



FERMENTASYONLA ETİL ALKOL ÜRETİMİ ÜZERİNE ÇÖZÜCÜ ETKİSİ

(*THE EFFECT OF SOLVENT ON A ETHANOL FERMENTATION PROCESS*)

Ş. İsmail KIRBAŞLAR*, Selva ÇAVUŞ*, Umur DRAMUR*

ÖZET / ABSTRACT

Endüstride fermantasyon ile etil alkol üretiminin büyük bir kısmı kesikli proseslerde gerçekleştirilmektedir. Kesikli fermantasyonda son ürün inhibisyonu nedeniyle seyreltik ürün elde edilmektedir. Son yıllarda, seyreltik etil alkol çözücüsünün saflaştırılması üzerine araştırmalar artmıştır. Alternatif ayırma metotlarından biri de sıvı-sıvı ekstraksiyon prosesleridir. Sıvı-sıvı ekstraksiyon proseslerinde en önemli parametrelerden biri çözücünün mayalar ve fermantasyon üzerine etkisidir. Bu çalışmada, çözücü olarak seçilen oleil alkolün mayaların ve fermantasyon üzerinde inhibisyon etkisinin olmadığı belirlenmiştir. Oleil alkolün mayalar (*Saccharomyces cerevisiae*) için yaşamsal uygunlukta bir çözücü olduğu saptanmıştır.

Su+Etil alkol+Oleil alkol üçlü sisteminin çözünürlük eğrisi fermantasyon sıcaklığında (303 ± 0.2 K) incelenmiştir. Etil alkolün oleil alkol içindeki dağılım katsayısı deneysel olarak ölçülmüştür.

The most used method for production of ethyl alcohol is batch fermentation process. In the batch fermentation, a diluted product is obtained because of inhibition of the last product. In recent years, the studies concerning purification of the dilute ethyl alcohol has increased. One of the alternative methods is liquid-liquid extraction process.

*It was determined that oleil alcohol has not negative effect on the yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) and fermentation. Oleil alcohol is a biocompatible extractant for ethyl alcohol.*

Experimental liquid-liquid equilibrium of Water+Ethyl alcohol+Oleil alcohol system was examined at 303 ± 0.2 K. The distribution coefficient of ethyl alcohol in the oleil alcohol was measured at 303 ± 0.2 K.

ANAHTAR KELİMELER / KEY WORDS

Etil alkol, *Saccharomyces cerevisiae*, Fermantasyon, Ekstraksiyon
Ethyl alcohol, Saccharomyces cerevisiae, Fermentation, Extraction

1.GİRİŞ

Günümüzde dünya petrol rezervlerinin hızla azalması bilim adamlarını yenilenebilir enerji kaynaklarının araştırılmasına yöneltmiştir. Fermantasyonla etil alkol üretimi yenilenebilir enerji kaynaklarının başında gelmektedir (Lee, 1992; Sola vd., 1986; Vega vd., 1985). Etil alkol petrol kadar olmasa da ona yakın kullanım alanına sahiptir. Dünyanın birçok ülkesinde etil alkol motor yakıtlarına ilave edilmektedir. Motor yakıtlarına ilave edildiğinde yakıtların kirliliğini ve greenhouse gazlarının emisyonunu azaltmaktadır. Avrupa Komisyonu etil alkolün % 5 oranında motor yakıtlarına ilave edilebileceğine izin vermiştir. Güney Afrika Devleti ise çeşitli alkollerden oluşan (etil alkol, propanol ve yüksek alkoller) bir karışımın motor yakıtlarına % 12 v/v (hacimce) oranında katılmasına izin vermiştir (Letcher ve Bricknell, 1994).

Etil alkol üretimindeki en önemli sınırlama kesikli proseslerdeki son ürün inhibisyonudur. Kesikli proseslerde etil alkol derişimi % 12 v/v olduğunda mayaların gelişmesi ve alkol üretim hızları düşer. Fermentördeki hücre yoğunluğu azalır, derişik şeker çözeltileri tam olarak tüketilemez (Miner ve Goma, 1982).

