

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

**PEYNİRALTI SUYUNDAN MİKROBİYEL YAĞ ÜRETİMİ VE ÜRETİLEN
YAĞLARIN BAZI FİZİKSEL VE KİMYASAL ÖZELLİKLERİNİN
BELİRLENMESİ**

MUAMMER DEMİR

DOKTORA TEZİ

GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

2010

**PEYNİRALTI SUYUNDAN MİKROBİYEL YAĞ ÜRETİMİ VE ÜRETİLEN
YAĞLARIN BAZI FİZİKSEL VE KİMYASAL ÖZELLİKLERİNİN
BELİRLENMESİ**

MUAMMER DEMİR

DOKTORA TEZİ

GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

**Bu tez 2006.03.0121.001 Proje numarasıyla Akdeniz Üniversitesi Bilimsel
Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir.**

2010

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**PEYNİRALTI SUYUNDAN MİKROBİYEL YAĞ ÜRETİMİ VE ÜRETİLEN
YAĞLARIN BAZI FİZİKSEL VE KİMYASAL ÖZELLİKLERİNİN
BELİRLENMESİ**

MUAMMER DEMİR

DOKTORA TEZİ

GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

Bu tez / /2010 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Oybirliği/Oyçokluğu ile kabul edilmiştir.

Yrd. Doç. Dr. Zafer ALPKENT

Prof. Dr. Aynur Gül KARAHAN

Doç. Dr. Murat Soner BALCIOĞLU

Doç. Dr. Ayhan TOPUZ

Doç. Dr. Ahmet KÜÇÜKÇETİN

ÖZET

PEYNİRALTI SUYUNDAN MİKROBİYEL YAĞ ÜRETİMİ VE ÜRETİLEN YAĞLARIN BAZI FİZİKSEL VE KİMYASAL ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ

Muammer DEMİR

Doktora Tezi, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Yrd. Doç. Dr. Zafer ALPKENT

Ağustos 2010, 295 Sayfa

Bu çalışmada ülkemizde yaygın olarak üretimi gerçekleştirilen peynirin yapımı sırasında yan ürün olarak açığa çıkan ve hemen hemen hiç değerlendirilmeden atılan peyniraltı suyunun mikrobiyel yağ üretimi amacıyla gerçekleştirilen fermentasyonlarda substrat olarak kullanımı araştırılmıştır. Çevre kirliliğine sebep olan atık durumundaki peyniraltı suyunun değerlendirilmesi ile çevreci bir fayda sağlanmasının yanı sıra sağlık üzerine çok büyük yararları nedeniyle dünya çapında gittikçe talebi artan, ekonomik bakımdan değerli bir ürün olan mikrobiyel yağ üretimi gerçekleştirilmiş olacaktır. Peyniraltı suyu kullanılarak mikrobiyel yağ üretiminin ülke ekonomisine katkısı hem elde edilen ürünün bizzat kendi değeri, hem peyniraltı suyunun ihtiva ettiği önemli besin elementlerinin kaybının önlenmesi, hem de peyniraltı suyunun atılmasıyla çevre kirlenmesinin ortaya çıkardığı olumsuzluklardan kaynaklanan ekonomik kayıpların önüne geçilmesi ile sağlanmış olacaktır.

Peyniraltı suyu tozu ile rekonstitüe peyniraltı suları hazırlanmış, daha sonra hazırlanan bu rekonstitüe peyniraltı sularına ısıl işlem uygulanarak proteinleri çöktürülüp filtrasyonla uzaklaştırılarak mikrobiyel yağ üretiminde substrat olarak kullanılmak üzere deproteinize-peyniraltı suyu permeatları (DP-PSP) elde edilmiştir. Substrat olarak kullanılan peyniraltı suyunun konsantrasyon düzeyinin elde edilen mikrobiyel yağların özellikleri üzerine etkilerini belirlemek amacıyla normal bileşime sahip ve 3 farklı konsantrasyon düzeyinde olmak üzere toplam 4 farklı kurumadde

içeriğine sahip (%4.5, %8, %12 ve %16 laktoz içeriğine sahip) DP-PSP'ler hazırlanmıştır. DP-PSP'lerin kurumadde Daha sonra bunlar da iki gruba ayrılmış, gruplardan birine laktaz enzimi uygulanarak içerdikleri laktoz kısmen hidrolize edilip, glikoz ve galaktoz açığa çıkarılmıştır. Sonuçta elde edilen 8 farklı bileşime sahip olan DP-PSP'ler de iki gruba ayrılmış ve gruplardan biri *Mortierella isabellina*, diğeri ise *Mortierella ramanniana* ile aşılansarak fermentasyonlar gerçekleştirilmiştir. Aynı küflerle %3 glikoz içeren besi ortamına da aşılamlar yapılarak yürütülen fermentasyonlar ise çalışmanın kontrol grubunu oluşturmuştur. Gerçekleştirilen 9 günlük fermentasyonlar süresince her gün üretilen biyokütle ve mikrobiyel yağ miktarları ile besi ortamında kullanılmadan kalan şekerlerin düzeyleri tespit edilmiş, aynı zamanda üretilen mikrobiyel yağlardaki yağ asidi kompozisyonundaki değişimler belirlenmiştir. Fermentasyonlar sonunda fermentasyonlara ait kinetik parametreler hesaplanmış, üretilen mikrobiyel yağda bazı fiziksel ve kimyasal özellikler analiz edilmiştir.

Mortierella isabellina ile gerçekleştirilen fermentasyonlarda laktaz enzimi uygulanmamış grupta üretilen biyokütle ve mikrobiyel yağ miktarına ait değerlerin DP-PSP'lerin başlangıç kurumadde düzeylerinden etkilenmediği, ancak enzim uygulanmış grupta söz konusu değerlerin DP-PSP'lerin başlangıç kurumadde düzeylerinin artması ile paralel olarak yükselme gösterdiği belirlenmiştir. Laktaz enzimi uygulanmış grupta bu değerler daha yüksek bulunmuştur. En düşük yağ içeriği, %8 laktoz içeriğine sahip DP-PSP'nin fermentasyonu sonucunda 3.26 g/kg olarak belirlenirken; en yüksek yağ miktarı ise %16 laktoz içeren laktaz enzimi uygulanmış DP-PSP'nin fermentasyonu sonunda 18.21 g/kg olarak saptanmıştır. Yağ asitlerine ait istatistiksel değerlendirme sonucunda en yüksek γ -linolenik asit oranına %16 laktoz içeriğine sahip DP-PSP'lerin fermentasyonunda ulaşılmış (%5.28), laktaz enzimi uygulanmamış grubun daha yüksek γ -linolenik asit oranı verdiği (%5.53) görülmüştür.

Mortierella ramanniana ile gerçekleştirilen fermentasyonlarda laktaz enzimi uygulanmamış grupta DP-PSP'lerin başlangıç kurumadde düzeylerinin artışı ile birlikte üretilen mikrobiyel yağ miktarına ait değerlerin azalma gösterdiği; enzim uygulanmış grupta ise %8 laktoz içeriğine sahip DP-PSP'nin fermentasyonu sonunda değerlerde

yükselme olduğu ve başlangıç kurumadde düzeyindeki artış ile mikrobiyel yağ miktarının azaldığı belirlenmiştir. Laktaz enzimi uygulanmış grupta biyokütle ve mikrobiyel yağ miktarlarına ait değerler daha yüksek seviyelerde bulunmuştur. En düşük yağ içeriği, %16 laktoz içeriğine sahip DP-PSP'nin fermentasyonu sonucunda 0.92 g/kg olarak belirlenirken; en yüksek yağ miktarı ise %8 laktoz içeren laktaz enzimi uygulanmış DP-PSP'nin fermentasyonu sonunda 10.61 g/kg olarak saptanmıştır. Yağ asitlerine ait istatistiksel değerlendirme sonucunda en yüksek γ -linolenik asit oranına %8 laktoz içeriğine sahip DP-PSP'lerin fermentasyonu sonucunda ulaşılmış (%5.24), laktaz enzimi uygulanmamış grubun daha yüksek γ -linolenik asit oranı verdiği (%5.17) görülmüştür.

Mortierella isabellina ile DP-PSP'lerde gerçekleştirilen fermentasyonlarda üretilen mikrobiyel yağ miktarlarının, *Mortierella ramanniana* ile gerçekleştirilen fermentasyonlarda üretilen yağ miktarlarından daha yüksek seviyelerde olduğu; elde edilen yağlarda γ -linolenik asit oranlarının benzer değerler ortaya koyduğu ve bu yüzden *Mortierella isabellina* ile gerçekleştirilen fermentasyonların daha başarılı olduğu sonucuna varılmıştır.

ANAHTAR KELİMELELER: Tek Hücre Yağı, Mikrobiyel Yağ, Peyniraltı suyu, *Mortierella ramanniana*, *Mortierella isabellina*.

JÜRİ : Yrd. Doç. Dr. Zafer ALPKENT (Danışman)
Prof. Dr. Aynur Gül KARAHAN
Doç. Dr. Murat Soner BALCIOĞLU
Doç. Dr. Ayhan TOPUZ
Doç. Dr. Ahmet KÜÇÜKÇETİN

ABSTRACT

PRODUCTION OF SINGLE CELL OIL FROM WHEY AND DETERMINATION OF SOME PHYSICAL AND CHEMICAL PROPERTIES OF PRODUCED OILS

Muammer DEMİR

Ph. D. Thesis in Food Engineering

Supervisor: Assist. Prof. Dr. Zafer ALPKENT

August 2010, 295 pages

In this study using of whey as a substrate in the microbial oil fermentation which is residual during cheese production that most common produced dairy product in our country was researched. By the using of whey which regarded a waste as a substrate in microbial oil fermentation will be provided some benefits as means preventing environmental pollution and production of a valuable product which have increasing demand in the world markets for its health benefits. The additive value to country economy of production of microbial oil would be provided by means of individual product value and also reuse of valuable whey constituents.

For this purpose with using of whey powder, reconstitute whey was prepared then by heat treatment and filtration processes denaturated proteins were removed so finally deproteinized whey permeate (DP-WP) was obtained. By regarding of their lactose content DP-WP's were prepared at 4 different initial dry matter contents. And then by dividing these DP-WP's in two groups, one of them was applied lactase enzyme and partially hydrolysed lactose to glucose and galactose. Finally obtained DP-WP's which have 8 different contents were divided in two groups again, and one of them inoculated with *Mortierella isabellina* and another one inoculated with *Mortierella ramanniana*, and fermentations were performed. With using same fungus inoculation was carrying out to growth medium contain %3 glucose and then fermentations were performed. These fermentations were the control groups of this study. The biomass and

microbial oil amounts and the residual sugar levels that not used in the growth medium were determined during the 9 days of fermentation performed. By the way the changing in fatty acid contents of the microbial oils obtained were also determined. At the end of the fermentations the kinetic parameters belonging to fermentations and some physical and chemical properties of final product were determined.

