

```

Df(1,1)=St*Pe*(1.-(FiS**2+FiS*xK1**2/xK2*Cbo+
  xK1**2/Cbo**2)/(3*FiS**2+2*FiS*Da-2*FiS*Z(1)
  +2*FiS*xK1**2/Cbo*xK2+xK1**2/Cbo**2-xK1**2
  *Z(1)/xK2*Cbo))
Df(1,2)=Pe

```

```

Return
End

```

```

Subroutine Gsub(I,Z,G,Eps)

```

```

Implicit Double Precision(A-H,O-Z)
Dimension Z(*)
Common /Prob/ Linnon
Common /Emine/u,xksa,Vm,xK1,xK2,xL,Cso,Pe,Da,St,FiS
Common /Emine2/Fis1

```

```

  IF (I .eq. 1) G = Z(1)-1-Z(2)/Pe
  If (I .eq. 2) G = Z(2)

```

```

Return
End

```

```

Subroutine Dgsub(I,Z,Dg,Eps)
Implicit Double Precision(A-H,O-Z)
Dimension Z(*),Dg(*)
Common /Prob/ Linnon
Common /Emine/u,xksa,Vm,xK1,xK2,xL,Cso,Pe,Da,St,FiS
Common /Emine2/Fis1

```

```

  If (I .eq. 1) Then
    Dg(1) = 1.d0
    Dg(2) = - 1/Pe
  Else
    Dg(1) = 0.d0
    Dg(2) = 1.d0
  Endif

```

```

Return
End

```

```

Subroutine Guess(X,Z,Dmval,Eps)
Implicit real*8 (A-H,O-Z)
Dimension Z(2),Dmval(1)
Z(1) =1.0
Z(2) = 0.0
Call Fsub(X,Z,DMVAL,eps)
Return
End

```

EK15. Sıvı Hold-up'ın sıvı hızıyla değişimi

Çizelge EK14. Sıvı hold-up'ın sıvı hızıyla ve d_p/D_c oranıyla değişimi.

($U_G=5.51 \times 10^{-3}$ m/s)

	ϵ_L		
$U_L \times 10^5$, m/s	$d_p/D_c=0.2412$	$d_p/D_c=0.1471$	$d_p/D_c=0.0912$
1.91	0.1246	0.1262	0.1385
3.67	0.1308	0.1721	0.1733
5.87	0.1550	0.1797	0.1907
8.81	0.1863	0.2000	0.12212

ÖZGEÇMİŞ

1962 yılında Uşak- Ulubey’de doğdu. İlk orta ve lise öğrenimini Ulubey’de tamamladı. 1982 yılında girdiği Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Mühendisliği Bölümü’nden 1986 yılında Kimya Mühendisi olarak mezun oldu. Ekim 1987- Mayıs 1991 tarihleri arasında, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı’nda ‘Naftalinin Propilen ile Alkilasyonu Prosesinde 2-İzopropilnaftalin Seçimliliğinin İncelenmesi” konusunda Yüksek Lisans öğrenimini tamamladı. Ekim 1991 yılında Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı’nda Doktora öğrenimine başladı.

1987 yılından beri Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Mühendisliği Bölümü’nde araştırma görevlisi olarak görev yapmaktadır.