Klasik destilasyon prosesleri ile % 10'luk etil alkol-su karışımından azeotropik veya mutlak saflıkta etil alkol elde edilebilmektedir. Fakat etil alkol-su sistemindeki hidroksil gruplarının etkileşimi bu ikili karışımın birbirinden destilasyon ile ayrılmasını zorlaştırmaktadır. Destilasyon ile bu ikili karışımın ayrılması enerji fiyatlarına bağlı olarak ürün maliyetini artırmaktadır.

Sıvı-sıvı ekstraksiyonu, etil alkolün alternatif saflaştırma proseslerinin başında gelmektedir. Sıvı-sıvı ekstraksiyon proseslerindeki en önemli parametre ise çözücü seçimidir. Çözücü seçiminde şu parametreler önemlidir;

- a) fiziksel özellikler (sıvı fazlar arasındaki yoğunluk farkları, kaynama noktaları, vb.),
- b) kimyasal özellikler (dağılma katsayısı, seçimlilik, etil alkol-çözücü sisteminin sıvı-buhar denge karakteristikleri ve tutuşabilirlik, vb.),
- c) maliyetin düşük olması,
- d) düşük zehirlilik, (Zang ve Hill, 1991; Kapucu ve Mehmetoğlu, 1996; Arenson vd., 1990).

Etil alkolün % 10'luk sulu çözeltilisinden ekstraksiyonla ayrılmasında kaynama noktası etil alkolden küçük olan bir çözücü seçildiğinde karışımın % 90'nını oluşturan çözücüyu buharlaştırmak gerekeceğinden birim etil alkol başına harcanan enerji miktarı oldukça artacaktır. Yüksek kaynama noktalı çözücüler seçilmesi durumunda ekstrakt fazdan % 10 etil alkol buharlaşacağı için birim etil alkol başına harcanan enerji azalacaktır.

Su+etil alkol karışımından etil alkolü ekstraksiyon ile ayırmak için kullanılan çözücülerin ekstrakte etme gücü sırası şöyledir;

hidrokarbonlar<eterler<ketonlar<aminler<esterler<alkoller (Roddy, 1981). Uzun zincirli yağ alkollerinin kolay bulunabilirliği, kaynama noktalarının yüksek olması ve çevre dostu olmalarından dolayı çalışmamızda çözücü olarak oleil alkol seçilmiştir.

Sıvı-sıvı denge verilerini literatürden elde etmek çok zor olabilmektedir. Bu veriler literatürden bulunamaz ise iki yöntemle elde edilirler:

- (1) laboratuarda deneysel olarak,
- (2) matematik model ile belirli bir yaklaşımla elde edilebilir. Deneysel olarak gerçek veriler elde edildiğinden çalışmamızda bu yöntem tercih edilmiştir.

Mayalar için çözücünün düşük zehirlilikte olması fermantasyonun en önemli parametrelerden biridir. Çünkü fermantasyonun ilerlemesi için maya derişimi önemlidir. Endüstride kullanım alanı en fazla olan maya türü *Saccharomyces cerevisiae*'dir. Mayalar diğer mikroorganizmalarla karşılaştırıldıklarında etil alkole oldukça dayanıklıdırlar. Yüksek

glikoz derişimleri, ozmatik basıncın artması nedeniyle mayalar üzerinde yavaşlatıcı bir etkiye sahiptir (Jassal vd.1994; Zhang ve Hill, 1991; Rose, 1976).

Bir çözücünün tamamen yaşamsal uygunlukta (biocompatible) veya tamamen zehirli (toksik) olup olmadığını anlamak oldukça kolaydır. Çözücünün toksikliği, mayaların inkübasyonu süresince çözücü ile temas ettirildiğinde mayaların tümünün ölmesidir. Genelde çözücülerin büyük çoğunluğu mayalar üzerinde ya tamamen zararsızdır yada tamamen toksiktir. Bazı durumlarda ise çözücü fermantasyonu durdurmasına rağmen mayalar canlılıklarını sürdürmektedirler. Diğer bir durum ise çözücü mayaların üremesini azaltırken mayaların hayatiyeti değişmemektedir. Böyle çözücülerin inhibisyonu, tamamıyla toksik olmadığı şeklinde tanımlanır. Çözücülerin toksikliği üç grupta sınıflandırılır;

- (1) tamamen yaşamsal uygunlukta,
- (2) inhibisyon etkisine sahip,
- (3) tamamen toksik.