The biomass and microbial oil values were not affected by the initial dry matter in which the fermentations performed with *Mortierella isabellina* that the groups enzyme un-applied. But at the groups applied enzyme, by the increasing of initial dry matter the biomass and microbial oil levels were also increased. At the groups applied lactase enzyme these values were higher. The lowest oil content was obtained as 3.26 g/kg by fermentating of DP-WP which has %8 lactose content. The highest oil content was obtained as 18.21 g/kg by fermentating of DP-WP which has %16 lactose content and enzyme applied. By the statistical evaluation of fatty acid composition the highest γ -linolenic acid value (%5.28) was achieved by the fermenting of DP-WP's having %16 lactose contents. The lactose un-applied groups were execute the highest γ -linolenic acid values (%5.53).

The biomass and microbial oil values were affected by the initial dry matter in which the fermentations performed with *Mortierella ramanniana* that the groups enzyme un-applied and these values get lower by increasing the initial dry matter. At the enzyme applied groups the biomass and microbial oil values were the highest by fermentating of DP-WP which has %8 lactose content but further increase in initial dry matter of DP-WP's cause get lower these values. At the groups applied lactase enzyme these values were higher. The lowest oil content was obtained as 0.92 g/kg by fermentating of DP-WP which has %16 lactose content. The highest oil content was obtained as 10.61 g/kg by fermentating of DP-WP which has %8 lactose content and enzyme applied. By the statistical evaluation of fatty acid composition the highest γ -linolenic acid value (%5.24) was achieved by the fermenting of DP-WP's having %8 lactose contents. The lactase un-applied groups were execute the highest γ -linolenic acid values (%5.17).

The microbial oil values at the fermentations performed with *Mortierella isabellina* were higher than that of performed with *Mortierella ramanniana*. But the γ -linolenic acid values of the obtained microbial oils were resemble to each other. So it was concluded that the fermentations performed with *Mortierella isabellina* were more successful.

KEYWORDS: Single Cell Oil, Microbial Oil, Whey, *Mortierella ramanniana*, *Mortierella isabellina*.

COMMITTE:

Assist. Prof. Dr. Zafer ALPKENT (Supervisor)
Prof. Dr. Aynur Gül KARAHAN
Assoc. Prof. Dr. Murat Soner BALCIOĞLU
Assoc. Prof. Dr. Ayhan TOPUZ
Assoc. Prof. Dr. Ahmet KÜÇÜKÇETİN

ÖNSÖZ

Çoklu doymamış yağ asitleri, özellikle bebeklerin ve çocukların beslenmesinde beyin ve retinal dokuların gelişimindeki fonksiyonları nedeniyle çok büyük öneme sahiptir. Çocukların beslenmesindeki öneminin yanında çoklu doymamış yağ asitlerine yetişkin insanların günlük beslenmelerinde de ihtiyaç duyulmaktadır. Genel olarak çoklu doymamış yağ asitlerinin eksikliğinde ciltte, sinir sisteminde, kardiyovasküler sistemde, böbreklerde, solunum sisteminde ve üreme sisteminde anormallikler ortaya çıkmaktadır. Memeliler vücutlarında çoklu doymamış yağ asitlerini sentezleme yeteneğine sahip olmadıklarından, bu yağ asitlerinin besinlerle dışarıdan alınması gerekmektedir. C18'in üzerindeki çoklu doymamış yağ asitleri yüksek bitkilerde, gerekli enzimlerin noksanlığından dolayı önemli miktarlarda sentezlenememektedir. Sağlık üzerine etkilerinden dolayı çoklu doymamış yağ asitlerine, ω -3 ve ω -6 esansiyel yağ asitlerinin dietsel kaynaklarına olan ilgi gittikçe artmaktadır. ω -6 serisinden olan γ -linolenik asit'in özellikle ekzema tedavisinde ve diğer birçok hastalıkların iyileştirilmesinde kullanımı tavsiye edilmektedir. Günümüzde hem reçetesiz supplement olarak hem de doktor tavsiyesi ile reçeteli olarak kullanılan bu yağ asitlerini içeren preparatların hazırlanması büyük bir endüstri kolu haline gelmiştir. γ -linolenik asit'in bazı cilt hastalıkları ve diabet gibi kimi hastalıkların önlenmesinde önemli rol oynadığı ileri sürülmekte, bundan başka yüksek tansiyon, kardiyovasküler hastalıklar, kanser, enflamatuar hastalıklar, sikleroz, alerji, adet dönemi rahatsızlıklarda, osteoporoz ve şizofreni gibi birçok hastalık üzerinde, bunların yanısıra LDL (düşük yoğunluklu lipoprotein) kolesterol ve serum trigliserid seviyesini düşürmede, HDL (yüksek yoğunluklu lipoprotein) kolesterolü yükseltmede, damarlarda plak oluşumunu önlemede olumlu etkilerinin olduğu birçok araştırmacı tarafından bildirilmektedir. Aynı zamanda γ -linolenik asit, beynin gri dokusunda ve retinanın yapısında yer alan ve buldukları dokularda bu dokulara ait hücrelerin haberleşmesinde, ikinci haberci olarak fonksiyonu olan araşidonik asit'in vücutta sentezinde kullanılmaktadır.

Maya, küf, bakteri ve alg gibi mikroorganizmaların uygun koşullarda yağ üretebilecekleri bildirilmekte ve bu yolla ticari yağ üretim olanakları üzerine yoğun araştırmalar yapılmaktadır. Özellikle çevre kirlenmesi sorunu yaratan birçok tarımsal ve

endüstriyel artıkların substrat olarak kullanıldıkları, bakteri, maya ve küfler ile yapılmakta olan çalışmalar olumlu sonuçlar vermiştir. Funguslardan özellikle bazı yağlı *Zygomycetes* türleri yukarıda bahsedildiği üzere medikal ve diyetetik açıdan ilgi gören γ -linolenik asit, dihomo- γ -linolenik asit, araşidonik asit ya da dokozahekzaenoik asit gibi çoklu doymamış yağ asitlerince zengin lipitlerin üretiminde kullanılmaktadır.

Dünya'da yeterince değerlendirilemeyen birçok tarımsal ürün, gıda işleyen fabrikaların atıkları ve yüksek karbonhidrat ve polisakkaritleri içeren diğer atıklar fermentasyon yoluyla yeni ve değerli ürün üretiminde kullanılmaktadır. Bu amaçla birçok organik asit, vitamin, amino asit, alkol, antibiyotik ve antibodi gibi ekonomik değeri yüksek ürünler fermentasyon yoluyla üretilmektedir. Bu ürünlerin üretiminde yüksek saflıkta kimyasallar kullanıldığı gibi içeriği uygun tarımsal ürünler veya atıklar da kullanılmaktadır. Saf kimyasallarla üretimin çok pahalı olması ve ayrıca tarımsal ürünlerin organik atıklarının değerlendirilmesi gibi ekonomik ve çevreci yaklaşımlar alternatif olarak doğal yetişen ürünleri hammadde olarak kullanmaya olan ilgiyi artırmıştır. Bu alanda şeker pancarı, melas, şeker kamışı ve mısır gibi birçok bitkisel ürün yaygın olarak kullanılmaktadır. Zengin besin içeriğine sahip ve üretim sonunda fazla miktarda arta kalan peyniraltı suyu, yüksek maliyeti sebebiyle büyük bir kısmı değerlendirilmeyip atık olarak çevreye bırakılmaktadır. Bu zengin sütçülük artığı içerdiği mineral maddeler ve laktoz ile protein ve yağ gibi mikroorganizmalar tarafından biyolojik olarak parçalanabilen organik maddelerden dolayı büyük ölçüde kirlenme kaynağıdır. Akarsulara, göllere ve denizlere atıldığında, ortamın oksijenini tükettiği için yaşamı olumsuz etkilemekte ve çevre kirlenmesine yol açmaktadır. İçerdiği bu organik maddeleri parçalayabilmek için mikroorganizmaların sudaki çözülmüş oksijeni kullanmasıyla birlikte suda yaşayan canlılar yaşamları için gerekli oksijeni bulamamakta ve ölmektedir.

Bitkisel ve hayvansal kaynaklı çoklu doymamış yağ asitlerini içeren yağlara alternatif olarak bazı avantajlarından dolayı bu yağ asitlerini fazlaca içeren mikrobiyel yağ üretimine olan ilgi artmaktadır. Bu çalışmada ülkemizde çok fazla değerlendirme alanı olmayan peyniraltı suyunun mikrobiyel yağ üretiminde substrat olarak kullanımı araştırılmıştır. Isıl işlem ve filtrasyonla proteinleri çöktürülerek uzaklaştırılan

deproteinize-peyniraltı suyu permeatının (DP-PSP) farklı kuru madde düzeylerinin ve laktaz enzimi uygulaması ile laktozunun kısmen hidrolizi durumunda elde edilen biyokütle ve mikrobiyel yağ miktarları ile yağ asitleri bileşimine etkisi belirlenmiştir. Farklı kurumadde düzeylerinde (%4.5, %8, %12 ve %16 laktoz içeriğine sahip) ve laktaz enzimi uygulanmış DP-PSP'ler kullanılarak *Mortierella isabellina* ve *Mortierella ramanniana* küfleri ile fermentasyonlar gerçekleştirilmiş, fermentasyon süresince biyokütle ve mikrobiyel yağ miktarları ile elde edilen yağlarda yağ asidi kompozisyonlarındaki değişimler belirlenmiştir. Ayrıca fermentasyonda kullanılmadan kalan şeker düzeyleri de tespit edilmiştir. Fermentasyonlar sonucunda elde edilen mikrobiyel yağ miktarı, fermentasyona ait kinetik parametreler ve γ -linolenik asit oranları dikkate alınarak en uygun DP-PSP bileşimi belirlenmeye çalışılmıştır. Peyniraltı suyunun çoklu doymamış yağ asitlerinden γ -linolenik asit ihtiva eden mikrobiyel yağ üretiminde substrat olarak başarılı bir şekilde kullanılabileceği görülmüş, mikrobiyel yağlarda γ -linolenik asit oranının artırılması konusunda ilave çalışmaların yapılması gerektiği anlaşılmıştır.

Bu çalışmanın gerçekleşmesinde her türlü yardımı ve desteği esirgemeyen sayın hocam Yrd. Doç. Dr. Zafer Alpkent'e öncelikle teşekkür ederim. Ayrıca hiçbir fedakârlığı esirgemeyen, tez çalışmasının yürütülmesinde çok kritik olan her türlü maddi ve manevi desteğinden dolayı bölüm hocalarımızdan sayın Doç. Dr. Ahmet Küçükçetin'e teşekkürü bir borç bilirim. Bunun yanında yine hiçbir fedakarlığı esirgemeyen bölüm hocalarımızdan sayın Yrd. Doç. Dr. İrfan Turhan'a teşekkürlerimi sunarım. HPLC'de şeker analizlerinin gerçekleştirilmesindeki katkıların dolayı Öğr. Gör. Nedim Tetik'e ve bana her zaman inanan sayın Doç. Dr. Ayhan Topuz'a çok teşekkür ederim.

Bunlara ek olarak tez çalışması sırasında her türlü maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen başta annem ve kardeşim Makine Müh. Murat Demir olmak üzere babama ve bütün kardeşlerime teşekkürü borç bilirim.

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	iv
ÖNSÖZ.....	vii
İÇİNDEKİLER.....	x
SİMGE ve KISALTMALAR DİZİNİ.....	xvi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xviii
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	xxi
1. GİRİŞ.....	1
2. KURAMSAL BİLGİLER ve KAYNAK TARAMALAR.....	9
2.1. Mikrobiyel Fermentasyon Teknolojisi.....	9
2.1.1. Mikroorganizmalar için gerekli hammaddeler.....	10
2.1.1.1. Besin olarak alınan bileşikler.....	12
2.1.2. Fermentasyonda kullanılan mikroorganizmaların özellikleri.....	14
2.2. Mikrobiyel Yağ Üretimi.....	14
2.2.1. Mikrobiyel yağ üretiminde kullanılan mikroorganizmalar.....	20
2.2.2. Mikrobiyel yağ üretiminde uygun substrat seçimi.....	24
2.2.3. Mikrobiyel yağ üretiminde hücre metabolizması.....	24
2.2.3.1. Mikroorganizmalarda yağ asitlerinin sentezi.....	26
2.2.3.2. Mikroorganizmalarda lipitlerin sentezi.....	27
2.2.3.3. Yağlı mikroorganizmalarda yağ asitlerinin sentezi.....	28
2.2.3.4. Yağlı mikroorganizmalarda çoklu doymamış yağ asitlerinin sentezi.....	34
2.2.4. Mikrobiyel biyokütle ve/veya yağ üretimini etkileyen faktörler.....	36
2.2.4.1. Fermentasyon pH'sı.....	36
2.2.4.2. Gelişme sıcaklığı.....	37
2.2.4.3. Fermentasyon süresi.....	38
2.2.4.4. Çözünmüş oksijen miktarı.....	38
2.2.4.5. Ozmotik basınç ve su aktivitesi.....	39
2.2.4.6. Karbondioksit.....	41

2.2.4.7. Basınç.....	41
2.2.5. Mikrobiyel yağ üretiminde yağ verimi ve yağ bileşimi.....	41
2.2.6. Mikrobiyel yağ üretiminin avantajları.....	43
2.2.7. Çoklu doymamış yağ asitleri ve mikrobiyel yağ üretimi.....	45
2.2.7.1. Çoklu doymamış yağ asitleri.....	45
2.2.7.2. Çoklu doymamış yağ asitlerinin sağlık üzerine etkileri.....	46
2.2.7.3. Çoklu doymamış yağ asitleri ve mikrobiyel yağ üretimi.....	49
2.2.8. Mikrobiyel yağın bebek mamalarında kullanımı.....	52
2.2.9. Endüstriyel ölçeklerde mikrobiyel yağ üretimi ve ekonomik değeri	58
2.3. Peyniraltı Suyu.....	61
2.3.1. Peyniraltı suyunu değerlendirme yöntemleri.....	63
2.3.2. Peyniraltı suyundan kaynaklanan çevre sorunlar.....	66
2.3.3. Peyniraltı suyundan mikrobiyel yağ üretimi.....	70
2.4. Mikrobiyel Fermentasyon ve Peyniraltı Suyu ile İlgili Yapılan Çalışmalar	71
3. MATERYAL ve METOT.....	102
3.1. Materyal.....	102
3.2. Araştırmada Kullanılan Deneme Deseni.....	102
3.3. Küflerin Geliştirilmeleri ve Muhafazaları.....	105
3.4. Peyniraltı Suyunun Hazırlanması.....	107
3.4.1. DP-PSP'lerin sterilizasyonu.....	108
3.4.2. DP-PSP'lere laktaz enzimi uygulaması.....	108
3.5. Kontrol Besi Ortamının Hazırlanması.....	110
3.6. Ön Kültürün (Preculture) Hazırlanması.....	110
3.6.1. Misel süspansiyonu hazırlanması.....	110
3.6.2. Ön kültür besi ortamının hazırlanması.....	110
3.6.3. Misel süspansiyonunun ön kültür besi ortamına aşılması.....	111
3.7. Hazırlanan Ön Kültürden DP-PSP'lere ve Kontrol Besi Ortamına Aşılama.....	111
3.8. Gelişme Şartları.....	111
3.9. Biyokütlenin Besi Ortamlarından (DP-PSP ve Kontrol Besi Ortamı) Ayrılması.....	113
3.10. Biyokütlenin Kurutulması.....	115

3.11. Biyokütleden Yağ Ekstraksiyonu.....	116
3.12. Yağ Asidi Kompozisyonu Analizi.....	117
3.13. DP-PSP’lerde Yapılan Analizler.....	119
3.13.1. Kurumadde miktarı.....	119
3.13.2. Süt yağ miktarı.....	119
3.13.3. Azotlu madde miktarı.....	119
3.13.4. Laktoz miktarı.....	120
3.13.5. Mineral maddeler.....	120
3.13.6. Kül miktarı.....	120
3.14. Fermentasyon Süresince DP-PSP’lerde ve Kontrol Besi Ortamlarında Yapılan Analizler.....	120
3.15. Üretilen Mikrobiyel Yağlarda Yapılan Analizler.....	121
3.15.1. Öz ağırlık değerlerinin belirlenmesi.....	121
3.15.2. Kırılma indisi.....	121
3.15.3. Sabunlaşma sayısı.....	122
3.15.4. Serbest yağ asitleri miktarı.....	123
3.15.5. Peroksit sayısı.....	123
3.15.6. İyot sayısı.....	124
3.16. Kinetik Parametrelerin Belirlenmesi.....	124
3.17. İstatistiksel Analizler.....	127
4. BULGULAR ve TARTIŞMA.....	128
4.1. DP-PSP’lerin Kompozisyonu.....	128
4.2. <i>Mortierella isabellina</i> Küf Kültürü Kullanılarak Gerçekleştirilen Fermentasyonlarda Biyokütle ve Yağ Üretimi.....	128
4.2.1. Laktoz içeriği %4.5 olan DP-PSP’nin fermentasyonu süresince üretilen biyokütle ve yağ miktarları ile DP-PSP’de kalan laktoz miktarı.....	129
4.2.2. Laktoz içeriği %4.5 olan laktaz enzimi uygulanmış DP-PSP’nin fermentasyonu süresince üretilen biyokütle ve yağ miktarları ile DP-PSP’de kalan laktoz, glikoz ve galaktoz miktarları.....	131

4.2.3. Laktoz içeriği %8 olan DP-PSP'nin fermentasyonu süresince üretilen biyokütle ve yağ miktarları ile DP-PSP'de kalan laktoz miktarı.....	135
4.2.4. Laktoz içeriği %8 olan laktaz enzimi uygulanmış DP-PSP'nin fermentasyonu süresince üretilen biyokütle ve yağ miktarları ile DP- PSP'de kalan laktoz, glikoz ve galaktoz miktarları.....	137
4.2.5. Laktoz içeriği %12 olan DP-PSP'nin fermentasyonu süresince üretilen biyokütle ve yağ miktarları ile DP-PSP'de kalan laktoz miktarı.....	141
4.2.6. Laktoz içeriği %12 olan laktaz enzimi uygulanmış DP-PSP'nin fermentasyonu süresince üretilen biyokütle ve yağ miktarları ile DP-PSP'de kalan laktoz, glikoz ve galaktoz miktarları.....	144
4.2.7. Laktoz içeriği %16 olan DP-PSP'nin fermentasyonu süresince üretilen biyokütle ve yağ miktarları ile DP-PSP'de kalan laktoz miktarı.....	148
4.2.8. Laktoz içeriği %16 olan laktaz enzimi uygulanmış DP-PSP'nin fermentasyonu süresince üretilen biyokütle ve yağ miktarları ile DP-PSP'de kalan laktoz, glikoz ve galaktoz miktarları.....	151
4.2.9. Kontrol besi ortamının fermentasyonu süresince üretilen biyokütle ve yağ miktarları ile besi ortamında kalan glikoz miktarı.....	155
4.3. <i>Mortierella ramanniana</i> Küf Kültürü Kullanılarak Gerçekleştirilen Fermentasyonlarda Biyokütle ve Yağ Üretimi.....	158
4.3.1. Laktoz içeriği %4.5 olan DP-PSP'nin fermentasyonu süresince üretilen biyokütle ve yağ miktarları ile DP-PSP'de kalan laktoz miktarı.....	158
4.3.2. Laktoz içeriği %4.5 olan laktaz enzimi uygulanmış DP-PSP'nin fermentasyonu süresince üretilen biyokütle ve yağ miktarları ile DP-PSP'de kalan laktoz, glikoz ve galaktoz miktarları.....	161
4.3.3. Laktoz içeriği %8 olan DP-PSP'nin fermentasyonu süresince üretilen biyokütle ve yağ miktarları ile DP-PSP'de kalan laktoz miktarı.....	164