Günümüzde etil alkol fermantasyonu yaygın olarak kesikli proseslerde gerçekleştirilmektedir. Düşük yatırım maliyetinin yanında işletme koşullarının basit olması ve gerektiğinde kolaylıkla başka proseslere dönüştürülebilmeleri bu proseslerin en önemli avantajlarıdır (Kida vd., 1992).

Türkiye’de etil alkol üretimi Tekel tarafından kesikli proseslerde gerçekleştirilmektedir. Bu proseslerde etil alkol sulu çözeltilerinden klasik destilasyon işlemleri ile saflaştırılmaktadır.

Bu çalışmanın amacı kesikli fermantasyon yöntemi kullanılarak glikozdan etil alkol üretiminde glikoz derişiminin fermantasyon üzerine etkisi ile çözücünün fermantasyon üzerine ve mayalar üzerine inhibisyon etkisini incelemektir. Ayrıca sıvı-sıvı ekstraksiyonda önemli olan Su+Etil Alkol+Oleil Alkol üçlü sisteminin çözünürlük diyagramını incelemektir.

2. MATERYAL VE METOD

2.1. Mikroorganizma

Mikroorganizma olarak kültür mayası *Saccharomyces cerevisiae* (Narince 3) Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi’nden temin edilmiştir. (Tekel’e ait Tekirdağ etil alkol üretim prosesinde bu maya kullanılmaktadır). Deneylerde kullanılan bütün kimyasal maddeler reaktif saflıktadır. Su ise bidestile edildikten sonra kullanılmıştır. Mayalar pH 4.5’de YPG (10 g/L Bacto-peptone, 10 g/L maya özütü, 20 g/L glikoz) besi yeri kullanılarak uygun sıcaklıkta (303.2 K) 24 saat bekletilerek çoğaltılmıştır (Rose, 1976).

2.2. Sterilizasyon

Fermantasyon işleminde kullanılan çözeltiler, fermentör ve cam malzemeler 394.2 K de otoklavda (Prior Clave) 15 dakika süreyle sterilize edilmiştir.

2.3. Fermantasyon Ortamı

Fermantasyon ortamı; 10 g/L glikoz mono hidrat, 2.5 g/L NH₄Cl, 5.5 g/L Na₂HPO₄.7H₂O, 3 g/L KH₂PO₄, 0.25 g/L MgSO₄, 0.01 g/L CaCl₂, 5 g/L sitrik asit ve 2.5 g/L sodyum sitrat karışımından oluşmaktadır.

2.4. Yöntemin Uygulanması

Deneyler 1.5 Litre hacminde cam bir fermentörde kesikli olarak gerçekleştirilmiştir (Şekil 1). Fermantasyon ortamı (1 Litre) sterilize edildikten sonra 303.2 K'ne soğutulmuş fermentöre yüklenmiştir. Fermentör sıcaklığı 303.2 ± 1 °C'de bir termostat ile sabit tutulmuştur. Maya ilavesi yapıldıktan sonra karıştırma hızı 100 rpm değerine ayarlanarak fermantasyon başlamıştır. İlk 4 deneyde glikoz derişiminin fermantasyon üzerine etkisi incelenmiştir (Şekil 2). Deney 5, 6 ve 7 de ise değişik glikoz derişimleri için oleil alkolün fermantasyon üzerine etkisi incelenmiştir (Şekil 3). Fermantasyon süresince pH 4.5 (pH 4.3 ile 4.7 aralığında değişebilmektedir) değerinde sabit tutulmuştur. Deneyler süresince 5., 24., 29., 48., 53. ve 72. saatlerde fermentörden örnekler alınarak ortamdaki glikoz ve etil alkol miktarları tayin edilmiştir. Deneylere ait operasyon şartları Çizelge 1'de gösterilmiştir.

Çizelge 1. Deneylerde uygulanan operasyon şartları

Deney no	Deney süresi (saat)	Başlangıç glikoz derişimi (g/L)	Oleil alkol miktarı (mL)
1	72	35	-
2	72	50	-
3	72	100	-
4	72	150	-
5	72	35	100
6	72	100	100
7	72	150	100

2.5. Glikoz Derişiminin Belirlenmesi

Fermantasyon ortamındaki glikoz miktarı U.V. Spektrofotometresi (Jenway 6105 U.V.) Fenol-sülfat asidi yöntemi kullanılarak kolorimetri yöntemiyle saptanmıştır (Dubois vd., 1956).