4.3.4. Laktoz içeriği %8 olan laktaz enzimi uygulanmış DP-PSP'nin fermentasyonu süresince üretilen biyokütle ve yağ miktarları ile DP-PSP'de kalan laktoz, glikoz ve galaktoz miktarları.....	167
4.3.5. Laktoz içeriği %12 olan DP-PSP'nin fermentasyonu süresince üretilen biyokütle ve yağ miktarları ile DP-PSP'de kalan laktoz miktarı.....	170
4.3.6. Laktoz içeriği %12 olan laktaz enzimi uygulanmış DP-PSP'nin fermentasyonu süresince üretilen biyokütle ve yağ miktarları ile DP-PSP'de kalan laktoz, glikoz ve galaktoz miktarları.....	173
4.3.7. Laktoz içeriği %16 olan DP-PSP'nin fermentasyonu süresince üretilen biyokütle ve yağ miktarları ile DP-PSP'de kalan laktoz miktarı.....	177
4.3.8. Laktoz içeriği %16 olan laktaz enzimi uygulanmış DP-PSP'nin fermentasyonu süresince üretilen biyokütle ve yağ miktarları ile DP-PSP'de kalan laktoz, glikoz ve galaktoz miktarları.....	179
4.3.9. Kontrol besi ortamının fermentasyonu süresince üretilen biyokütle ve yağ miktarları ile besi ortamında kalan glikoz miktarı.....	183
4.4. Mikrobiyel Yağ Üretiminde Gerçekleştirilen Fermentasyonlara Ait Kinetik Parametrelerin Karşılaştırılması.....	186
4.4.1. <i>Mortierella isabellina</i> ile gerçekteştirilen fermentasyonlara ait kinetik parametreler.....	186
4.4.2. <i>Mortierella ramanniana</i> ile gerçekteştirilen fermentasyonlara ait kinetik parametreler.....	195
4.4.3. <i>Mortierella isabellina</i> ve <i>Mortierella ramanniana</i> ile gerçekteştirilen fermentasyonlara ait değerlerin karşılaştırılması...	203
4.5. Üretilen Mikrobiyel Yağların Yağ Asidi Kompozisyonları.....	212
4.5.1. <i>Mortierella isabellina</i> ile gerçekteştirilen fermentasyonlarda elde edilen mikrobiyel yağların yağ asidi kompozisyonları.....	212
4.5.2. <i>Mortierella ramanniana</i> ile gerçekteştirilen fermentasyonlarda elde edilen mikrobiyel yağların yağ asidi kompozisyonları.....	240
4.6. Üretilen Mikrobiyel Yağların Bazı Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri.....	267

4.6.1. <i>Mortierella isabellina</i> ile gerçekleştirilen fermentasyonlar sonucunda elde edilen mikrobiyel yağların bazı fiziksel ve kimyasal özellikleri.....	267
4.6.2. <i>Mortierella ramanniana</i> ile gerçekleştirilen fermentasyonlar sonucunda elde edilen mikrobiyel yağların bazı fiziksel ve kimyasal özellikleri.....	273
4.6.3. <i>Mortierella isabellina</i> ve <i>Mortierella ramanniana</i> ile gerçekleştirilen fermentasyonlar sonucunda elde edilen mikrobiyel yağların bazı fiziksel ve kimyasal özelliklerinin kıyaslanması.....	278
5. SONUÇ.....	279
6. KAYNAKLAR.....	284
ZGEMİş	

SİMGELER ve KISALTMALAR

Simgeler

m	: Kütle (kg)
μ	: Mikroorganizma için spesifik gelişme hızı
x	: Biyokütle miktarı
dx/dt	: Birim zamanda biyokütle oluşumu
x_0	: Fermentasyon başlangıcındaki biyokütle miktarı
x_{max}	: Maksimum biyokütle miktarı
a_w	: Su aktivitesi
pH	: Hidrojen iyonlarının eksi (-) logaritması
T	: Sıcaklık
μm	: mikrometre
μl	: mikrolitre
ml	: mililitre
kkal	: kilokalori
g	: gram
cm	: santimetre
mm	: milimetre
mg	: miligram
s	: saniye
dk	: dakika
$^{\circ}Bx$: Briks (% Suda çözünür kuru madde)

Kısaltmalar

DP-PSP	: Deproteinize Peryniraltı Suyu Permeatı
ABD	: Amerika Birleşik Devletleri
ÇKM	: Çözünür Kuru Madde
GRAS	: Genel olarak güvenli kabul edilen
HPLC	: Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi
T	: Sıcaklık
S	: Süre
SAS	: Statistical Analysis Software
d/d	: devir/dakika
ATCC	: American Type Culture Collection
S	: Substrat
S ₁	: Fermentasyon sonundaki substrat miktarı
S ₀	: Fermentasyon başlangıcındaki substrat miktarı
P	: Ürün
P ₁	: Fermentasyon sonundaki ürün miktarı
P ₀	: Fermentasyon başlangıcındaki ürün miktarı
Y _{P/S}	: Birim substrat için üretilen ürün miktarı verimi
Y _{X/S}	: Birim substrat için gelişen mikroorganizma miktarı verimi
t _d	: Mikroorganizma miktarının iki katına çıkma süresi

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1.	Mikroorganizmalarda “transhidrogenaz” ve “sitrat/malat” çevrimleri.....	33
Şekil 2.2.	Mikroorganizmalarda konvansiyonel yağ asidi sintitaz (fatty acid synthase-FAS) yolu kullanılarak çoklu doymamış yağ asitlerinin (PUFA) oluşum mekanizması.....	35
Şekil 2.3.	Çeşitli mikroorganizmaların geliştiği sıcaklık aralıkları.....	37
Şekil 2.4.	Triaçilgliserol.....	46
Şekil 2.5.	Peyniraltı suyundan mikrobiyel yağ üretim basamakları.....	71
Şekil 3.1.	Fermentasyonlarda kullanılan dalgakıranlı erlenler ve silikon sünger kapaklar.....	104
Şekil 3.2.	Petrilerde ve yatık agarlarda geliştirilmiş mikroorganizma kültürleri miktarları ile laktoz oranlarındaki değişim.....	105
Şekil 3.3.	Yatık agarlardaki stok kültürler oranlarındaki değişim.....	106
Şekil 3.4.	Çalkalamalı inkübatörlerde küflerin geliştirilmesi.....	112
Şekil 3.5.	Erlenlerde geliştirilen biyokütelerde topak (pellet) oluşumu.....	112
Şekil 3.6.	Biyokütlenin santrifüj tüplerine alınarak santrifüj edilmesi.....	113
Şekil 3.7.	Kalan besi ortamının süzülerek saklama tüplerine alınması.....	114
Şekil 3.8.	Süzülen biyokütlenin distile su ile yıkanması.....	115
Şekil 3.9.	Kurutularak tüplere alınmış kuru biyoküteller.....	116
Şekil 3.10.	Ekstrakte edilen mikrobiyel yağlar.....	117
Şekil 3.11.	Vortekslenen tüplerde yağ asidi metil esterlerini içeren hekzan fazının (üst faz) ayrılması.....	119
Şekil 4.1.	Laktoz içeriği %4.5 olan DP-PSP’de <i>Mortierella isabellina</i> ile gerçekleştirilen fermentasyon süresince üretilen biyokütle ve yağ miktarları ile DP-PSP’de kalan laktoz miktarındaki değişim.....	131
Şekil 4.2.	Laktoz içeriği %4.5 olan laktaz enzimi uygulanmış DP-PSP’de <i>Mortierella isabellina</i> ile gerçekleştirilen fermentasyon süresince üretilen biyokütle ve yağ miktarları ile DP-PSP’de kalan laktoz, glikoz ve galaktoz miktarlarındaki değişim.....	134

Şekil 4.3.	Laktoz içeriği %8 olan DP-PSP’de <i>Mortierella isabellina</i> ile gerçekleştirilen fermentasyon süresince üretilen biyokütle ve yağ miktarları ile DP-PSP’de kalan laktoz miktarındaki değişim.....	137
Şekil 4.4.	Laktoz içeriği %8 olan laktaz enzimi uygulanmış DP-PSP’de <i>Mortierella isabellina</i> ile gerçekleştirilen fermentasyon süresince üretilen biyokütle ve yağ miktarları ile DP-PSP’de kalan laktoz, glikoz ve galaktoz miktarlarındaki değişim.....	140
Şekil 4.5.	Laktoz içeriği %12 olan DP-PSP’de <i>Mortierella isabellina</i> ile gerçekleştirilen fermentasyon süresince üretilen biyokütle ve yağ miktarları ile DP-PSP’de kalan laktoz miktarındaki değişim.....	143
Şekil 4.6.	Laktoz içeriği %12 olan laktaz enzimi uygulanmış DP-PSP’de <i>Mortierella isabellina</i> ile gerçekleştirilen fermentasyon süresince üretilen biyokütle ve yağ miktarları ile DP-PSP’de kalan laktoz, glikoz ve galaktoz miktarlarındaki değişim.....	147
Şekil 4.7.	Laktoz içeriği %16 olan DP-PSP’de <i>Mortierella isabellina</i> ile gerçekleştirilen fermentasyon süresince üretilen biyokütle ve yağ miktarları ile DP-PSP’de kalan laktoz miktarındaki değişim.....	150
Şekil 4.8.	Laktoz içeriği %16 olan laktaz enzimi uygulanmış DP-PSP’de <i>Mortierella isabellina</i> ile gerçekleştirilen fermentasyon süresince üretilen biyokütle ve yağ miktarları ile DP-PSP’de kalan laktoz, glikoz ve galaktoz miktarlarındaki değişim.....	154
Şekil 4.9.	Kontrol besi ortamında <i>Mortierella isabellina</i> ile gerçekleştirilen fermentasyon süresince üretilen biyokütle ve yağ miktarları ile DP-PSP’de kalan glikoz miktarındaki değişim.....	157
Şekil 4.10.	Laktoz içeriği %4.5 olan DP-PSP’de <i>Mortierella ramanniana</i> ile gerçekleştirilen fermentasyon süresince üretilen biyokütle ve yağ miktarları ile DP-PSP’de kalan laktoz miktarındaki değişim.....	160
Şekil 4.11.	Laktoz içeriği %4.5 olan laktaz enzimi uygulanmış DP-PSP’de <i>Mortierella ramanniana</i> ile gerçekleştirilen fermentasyon süresince üretilen biyokütle ve yağ miktarları ile DP-PSP’de kalan laktoz, glikoz ve galaktoz miktarlarındaki değişim.....	163