2.6. Etil Alkol Derişiminin Belirlenmesi

Fermantasyon ortamında oluşan etil alkolün miktarını belirlemede Gaz Kromatografisi (Hewlett Packard, 6890 Series GS System) kullanılmıştır. Tamamen bilgisayar kontrollü olan Gaz Kromatografisi seri bağlı TCD ve FID detektörler ile kapiler kolon kullanmaktadır. Gaz Kromatografisi operasyon şartları aşağıdaki gibidir:

Kolon: HP-Innowax (Polyethylene Glycol), (30 m x 0.25 mm x 0.52µm.)

Fırın Sıcaklığı: 378.2 K (Etil alkol, n-propanol ve su)

Fırın Sıcaklığı: 483.2 K (Etil alkol, n-propanol ve oleil alkol)

Azot Akış Hızı: 4 mL/dak, (Azot Basıncı: 16.5 psi)

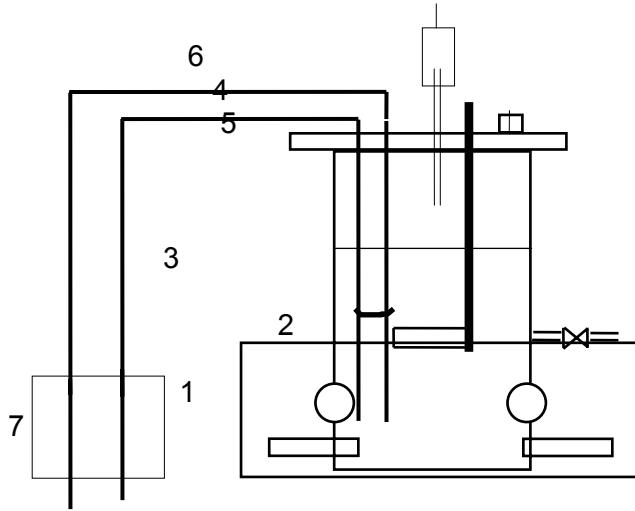
Hidrojen Akış Hızı: 33 mL/dak

Hava Akış Hızı: 400 mL/dak

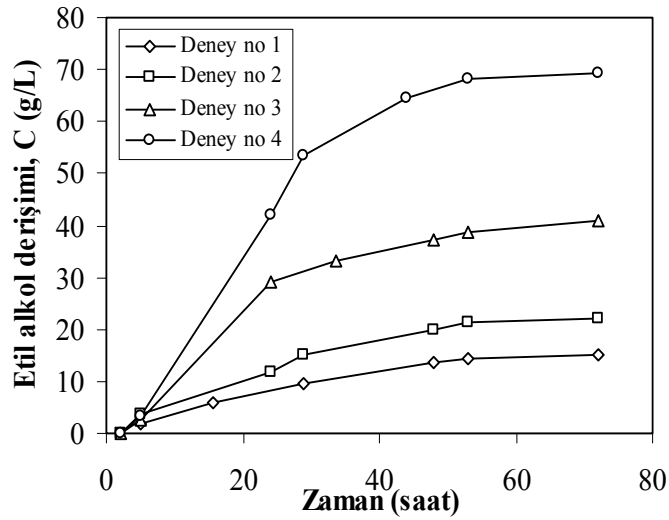
Etil alkol, propanol ve oleil alkolün kolonda kalma süreleri sırasıyla 2, 3 ve 26 dakika olarak belirlenmiştir. Hazırlanan etil alkol örneklerinden 0.1 µL alınarak kolona enjektörle verilmiştir. Etil alkol/iç standart (n-propanol) ağırlık oranları ve pik alanları arasında çizilen standart doğru kullanılarak etil alkol miktarları hesaplanmıştır.