Şekil 4.12.	Laktoz içeriği %8 olan DP-PSP’de <i>Mortierella ramanniana</i> ile gerçekleştirilen fermentasyon süresince üretilen biyokütle ve yağ miktarları ile DP-PSP’de kalan laktoz miktarındaki değişim.....	166
Şekil 4.13.	Laktoz içeriği %8 olan laktaz enzimi uygulanmış DP-PSP’de <i>Mortierella ramanniana</i> ile gerçekleştirilen fermentasyon süresince üretilen biyokütle ve yağ miktarları ile DP-PSP’de kalan laktoz, glikoz ve galaktoz miktarlarındaki değişim.....	169
Şekil 4.14.	Laktoz içeriği %12 olan DP-PSP’de <i>Mortierella ramanniana</i> ile gerçekleştirilen fermentasyon süresince üretilen biyokütle ve yağ miktarları ile DP-PSP’de kalan laktoz miktarındaki değişim.....	172
Şekil 4.15.	Laktoz içeriği %12 olan laktaz enzimi uygulanmış DP-PSP’de <i>Mortierella ramanniana</i> ile gerçekleştirilen fermentasyon süresince üretilen biyokütle ve yağ miktarları ile DP-PSP’de kalan laktoz, glikoz ve galaktoz miktarlarındaki değişim.....	175
Şekil 4.16.	Laktoz içeriği %16 olan DP-PSP’de <i>Mortierella ramanniana</i> ile gerçekleştirilen fermentasyon süresince üretilen biyokütle ve yağ miktarları ile DP-PSP’de kalan laktoz miktarındaki değişim.....	179
Şekil 4.17.	Laktoz içeriği %16 olan laktaz enzimi uygulanmış DP-PSP’de <i>Mortierella ramanniana</i> ile gerçekleştirilen fermentasyon süresince üretilen biyokütle ve yağ miktarları ile DP-PSP’de kalan laktoz, glikoz ve galaktoz miktarlarındaki değişim.....	182
Şekil 4.18.	Kontrol besi ortamında <i>Mortierella ramanniana</i> ile gerçekleştirilen fermentasyon süresince üretilen biyokütle ve yağ miktarları ile DP-PSP’de kalan glikoz miktarındaki değişim.....	185

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1.	Endüstriyel olarak üretilen fermentasyon ürünleri.....	10
Çizelge 2.2.	Fermentasyonlarda kullanılan yan ürünler.....	11
Çizelge 2.3.	Bazı mikro elementlerin biyolojik işlevleri.....	13
Çizelge 2.4.	Prokaryot ve ökaryotlar arasındaki farklar.....	21
Çizelge 2.5.	Maya ve asit peyniraltı suyunun bileşimi.....	62
Çizelge 3.1.	Çalışmada uygulanan deneme planı.....	103
Çizelge 4.1.	Çalışmada kullanılan DP-PSP'lerin kompozisyonu.....	128
Çizelge 4.2.	Laktoz içeriği %4.5 olan DP-PSP'de <i>Mortierella isabellina</i> ile gerçekleştirilen fermentasyonda üretilen ortalama biyokütle ve yağ miktarları ile DP-PSP'de kalan laktoz değerleri ($X\pm SD$) ve bu değerlere ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları.....	130
Çizelge 4.3.	Laktoz içeriği %4.5 olan laktaz enzimi uygulanmış DP-PSP'de <i>Mortierella isabellina</i> ile gerçekleştirilen fermentasyonda üretilen ortalama biyokütle ve yağ miktarları ile DP-PSP'de kalan laktoz, glikoz ve galaktoz değerleri ($X\pm SD$) ve bu değerlere ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları.....	133
Çizelge 4.4.	Laktoz içeriği %8 olan DP-PSP'de <i>Mortierella isabellina</i> ile gerçekleştirilen fermentasyonda üretilen ortalama biyokütle ve yağ miktarları ile DP-PSP'de kalan laktoz değerleri ($X\pm SD$) ve bu değerlere ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları.....	136
Çizelge 4.5.	Laktoz içeriği %8 olan laktaz enzimi uygulanmış DP-PSP'de <i>Mortierella isabellina</i> ile gerçekleştirilen fermentasyonda üretilen ortalama biyokütle ve yağ miktarları ile DP-PSP'de kalan laktoz, glikoz ve galaktoz değerleri ($X\pm SD$) ve bu değerlere ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları.....	139

Çizelge 4.6.	Laktoz içeriği %12 olan DP-PSP’de <i>Mortierella isabellina</i> ile gerçekleştirilen fermentasyonda üretilen ortalama biyokütle ve yağ miktarları ile DP-PSP’de kalan laktoz değerleri ($X\pm SD$) ve bu değerlere ait Duncan oklu karşılaştırma testi sonuçları.....	142
Çizelge 4.7.	Laktoz içeriği %12 olan laktaz enzimi uygulanmış DP-PSP’de <i>Mortierella isabellina</i> ile gerçekleştirilen fermentasyonda üretilen ortalama biyokütle ve yağ miktarları ile DP-PSP’de kalan laktoz, glikoz ve galaktoz değerleri ($X\pm SD$) ve bu değerlere ait Duncan oklu karşılaştırma testi sonuçları.....	146
Çizelge 4.8.	Laktoz içeriği %16 olan DP-PSP’de <i>Mortierella isabellina</i> ile gerçekleştirilen fermentasyonda üretilen ortalama biyokütle ve yağ miktarları ile DP-PSP’de kalan laktoz değerleri ($X\pm SD$) ve bu değerlere ait Duncan oklu karşılaştırma testi sonuçları.....	149
Çizelge 4.9.	Laktoz içeriği %16 olan laktaz enzimi uygulanmış DP-PSP’de <i>Mortierella isabellina</i> ile gerçekleştirilen fermentasyonda üretilen ortalama biyokütle ve yağ miktarları ile DP-PSP’de kalan laktoz, glikoz ve galaktoz değerleri ($X\pm SD$) ve bu değerlere ait Duncan oklu karşılaştırma testi sonuçları.....	153
Çizelge 4.10.	Kontrol besi ortamında <i>Mortierella isabellina</i> ile gerçekleştirilen fermentasyonda ortalama biyokütle ve yağ üretimi ile glikoz tkretim değerleri ($X\pm SD$) ve bu değerlere ait Duncan oklu karşılaştırma testi sonuçları.....	156
Çizelge 4.11.	Laktoz içeriği %4.5 olan DP-PSP’de <i>Mortierella ramanniana</i> ile gerçekleştirilen fermentasyonda üretilen ortalama biyokütle ve yağ miktarları ile DP-PSP’de kalan laktoz değerleri ($X\pm SD$) ve bu değerlere ait Duncan oklu karşılaştırma testi sonuçları.....	159
Çizelge 4.12.	Laktoz içeriği %4.5 olan laktaz enzimi uygulanmış DP-PSP’de <i>Mortierella ramanniana</i> ile gerçekleştirilen fermentasyonda üretilen ortalama biyokütle ve yağ miktarları ile DP-PSP’de kalan laktoz, glikoz ve galaktoz değerleri ($X\pm SD$) ve bu değerlere ait Duncan oklu karşılaştırma testi sonuçları.....	162

Çizelge 4.13.	Laktoz içeriği %8 olan DP-PSP'de <i>Mortierella ramanniana</i> ile gerçekleştirilen Fermentasyonda üretilen ortalama biyokütle ve yağ miktarları ile DP-PSP'de kalan laktoz değerleri ($X\pm SD$) ve bu değerlere ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları.....	165
Çizelge 4.14.	Laktoz içeriği %8 olan laktaz enzimi uygulanmış DP-PSP'de <i>Mortierella ramanniana</i> ile gerçekleştirilen fermentasyonda üretilen ortalama biyokütle ve yağ miktarları ile DP-PSP'de kalan laktoz, glikoz ve galaktoz değerleri ($X\pm SD$) ve bu değerlere ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları.....	168
Çizelge 4.15.	Laktoz içeriği %12 olan DP-PSP'de <i>Mortierella ramanniana</i> ile gerçekleştirilen fermentasyonda üretilen ortalama biyokütle ve yağ miktarları ile DP-PSP'de kalan laktoz değerleri ($X\pm SD$) ve bu değerlere ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları.....	171
Çizelge 4.16.	Laktoz içeriği %12 olan laktaz enzimi uygulanmış DP-PSP'de <i>Mortierella ramanniana</i> ile gerçekleştirilen fermentasyonda üretilen ortalama biyokütle ve yağ miktarları ile DP-PSP'de kalan laktoz, glikoz ve galaktoz değerleri ($X\pm SD$) ve bu değerlere ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları.....	174
Çizelge 4.17.	Laktoz içeriği %16 olan DP-PSP'de <i>Mortierella ramanniana</i> ile gerçekleştirilen fermentasyonda üretilen ortalama biyokütle ve yağ miktarları ile DP-PSP'de kalan laktoz değerleri ($X\pm SD$) ve bu değerlere ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları.....	178
Çizelge 4.18.	Laktoz içeriği %16 olan laktaz enzimi uygulanmış DP-PSP'de <i>Mortierella ramanniana</i> ile gerçekleştirilen fermentasyonda üretilen ortalama biyokütle ve yağ miktarları ile DP-PSP'de kalan laktoz, glikoz ve galaktoz değerleri ($X\pm SD$) ve bu değerlere ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları.....	181

Çizelge 4.19.	Kontrol besi ortamında <i>Mortierella ramanniana</i> ile gerçekleştirilen fermentasyonda ortalama biyokütle ve yağ üretimi ile glikoz tüketim değerleri ($X \pm SD$) ve bu değerlere ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları.....	184
Çizelge 4.20.	Farklı bileşimlere sahip DP-PSP'lerde ve kontrol besi ortamında <i>Mortierella isabellina</i> ile gerçekleştirilen fermentasyonlara ait kinetik parametreler.....	187
Çizelge 4.21.	Farklı bileşimlere sahip DP-PSP'lerde ve kontrol besi ortamında <i>Mortierella ramanniana</i> ile gerçekleştirilen fermentasyonlara ait kinetik parametreler.....	196
Çizelge 4.22.	Laktoz içeriği %4.5 olan DP-PSP'de <i>Mortierella isabellina</i> ile gerçekleştirilen fermentasyonda elde edilen mikrobiyel yağın, yağ asidi bileşenlerinin GC kromatogramı üzerindeki ortalama % alan değerleri ($X \pm SD$).....	213
Çizelge 4.23.	Laktoz içeriği %4.5 olan laktaz enzimi uygulanmış DP-PSP'de <i>Mortierella isabellina</i> ile gerçekleştirilen fermentasyonda elde edilen mikrobiyel yağın, yağ asidi bileşenlerinin GC kromatogramı üzerindeki ortalama % alan değerleri ($X \pm SD$).....	215
Çizelge 4.24.	Laktoz içeriği %8 olan DP-PSP'de <i>Mortierella isabellina</i> ile gerçekleştirilen fermentasyonda elde edilen mikrobiyel yağın, yağ asidi bileşenlerinin GC kromatogramı üzerindeki ortalama % alan değerleri ($X \pm SD$).....	217
Çizelge 4.25.	Laktoz içeriği %8 olan laktaz enzimi uygulanmış DP-PSP'de <i>Mortierella isabellina</i> ile gerçekleştirilen fermentasyonda elde edilen mikrobiyel yağın, yağ asidi bileşenlerinin GC kromatogramı üzerindeki ortalama % alan değerleri ($X \pm SD$).....	219
Çizelge 4.26.	Laktoz içeriği %12 olan DP-PSP'de <i>Mortierella isabellina</i> ile gerçekleştirilen Fermentasyonda elde edilen mikrobiyel yağın, yağ asidi bileşenlerinin GC kromatogramı üzerindeki ortalama % alan değerleri ($X \pm SD$)...	221