2.7. Çözücünün İnhibisyon Testi

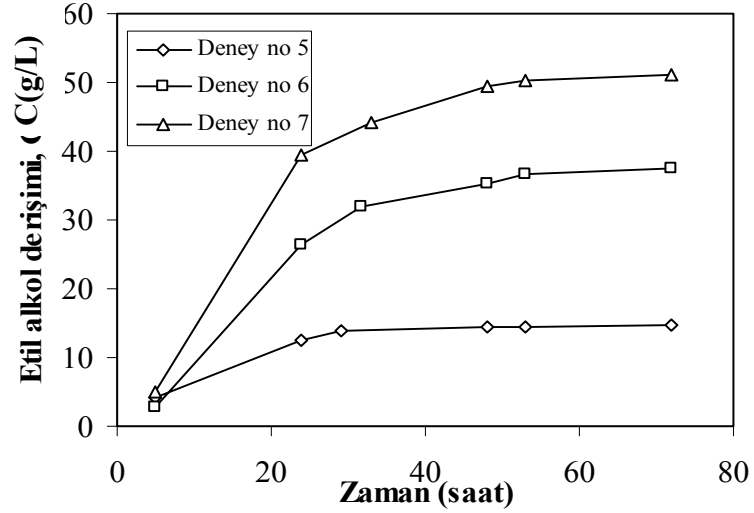
Mayalar üzerindeki inhibisyon testleri için 250 ml'lik 5 adet erlene 50 ml fermantasyon ortamı ilave edildikten sonra erlenlerin tümü 394.2 K'de otoklavda 20 dakika sterilize edilmiştir. Daha sonra her bir erlene maya kültürü (24 saat süre ile 303.2 K'de inkübasyon edilmiş) ilave edilmiştir. Erlenlerden 4 tanesinin üzerine 10 mL oleil alkol ilave edilmiştir. Erlenlerden 1 adedi şahit olarak belirlenmiş ve bu erlene oleil alkol ilave edilmemiştir. Erlenlerde bulunan mayaların çoğalması için inkübatörde (303.2 K) 24 saat süreyle bekletilmiştir. İnkübasyonun başlangıcında ve sonunda erlenlerden örnekler alınarak maya sayımı 'Seyreltme Metodu' kullanılarak belirlenmiştir (Nagodawithana vd., 1974; Gürgün ve Halkman, 1990). Mayaların çoğalması üzerinde oleil alkolün herhangi bir inhibisyon etkisi göstermediği belirlenmiştir.



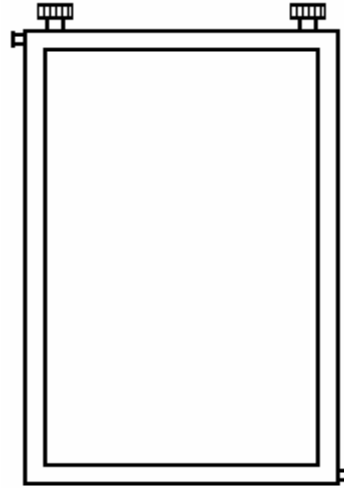
Şekil 1. Deney düzeneği: 1. Manyetik karıştırıcı, 2. Örnek alma vanası, 3. Fermentör, 4. Termometre, 5. Fermantasyon başlığı, 6. Sterilizasyon filtreli CO₂ çıkışı, 7. Termostatlı su banyosu



Şekil 2. Başlangıçtaki glikoz derişimlerinin etil alkol üretimi üzerine etkisi; 35 g/L (Deney no 1); 50 g/L (Deney no 2); 100 g/L (Deney no 3) ve 150 g/L (Deney no 4)



Şekil 3. Fermantasyon ortamına oleil alkol ilave edilmesi durumunda fermantasyon ortamındaki etil alkol derişiminin zamanla değişimi; (başlangıç glikoz derişimleri sırasıyla; 35 g/L (Deney no 5); 100 g/L (Deney no 6) ve 150 g/L (Deney no 7) alınmıştır)



Şekil 4. Sıvı-sıvı çözürlük deneylerinde kullanılan hücre

Çizelge 2. Su (1)+Etil alkol (2)+Oleil alkol (3) (W/W,ağırlıkça) üçlü sisteminin 303 ± 0.2 K'de çözürlük değerleri

W_1	W_2	W_3
-----	0.0107	0.9893
0.1007	0.0132	0.8861
0.2241	0.0324	0.7435
0.3183	0.0429	0.6388
0.4326	0.1480	0.4194
0.3944	0.1008	0.5048
0.5373	0.2398	0.2229
0.5723	0.2812	0.1465
0.5936	0.3208	0.0856
0.6102	0.3408	0.0490