Çizelge 4.27.	Laktoz içeriği %12 olan laktaz enzimi uygulanmış DP-PSP'de <i>Mortierella isabellina</i> ile gerçekleştirilen fermentasyonda elde edilen mikrobiyel yağın, yağ asidi bileşenlerinin GC kromatogramı üzerindeki ortalama % alan değerleri ($X \pm SD$).....	223
Çizelge 4.28.	Laktoz içeriği %16 olan DP-PSP'de <i>Mortierella isabellina</i> ile gerçekleştirilen fermentasyonda elde edilen mikrobiyel yağın, yağ asidi bileşenlerinin GC kromatogramı üzerindeki ortalama % alan değerleri ($X \pm SD$).....	225
Çizelge 4.29.	Laktoz içeriği %16 olan laktaz enzimi uygulanmış DP-PSP'de <i>Mortierella isabellina</i> ile gerçekleştirilen fermentasyonda elde edilen mikrobiyel yağın, yağ asidi bileşenlerinin GC kromatogramı üzerindeki ortalama % alan değerleri ($X \pm SD$).....	228
Çizelge 4.30.	Kontrol besi ortamında <i>Mortierella isabellina</i> ile gerçekleştirilen fermentasyonda elde edilen mikrobiyel yağın, yağ asidi bileşenlerinin GC kromatogramı üzerindeki ortalama % alan değerleri ($X \pm SD$).....	230
Çizelge 4.31.	Farklı bileşimlere sahip DP-PSP'lerde <i>Mortierella isabellina</i> ile gerçekleştirilen fermentasyonlar sonucunda elde edilen mikrobiyel yağların yağ asidi kompozisyonlarının GC kromatogramı üzerindeki % alan değerlerine ait varyans analizi sonuçları.....	232
Çizelge 4.32.	Farklı bileşimlere sahip DP-PSP'lerde <i>Mortierella isabellina</i> ile gerçekleştirilen fermentasyonlar sonucunda elde edilen mikrobiyel yağların yağ asidi kompozisyonlarının GC kromatogramı üzerindeki % alan değerleri ortalamalarına ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları ($X \pm SD$).....	237
Çizelge 4.33.	Laktoz içeriği %4.5 olan DP-PSP'de <i>Mortierella ramanniana</i> ile gerçekleştirilen fermentasyonda elde edilen mikrobiyel yağın, yağ asidi bileşenlerinin GC kromatogramı üzerindeki ortalama % alan değerleri ($X \pm SD$).....	242

Çizelge 4.34.	Laktoz içeriği %4.5 olan laktaz enzimi uygulanmış DP-PSP'de <i>Mortierella ramanniana</i> ile gerçekleştirilen fermentasyonda elde edilen mikrobiyel yağın, yağ asidi bileşenlerinin GC kromatogramı üzerindeki ortalama % alan değerleri (X±SD).....	244
Çizelge 4.35.	Laktoz içeriği %8 olan DP-PSP'de <i>Mortierella ramanniana</i> ile gerçekleştirilen fermentasyonda elde edilen mikrobiyel yağın, yağ asidi bileşenlerinin GC kromatogramı üzerindeki ortalama % alan değerleri (X±SD).....	246
Çizelge 4.36.	Laktoz içeriği %8 olan laktaz enzimi uygulanmış DP-PSP'de <i>Mortierella ramanniana</i> ile gerçekleştirilen fermentasyonda elde edilen mikrobiyel yağın, yağ asidi bileşenlerinin GC kromatogramı üzerindeki ortalama % alan değerleri (X±SD).....	248
Çizelge 4.37.	Laktoz içeriği %12 olan DP-PSP'de <i>Mortierella ramanniana</i> ile gerçekleştirilen fermentasyonda elde edilen mikrobiyel yağın, yağ asidi bileşenlerinin GC kromatogramı üzerindeki ortalama % alan değerleri (X±SD).....	250
Çizelge 4.38.	Laktoz içeriği %12 olan laktaz enzimi uygulanmış DP-PSP'de <i>Mortierella ramanniana</i> ile gerçekleştirilen fermentasyonda elde edilen mikrobiyel yağın, yağ asidi bileşenlerinin GC kromatogramı üzerindeki ortalama % alan değerleri (X±SD).....	252
Çizelge 4.39.	Laktoz içeriği %16 olan DP-PSP'de <i>Mortierella ramanniana</i> ile gerçekleştirilen fermentasyonda elde edilen mikrobiyel yağın, yağ asidi bileşenlerinin GC kromatogramı üzerindeki ortalama % alan değerleri (X±SD).....	254
Çizelge 4.40.	Laktoz içeriği %16 olan laktaz enzimi uygulanmış DP-PSP'de <i>Mortierella ramanniana</i> ile gerçekleştirilen fermentasyonda elde edilen mikrobiyel yağın, yağ asidi bileşenlerinin GC kromatogramı üzerindeki ortalama % alan değerleri (X±SD).....	256
Çizelge 4.41.	Kontrol besi ortamında <i>Mortierella ramanniana</i> ile gerçekleştirilen fermentasyonda elde edilen mikrobiyel yağın, yağ asidi bileşenlerinin GC kromatogramı üzerindeki ortalama % alan değerleri (X±SD).....	258

Çizelge 4.42.	Farklı bileşimlere sahip DP-PSP'lerde <i>Mortierella ramanniana</i> ile gerçekleştirilen fermentasyonlar sonucunda elde edilen mikrobiyel yağların yağ asidi kompozisyonlarının GC kromatogramı üzerindeki % alan değerlerine ait varyans analizi sonuçları.....	260
Çizelge 4.43.	Farklı bileşimlere sahip DP-PSP'lerde <i>Mortierella ramanniana</i> ile gerçekleştirilen fermentasyonlar sonucunda elde edilen mikrobiyel yağların yağ asidi kompozisyonlarının GC kromatogramı üzerindeki % alan değerleri ortalamalarına ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları (X±SD).....	264
Çizelge 4.44.	Farklı bileşimlere sahip DP-PSP'lerde ve kontrol besi ortamında <i>Mortierella isabellina</i> ile gerçekleştirilen fermentasyonlarda üretilen mikrobiyel yağların bazı fiziksel ve kimyasal özelliklerine ait ortalama değerler (X±SD).....	270
Çizelge 4.45.	Farklı bileşimlere sahip DP-PSP'lerde <i>Mortierella isabellina</i> ile gerçekleştirilen fermentasyonlar sonucunda elde edilen mikrobiyel yağların bazı fiziksel ve kimyasal değerlerine ait varyans analizi sonuçları.....	272
Çizelge 4.46.	Farklı bileşimlere sahip DP-PSP'lerde <i>Mortierella isabellina</i> ile gerçekleştirilen fermentasyonlar sonucunda elde edilen mikrobiyel yağların bazı fiziksel ve kimyasal özelliklerine ait değerlerin ortalamalarına ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları (X±SD).....	272
Çizelge 4.47.	Farklı bileşimlere sahip DP-PSP'lerde ve kontrol besi ortamında <i>Mortierella ramanniana</i> ile gerçekleştirilen fermentasyonlarda üretilen mikrobiyel yağların bazı fiziksel ve kimyasal özelliklerine ait ortalama değerler (X±SD).....	275
Çizelge 4.48.	Farklı bileşimlere sahip DP-PSP'lerde <i>Mortierella ramanniana</i> ile gerçekleştirilen fermentasyonlar sonucunda elde edilen mikrobiyel yağların bazı fiziksel ve kimyasal değerlerine ait varyans analizi sonuçları.....	277

Çizelge 4.49. Farklı bileşimlere sahip DP-PSP'lerde <i>Mortierella ramanniana</i> ile gerçekleştirilen fermentasyonlar sonucunda elde edilen mikrobiyel yağların bazı fiziksel ve kimyasal özelliklerine ait değerlerin ortalamalarına ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları ($X \pm SD$).....	277
---	-----

1. GİRİŞ

Dünyadaki yetersiz gıda sorununa yanıt arama çalışmalarında, insan ve hayvan beslenmesinin temel öğelerini teşkil eden protein, lipid, karbonhidrat ve vitaminleri basit organik maddelerden hızlı bir şekilde sentezleyebilen mikroorganizmalar giderek önem kazanmaktadır (Karapınar 1984, Ratledge 1993, 2004). Birçok ülkede yeterince değerlendirilemeyen çoğu tarımsal ürün, gıda işleyen fabrikaların artıkları ve yüksek oranda karbonhidrat ve polisakkarit içeren çeşitli artıklar fermentasyon yoluyla yeni ve değerli ürün üretiminde kullanılmaktadır (Karapınar 1984).

Endüstriyel üretim çerçevesinde birçok maddeden biyodönüşümle yeni bileşiklerin oluşturulmasında mikroorganizmaların biyokimyasal reaksiyonlarından faydalanma anlamına da gelen fermentasyon teknolojisi çeşitli alanlarda yaygın olarak uygulanmaktadır (King ve Cheetham 1987). Örneğin birçok organik asit, vitamin, aminoasit, alkol, antibiyotik ve antibodi gibi ekonomik değeri yüksek olan ürünler fermentasyon yoluyla üretilmektedir. Bu ürünlerin üretiminde substrat olarak saf kimyasallar kullanıldığı gibi içeriği uygun olan tarımsal ürünler veya artıklar da aynı amaçla değerlendirilmektedir. Saf kimyasallarla üretimin çok pahalı olması ve ayrıca tarımsal ürünlerin organik artıklarının değerlendirilmesi gibi ekonomik ve çevreci yaklaşımlar, doğal şartlarda yetişen ürünleri de alternatif hammadde olarak kullanmaya olan ilgiyi arttırmıştır. Bu amaçla şeker pancarı, melas, şeker kamışı ve mısır gibi birçok bitkisel ürün yaygın olarak kullanılmaktadır (Karapınar 1984, Tunail 2009). Mikroorganizmaları kullanarak metabolit üretimi veya hücre gelişimi için kullanılacak fermentasyon ortamı, geliştirilecek olan mikroorganizma için uygun formda ve miktardaki tüm bileşikleri içermelidir. Bu maksatla laboratuarda mikroorganizmalar kullanılarak yapılan kimi üretimlerde genellikle saf kimyasallarla hazırlanan besi ortamlarının kullanımı zorunludur. Fakat endüstriyel fermentasyonlarda ise ekonomik nedenlerden dolayı farklı kompozisyonlardaki artık maddelerin kullanımı tercih edilmektedir (Brock 1984, Madigan ve Martinko 2006).