2.8. Sıvı-sıvı Ekstraksiyon

Sıvı-sıvı çözünürlük denge eğrisi deneyleri çift cidarlı özel bir hücrede gerçekleştirilmiştir (Şekil 4). Hücre cidarları arasından termostat vasıtasıyla su geçirilerek hücre içindeki sıcaklık sabit tutulmuştur. Elektronik kontrol edicili termostat su sıcaklığını ± 0.2 K'de sabit tutabilmektedir.

Etil alkol kütlesi % 0-60 arasında olan değişik konsantrasyonlarda oleil alkol-etil alkol çözeltileri hazırlanıp 303 ± 0.2 K'de sabit sıcaklık banyosunda dengeye getirildikten sonra otomatik büret (Metrom) ile bulanma noktasına kadar su ile titre edilmiştir. Her bir numune için bulanma noktasındaki ağırlık yüzdeleri bulunmuştur. Suya karşılık etil alkol yüzdesi grafiğe geçirilerek ekstrakt fazın çözünürlük denge eğrisi çizilmiştir. Rafinat faz için ise benzer şekilde etil alkol-su çözeltileri hazırlanmış 303 ± 0.2 K'de sabit sıcaklık banyosunda dengeye getirildikten sonra bulanma noktasına kadar oleil alkol ile titre edilmiştir. Her bir numune için bulanma noktasındaki ağırlık yüzdeleri bulunmuştur. Oleil alkole karşılık etil alkol yüzdesi grafiğe geçirilerek rafinat fazın çözünürlük denge eğrisi çizilmiştir. Daha sonra her iki eğri birleştirilerek çözünürlük eğrisi oluşturulmuştur. Çözünürlük değerleri Çizelge 2'de verilmiş ve çözünürlük eğrisi Şekil 5'de gösterilmiştir.

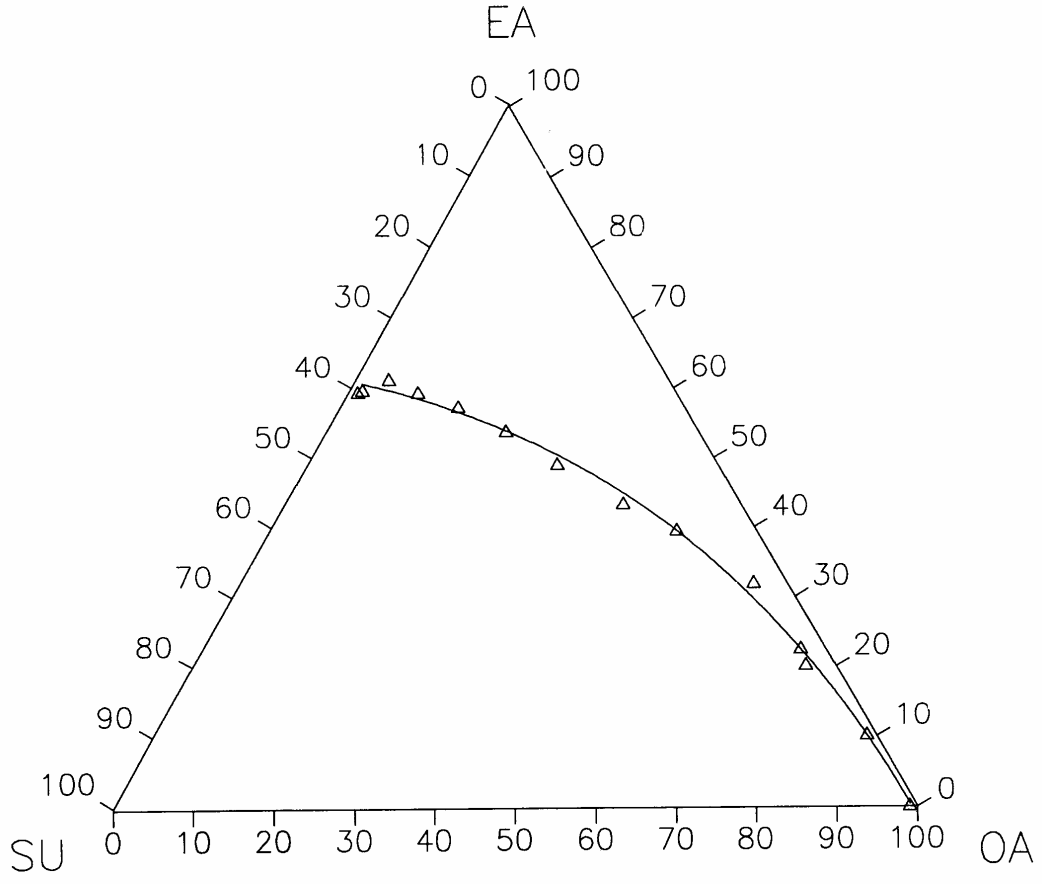
Dağılma katsayısı için 10 g % 10'luk etil alkol ve 10 g oleil alkol 303 ± 0.2 K'deki bir hücreye ilave edilmiş ve dinamik dengenin sağlanması için 30 dakika karıştırılmıştır. Oleil alkol ve su fazından örnekler alınarak Gaz Kromatografisinde analiz edilmiştir. Etil alkolün oleil alkoldeki dağılma katsayısı 0.23 g/g olarak bulunmuştur.

3. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

Fermentörde yapılan ilk 4 deneyde başlangıç glikoz derişimi 35 g/L değerinden 150 g/L değerine artırılmıştır. Glikoz derişiminin artmasıyla oluşan etil alkol miktarının attığı görülmüştür (Şekil 2). Deney no 5, 6 ve 7'de ise fermantasyon ortamına 100 mL oleil alkol ilave edilmiş ve glikoz derişimi yine benzer şekilde 35 g/L değerinden 150 g/L değerine kadar artırılmıştır. Bu deneylerde oleil alkolün glikoz tüketimi üzerine herhangi bir inhibisyon etkisi olmadığı görülmüştür. Buna ilave olarak fermantasyon süresince oluşan etil alkolün bir kısmı oleil alkol fazına geçmiştir. Fakat oleil alkol ile fermantasyon ortamı fermentörde ayrı iki faz halinde bulunduğundan bu işlem bir ayırma işlemi olarak değerlendirilmemiştir. Yapılan tüm deneylerden görüldüğü gibi ilk 24 saatte fermantasyon hızlı bir şekilde ilerlemiştir, daha sonra fermantasyon hızında azalmalar görülmüştür. Deneylerdeki glikoz tüketimi, etil alkol üretimi ve verimlilik değerleri Çizelge 3 de gösterilmiştir. Yapılan bütün deneylerde, 72 saat sonunda başlangıçtaki glikoz % 99.99 oranında tüketilmiştir.

Oleil alkolün mayalar üzerindeki inhibisyon etkisi incelenmiş ve mayalar için yaşamsal uygunlukta (biocompatibility) olduğu belirlenmiştir. Su+Etil alkol+Oleil alkol üçlü sisteminin çözünürlük denge diyagramının ekstraksiyon prosesleri için uygun çözünmezlik alanına sahip olduğu belirlenmiştir. Ayrıca oleil alkolün kolaylıkla bulunabilirliği ve çevre dostu bir çözücü olduğu da göz önüne alındığında ekstraksiyon proseslerinde tek başına bir çözücü olarak kullanılabilmesi gibi etil alkol için dağılma katsayısı büyük olan çözücüler (aminler vb.) için uygun bir seyreltici olabileceği sonucuna varılmıştır. Araştırmanın devamında etil alkol için dağılma katsayısı yüksek olan çözücülerin kullanımında oleil alkolün seyreltici olarak kullanılması hedeflenmiştir.

Türkiye'de fermantasyon ile üretim yapılan proseslerde (etil alkol, asetik asit sitrik asit üretimi vb.) son ürünün seyreltik ortamdan saflaştırılmasında sıvı-sıvı ekstraksiyon prosesleri



Şekil 5. 303±0.2 K'de Su+Etıl alkol (EA)+Oleıl alkol (OA) üçlü sisteminin çözünürlük denge eğrisi

Çizelge 2. Kesikli fermantasyon yönteminin 303.2 K'deki verimliliği

Deney no	Başlangıçtaki glikoz derişimi (g/L)	Glikoz kullanımı (%)	Operasyon sonundaki etanol derişimi (g/L)	Verimlilik (g/L/saat)
1	35	99.99	14.98	0.21
2	50	99.99	22.00	0.31
3	100	99.99	41.00	0.57
4	150	99.99	69.40	0.96
5	35	99.99	14.83	0.21
6	100	99.99	57.92	0.80
7	150	99.99	74.01	1.10

klasik destilasyon prosesleri yerine kullanılabilir. Bu konuda yapılan araştırmalardan faydalanarak pilot çaptaki prosesler kurulup gerekli teknik bilgiler bu proseslerden sağlanabilir.

TEŞEKKÜR

Bu araştırma İstanbul Üniversitesi Araştırma Fonu tarafından desteklenmiştir (Proje no: T-334 /190397).

KAYNAKLAR

- Arenson D.R., Kertes A.S., King C. J., (1990): "Extraction of Ethanol from Aqueous Solution with Phenolic Extractants", *Ind. Eng. Chem. Res.*, V. 29, p. 607-613.
- Dubois M., Gilles K.A., Hamilton J.K., Rebers P.A., Smith F., (1956): "Colorimetric Method for Determination of Sugars and Related Substances", *Analytical Chemistry*, V. 28, p. 350-356.
- Gürgün V., Halkman A.K., (1990): "Mikrobiyolojide Sayım Yöntemleri", Gıda Teknolojisi Yayın Derneği, Ankara.
- Jassal D.S., Zhang Z., Hill G.A., (1994): "In-situ Extraction and Purification of Ethanol Using Commercial Oleic Acid", *The Canadian Journal of Chemical Engineering*, V.72, p. 822-826.
- Kapucu H., Mehmetoğlu Ü., (1996): "Ekstraktif Etil alkol Fermentasyonunda Çözücü Seçimi", İstanbul Teknik Üniversitesi, II. Ulusal Kimya Mühendisliği Kongresi, İstanbul, Türkiye, s.257-263.
- Kida K., Kume K., Morimura S., Sonoda Y., (1992): "Repeated-Batch Fermentation Process Using a Thermotolerant Flocculating Yeast Constructed by Protoplast Fusion", *Journal of Fermentation and Bioengineering*, V.74, N. 3, p.169-173.
- Lee J., (1992). "Biochemical Engineering", Prentice Hall, New Jersey.
- Letcher T.M., Bricknell B.C., (1994): "Liquid-liquid Equilibria for Mixture of an Alkanol+Hept-ene+Water at 25 °C", *J.Chem. Eng. Data*, V.39, N.2, p.320-323.
- Miner M., Goma G., (1982): "Ethanol Production by Extractive Fermentation", *Biotechnology and Bioengineering*, V. 24, p. 1565-1579.
- Nagodawithana T.W., Castellano C., Steinkraus K.H., (1974): "Effect of Dissolved Oxygen, Temperature, Initial Cell Count, and Sugar Concentration on the Viability of *Saccharomyces cerevisiae* in Rapid Fermentation", *Applied Microbiology*, V. 28 No.3, p. 383-391.
- Roddy J.W., (1981): "Distribution of Ethanol-Water Mixtures to Organic Liquids", *Ind. Eng. Chem. Process Des. Dev.*, V. 20, No.1, p.104-108.
- Rose A., (1976): "Chemical Microbiology", Planum Press, New York.
- Sola C., Casas C., Godia F., Poch, Serra A., (1986): "Continuous Ethanol Production by Immobilised Yeast Cells and Ethanol Recovery by Liquid-Liquid Extraction", *Biotechnology and Bioengineering Symp*, P. 519-524.
- Vega J.L, O'Maley D.J., Clausen E.C., Gaddy J.L., (1985): "Generalised Characteristics of a Cross-Linked Immobilised Cell Reactor for Ethanol Production", *Biotechnology and Bioengineering Symp.*, No.15, p. 263-276.
- Zhang Z., Hill G.A., (1991): "Ternary Liquid-Liquid Equilibria of Water", *Ethanol and Oleic Acid*, *J. Chem. Eng. Data*, V.36, p.453-456.