Tarımsal artık maddelerle ilgili yapılan çalışmalar daha çok soya fasulyesi, narenciye, patates ve bira sanayi artıkları ile zeytin kara suyu (zeytinlerden yağ alındıktan sonra geride kalan sıvı) ve peyniraltı suyu üzerinde yoğunlaşmıştır. Özellikle

Fransa, Almanya ve Amerika Birleşik Devletleri (ABD) gibi ülkelerde peyniraltı suyundan biyokütle üretimi yaygın ölçüde yapılmaktadır (Üçüncü 2004b).

Gıda endüstrisi açısından mikrobiyel biyokütle üretiminin iki temel amacı vardır. Birincisi hızla artan gıda talebini karşılamak, ikincisi tarımsal ve endüstriyel artıkları substrat olarak kullanmak suretiyle çevre kirlenmesi sorununa çözüm getirirken sonuçta ekonomik değeri olan bir ürün elde etmektir (Karapınar 1984). Bu bağlamda özellikle çevre kirliliğine neden olan birçok tarımsal ve endüstriyel artığın substrat olarak kullanıldığı, bakteri, maya ve küfler ile yapılmakta olan çalışmalar olumlu sonuçlar vermiştir. Bu çalışmalar tarımsal ve endüstriyel artıkların mikrobiyel faaliyetlerle yıkımı ile sindirimlerinin kolaylaştırılmasını, mikrobiyel çevrim ile protein, yağ, vitamin ve aminoasit gibi besin elementlerinin üretimini kapsar (Karapınar 1984, Hsiao vd 1994). Örneğin fermentasyon yoluyla lizin, treonin, izolösin ve histidin gibi aminoasitler başarıyla üretilmektedir (Hsiao vd 1994, Hiruta vd 1996b, Kumar ve Gomes 2004). Yine fermentasyon yoluyla enzim üretimi konusu da endüstriyel açıdan önem arz etmektedir. Bunlardan amilaz, glukoamilaz, proteaz, selülaz, ligninaz, pektinaz ve ksilenaz başarıyla üretilen enzimlerdendir (Gönül 2001, Jang ve Yang 2008). Küflerden endüstriyel olarak pektik enzim üretiminin yaygın olduğu, bu amaçla özellikle *Aspergillus niger*'in sıklıkla kullanıldığı bildirilmektedir (Gönül 2001). Bundan başka mikrobiyel polisakkaritlerin (ksantanlar, pullulanlar vs.) ve glikolipitlerin (nemlendirici ajanlar olarak) üretimi de bilinmektedir (Ratledge 1993).

Bunun yanında büyük ölçekli endüstriyel işlemlerle mikrobiyel teknolojinin başarılı bir şekilde uygulanmasına en iyi örneklerden biri de steroid ilaçların ve hormonların üretimidir (Fernandes vd 2003).

Endüstriyel artıklar üzerinde mikroorganizmaların üretilmesine ilişkin çok çeşitli çalışmalar ve uygulamalar vardır. Bu çalışmalar, özellikle I. ve II. Dünya Savaşı yılları gibi gıda açıklarının büyük olduğu dönemlerde uygulama alanına sokulmuştur. Bazı mikroorganizmalar çeşitli endüstriyel artıkları karbon kaynağı olarak kullanmakta, yaşamları için gerekli enerjiyi ve besini sağlamak ve bu arada protein içeriği yüksek bir biyokütleyi hızlı bir şekilde sentezleyebilmektedir. Bu amaçla bu dönemlerde odun

hidrolizatları ve petrolden yararlanarak mikrobiyel protein üreten tesisler kurulmuştur. Özellikle 1970’li yıllarda İngiltere, Fransa, İtalya, Romanya ve eski Sovyet Sosyalist Cumhuriyetler Birliği (SSCB) gibi ülkelerde petrolden büyük ölçüde mikrobiyel protein üretimi gerçekleştirilmiştir. Hidrokarbonlardan kazanılan bu proteinler hayvan yemi olarak değerlendirilmiş ve hayvanlara herhangi bir zararının olmadığı saptanmıştır (Üçüncü 2004b).

Fermentasyon yoluyla yağ veya protein üretiminde kullanılan mikroorganizmalardan elde edilen proteine “Tek Hücre Proteini” (THP) (Karapınar 1984, Ratledge 1993, Üçüncü 2004b), yağa ise “Tek Hücre Yağı” (THY) adı verilmektedir (Karapınar 1984, Ratledge 1993, Nojima vd 1995, Wynn ve Ratledge 2000, Papanikolaou vd 2004, Ratledge 2004). Her iki üretimde de bileşiminde protein, yağ, vitamin, karbonhidrat ve mineral madde gibi besin elementlerini içeren mikrobiyel kütle elde edilmektedir (Karapınar 1984). Ancak üreme koşullarında yapılan değişikliklerle mikroorganizmanın bu besin öğelerinden birisini daha fazla sentezlemesi ve bunu yüksek miktarlarda hücre içerisinde depolaması sağlanmaktadır. Karbon/azot oranı (C/N) yüksek tutulan besiyerlerinde üretilen mikroorganizmalar yağ içeriği yüksek biyokütle verirken (Karapınar 1984, Ratledge 1993, Hsiao vd 1994, Akpınar Bayizit ve Özcan Yılsay 2004, Papanikolaou 2004, Aidil vd 2005), karbon/azot oranı düşük besiyerlerinde üretilenler protein içeriği yüksek biyokütle vermektedir (Karapınar 1984, Akpınar Bayizit ve Özcan Yılsay 2004, Üçüncü 2004b).

Çeşitli tarımsal ve endüstriyel atık ve artıkların substrat olarak kullanılmasını esas alan mikrobiyel protein üretimi çalışmalarında peyniraltı suyu yaygın olarak kullanılmakta ve değerlendirilmektedir. Bu amaçla peyniraltı suyu ile yapılan çalışmalarda *Kluyveromyces fragilis*’in (ATCC 8582) geniş pH değerleri ve laktoz konsantrasyonları aralığında gelişme gösterebilmesi nedeniyle en verimli suş olduğu belirtilmektedir. Fransa’nın Vandome kentinde BEL-Şirketi tesislerinde *Kluyveromyces lactis* ve *Kluyveromyces fragilis* kullanılarak 40 yıldan beri tek hücre proteini üretilmekte ve günde 300 ton peyniraltı suyundan 7.5 ton mikrobiyel protein ve 300 kg aminoasit kazanılmaktadır. Elde edilen ürünler, hayvan yemi olarak kullanılmasının yanı sıra bebek ve çocuk gıdalarının ve çorbaların hazırlanmasında da

değerlendirilmektedir. Aynı şekilde ABD’de Denver yakınlarında Wacon şirketi tesislerinde peyniraltı suyundan mikrobiyel protein üretilmekte ve hayvan yemi olarak kullanılmaktadır (Üçüncü 2004b).

Mikrobiyel yağ konusu üzerindeki çalışmalar ise II. Dünya Savaşı yıllarında hızlanmış, fakat savaş sonrasında azalmıştır (Denli ve Tekin 2000, Akpınar Bayizit ve Özcan Yılsay 2004). Esas olarak bu konudaki ilk ciddi çalışmalar 1914-1918 yılları arasında, Almanya’da Linder adında bir araştırmacı tarafından *Endomyces vernalis* kullanılarak gerçekleştirilmiş, fakat o yıllarda mikrobiyel yağ üretiminin ekonomik fayda sağlayacağı hiç düşünülmemiştir (Denli ve Tekin 2000). Bununla birlikte daha sonraki yıllarda yağ üreten mikroorganizmaların ticari anlamda geliştirilmiş ve bu mikroorganizmaların kendilerine has spesifik karakteristiklerinin daha iyi anlaşılması dolayısıyla finansal ve diyetel anlamda bir ilgi potansiyeli oluşmuştur (Kimura vd 2004, Papanikolaou vd 2004, Ratledge 2004). Maya, küf, bakteri ve alg gibi bazı mikroorganizmaların uygun koşullarda yağ üretebilecekleri bildirilmekte ve bu yolla ticari anlamda yağ üretim olanaklarının geliştirilmesi üzerine yoğun araştırmalar yapılmaktadır (Ratledge 1993, Denli ve Tekin 2000). Mikrobiyel yağ üretiminde kullanılacak birçok mikroorganizma türü bulunmaktadır. Genel olarak ökaryot mikroorganizmaların yağ üretme yeteneği prokaryot mikroorganizmalara göre daha fazladır (Ratledge 1993, Denli ve Tekin 2000, Ratledge 2004).

Yağ üretebilen ve bu yağı biyokütlelerinde depolayabilen mikroorganizmalara “yağlı mikroorganizma” (oleaginous microorganism) denilmektedir. Bir mikroorganizmanın “yağlı” olarak nitelendirilebilmesi için kuru biyokütlesinin en az %20 (w/w) oranında yağ içermesi gerekmektedir (Denli ve Tekin 2000, Akpınar Bayizit ve Özcan Yılsay 2004). *Candida*, *Lipomyces*, *Rhodotorula*, *Trichosporon*, *Fusarium* ve *Mucor* gibi türler yağlı mikroorganizmalara örnek olarak verilebilir (Hsiao vd 1994, Nojima vd 1995, Denli ve Tekin 2000, Akpınar Bayizit ve Özcan Yılsay 2004, Aidil vd 2005). Bazı maya türlerinde, kuru biyokütle ağırlığının %50’sinden fazlasını yağ oluşturabilmektedir (Hsiao vd 1994, Nojima vd 1995, Denli ve Tekin 2000, Akpınar Bayizit ve Özcan Yılsay 2004, Kimura vd 2004). Küflerden *Mortierella alpina*’nın kuru biyoküttelede %40 (w/w) düzeyine kadar yağ üretebildiği ve ürettiği yağda uzun zincir

yapısına sahip çoklu doymamış yağ asitlerinden (LCPUFA) araşidonik asit (ARA) miktarının %40 seviyelerine kadar ulaşabildiği bildirilmektedir. Yine bu küfün, karbonhidrat (glikoz) kaynaklarının yanısıra, ekonomik değeri daha düşük olan yağları da (ayçiçeği yağı gibi) biyotransformasyonla daha değerli olan ARA'ya çevirebildiği belirtilmiştir (Wynn ve Ratledge 2000). *Apiotrichum curvatum* (*Candida curvata*) mayasının laktozu kullanabilme kabiliyetinin yüksek olduğu ve bu sebeple de peyniraltı suyu permeatından tek hücre yağı üretebilme potansiyeline sahip olduğu bildirilmektedir. Bu mayadan elde edilen yağın özellikle kakao yağı benzeri yağ üretiminde kullanımının uygun olduğu belirtilmiştir (Ratledge 1993).

Endüstriyel anlamda mikrobiyel bir ürünün ekonomik olması ancak substrat maliyetinin ucuz ve temin edilebilirliğinin sürekli olduğu bir fermentasyon ile mümkündür. Mikrobiyel yağ üretiminin ekonomik olabilmesi için ise bu şartların yanında, elde edilecek olan yağın tarımsal yöntemlerle kolayca üretilemiyor olması, değerli ve pahalı bir yağ olması gerekir (Certik ve Shimizu 1999, Ratledge 2004). Bu gereksinimler de daha çok uzun zincir yapısındaki çoklu doymamış yağ asitlerinin üretimiyle sağlanabilmektedir (Papanikolaou vd 2004, Ratledge 2004). Uzun zincir yapısındaki çoklu doymamış yağ asitlerini bitkisel yağlardan elde etmek mümkün değildir. Söz konusu yağlar, tek hücre yağı üretim proseslerinin geliştirilmesinden önce de sadece deniz orijinli hayvansal kaynaklardan elde edilebilmiştir (Ratledge 2004). Mikrobiyel lipofilik bileşikler bu spesifik özellikleri nedeniyle son yıllarda endüstriyel ve finansal potansiyele sahip olma bakımından ilgi çekmektedir (Papanikolaou vd 2004, Jang ve Yang 2008). Bu tür ürünler, bazı bakteri, fungus ve mikroalgler tarafından diğer yağlara alternatif olarak üretilebilmektedir (Alonso ve Maroto 2000).

Çoklu doymamış yağ asitleri, yeni doğmuş bebeklerin ve annelerinin beslenmesinde çok önemli bir yer tutmakta ve dolayısıyla bu yağ asitlerini içeren ürünler dünya çapında önemli bir pazar imkânı bulabilmektedir. Özellikle 1980'lerin sonları ile 1990'ların başlarında çoklu doymamış yağ asitlerinin beslenmede kullanımı giderek büyüyen bir ilgi odağı halini almıştır (Ratledge 2004). Bazı sağlık kurumları ve uzmanlar, bebek mamalarının dokozaheksaenoik asit (DHA) ve ARA ile güçlendirilmesini tavsiye etmektedir (Wibert vd 1997, Alonso ve Maroto 2000,

Bigogno vd 2002). Avrupa Topluluğu Pediatrik Gastroentoloji ve Beslenme Komitesinin (ESPGAN Committee on Nutrition 1991) ve ABD’de Gıda ve Tarım Organizasyonu ile birlikte Dünya Sağlık Örgütü’nün (FAO/WHO 1994) de içinde bulunduğu pek çok otorite bebek mamalarına anne sütünde bulunan seviyelerde ω -3 yağ asidi DHA ve ω -6 yağ asidi ARA eklenmesini önermiştir. Bununla birlikte bebek mamalarına eklenmesi için uygun DHA ve ARA kaynaklarına ihtiyaç duyulmaktadır. Söz konusu yağ asitleri algal ve fungal kaynaklardan son yıllarda ticari olarak üretilmektedir. Bebek beslenmesi dikkate alındığında, bu tek hücre yağları, yüksek konsantrasyonlarda DHA ve ARA içermeleri ve aynı zamanda kontrollü fermentasyon koşullarında üretilibilmeleri nedeniyle daha cazip olarak değerlendirilmektedir (Wibert vd 1997, Burns vd 1999).

Sütün çeşitli mamullere işlenmesinde önemli sayılacak miktar ve özellikle sütçülük artıkları meydana gelmektedir. Bunların çok büyük bir çoğunluğunu tereyağı ve peynircilik artıkları oluşturmaktadır. Süt ürünleri üretimimizin büyük çoğunluğunun ilkel şartlarda, her türlü teknolojik bilgiden yoksun olarak gerçekleştirilmesi, alet ve ekipman yetersizliğinden dolayı, artıklarla kayıplar daha da artmaktadır (Üçüncü 2004b).

Sütün peynire işlenmesi sırasında artakalan yeşilimsi sarı renkli sıvı, “peynir suyu” ya da “peyniraltı suyu” olarak adlandırılmaktadır. Peynir yapımında kullanılan sütün yaklaşık %70-80 kadarı peyniraltı suyu olarak arta kalmaktadır. Ülkemizde son yıllara kadar atık olarak hesap edilen ve hiçbir şekilde değerlendirilmeyen peyniraltı suyu, besin değeri bakımından çok zengin olmakla birlikte atık olması durumunda çevreyi kirletmektedir. Peyniraltı suyunun bileşimi, peynir yapımında uygulanan yöntem ve özellikle de sütün pıhtılaştırılmasında kullanılan pıhtılaştırıcı ajanın asit veya enzim oluşuna göre değişmektedir. Ancak genel olarak yağsız süt kurumadesinin yaklaşık 2/3’ünü ve bu bağlamda laktoz, peyniraltı suyu proteinleri, suda çözünen vitaminler ve mineraller gibi beslenme fizyolojisi bakımından değerli maddeleri içermektedir. Nitekim peynir üretimi sırasında süt bileşenlerinden yağ ve kazein peynirde kalmakta; oysa süt şekeri (laktoz), peyniraltı suyu proteinleri ve mineral maddeler peyniraltı suyuna geçmektedir (Üçüncü 2004b).

Genelde “ekşi peyniraltı suyu” ve “tatlı peyniraltı suyu” olmak üzere iki çeşit peyniraltı suyu bulunmaktadır. Sütün laktik asit bakterisi içeren kültürler yardımıyla asitlendirilmesi veya süte organik asit katılması yöntemiyle peynir yapımında açığa çıkan peyniraltı suyu, “ekşi peyniraltı suyu” ya da “asit peyniraltı suyu” olarak bilinmektedir. Buna karşın peynir üretiminde pıhtılaştırıcı ajan olarak peynir mayasının (rennet enzimi) kullanılması durumunda ortaya çıkan yan ürün ise, “tatlı peyniraltı suyu” yahut “maya peyniraltı suyu” olarak tanımlanır. Bunların gerek bileşimleri gerekse özellikleri oldukça farklıdır (Sienkiewicz ve Riedel 1990, Üçüncü 2004b).

Ülkemizde, böylesi zengin besin içeriğine sahip ve üretim sonunda fazla miktarda artakalan bu yan ürünün büyük bir kısmı nisbeten yüksek maliyet sebebiyle değerlendirilmeyip atık olarak düşünülmektedir. Bu zengin sütçülük artığının içerdiği mineral maddeler ve laktoz ile protein ve yağ gibi mikroorganizmalar tarafından biyolojik olarak parçalanabilen organik maddelerden dolayı büyük ölçüde çevreyi kirletme kaynağı olduğu bilinmektedir. Su kaynaklarına atıldığında; akarsularda, göllerde ve hatta denizlerde, ortamın oksijenini tükettiği için yaşamı olumsuz etkilemekte ve çevre kirlenmesine yol açmaktadır (Sienkiewicz ve Riedel 1990, Özrenk vd 2003, Üçüncü 2004b). Çünkü peyniraltı suyunun içerdiği organik maddeleri parçalayabilmek için mikroorganizmalar sudaki çözünmüş oksijeni kullanmakta, dolayısıyla suda yaşayan canlılar hayatta kalabilmek için gerekli oksijeni bulamamakta ve yaşamlarını yitirmeye başlamaktadır. Oysa sudaki yaşam için en az 5 mg/L (O₂/su) oranında çözünmüş oksijen gereklidir. Sudaki çözünmüş oksijen konsantrasyonu bu değer altına düştüğünde, sudaki canlıların yaşamı tehlikeye girmektedir. Peyniraltı suyunun 1 litresinin doğrudan atık sulara karışmasıyla oluşan kirlilik miktarı, yaklaşık 1 kişinin bir günde ürettiği kirliliğe eşdeğerdir. Örneğin günde 10 ton sütü peynire işleyen ve artakalan peyniraltı suyunu (yaklaşık 8 ton) değerlendirmeden çevreye atan bir işletme, 8000 nüfuslu bir yerleşim biriminin yol açtığı düzeyde çevre kirlenmesine sebep olmaktadır (Üçüncü 2004b).

Ülkemizde 1999 verilerine göre 200000 ton beyaz peynir üretildiği bildirilmiştir. Bu sayının ise 2000 yılında 220000 ton olduğu tahmin edilmektedir (Demirbaş vd 2002). 2002 yılında istatistiklere girmiş olan süt üretim miktarı 8408566 tondur

(Anonim 2004). Bunun yaklaşık %20'sinin peynire işlendiği hesaba alındığında işlenen süt miktarı yaklaşık olarak 1681713 tondur. Beyaz peynir üretiminde randımanın ortalama 1/5 olduğu göz önüne alındığında 1681713 ton sütün peynire işlenmesi ile 1345370 ton peyniraltı suyunun açığa çıktığı görülmektedir. Bu miktarın ne kadarının işlenerek değerlendirildiği tam olarak bilinmemekle birlikte işletmelerin çoğunun peyniraltı suyu işleme tesislerinin olmadığı ortadadır. Bu nedenle peyniraltı suyunun büyük kısmının değerlendirilmeden atıldığı hesaba alındığında çevre kirliliği ve besin değeri yüksek bir yan ürünün kaybı açısından büyük problemlerin ortaya çıktığı görülmektedir.

Yapılan bu tez çalışmasında ω -6 yağ asidi γ -linolenik asit (GLA) içerikli mikrobiyel yağ üreten *Mortierella isabellina* ve *Mortierella ramanniana* küfleri ile gerçekleştirilen fermentasyonlarda peyniraltı suyunun substrat olarak kullanımı araştırılmıştır. Peyniraltı suyunun farklı kurumadde düzeylerinin ve peyniraltı suyuna laktaz enzimi uygulamasının biyokütle üretimi, yağ verimi ve elde edilen yağlardaki yağ asidi kompozisyonu üzerine etkileri belirlenmiştir. Ayrıca elde edilen yağlarla yapılan bazı fiziksel ve kimyasal analizlerle bu özelliklere ait parametreler saptanmıştır.

2. KURAMSAL BİLGİLER ve KAYNAK TARAMALARI

2.1. Mikrobiyel Fermentasyon Teknolojisi

Tek hücre organizmaları karbonhidrat ve azot kaynağı bakımından zengin olan meyve ve sebzeleri, gıda fabrikaları ve tarımsal ürünlerin atık ve artıklarını kullanabilme yeteneğine sahiptir (Imrie 1973, Sekeri-Pataryas vd 1973).

Endüstriyel üretim çerçevesinde birçok maddeden biyodönüşümle yeni bileşiklerin oluşturulmasında mikroorganizmaların biyokimyasal reaksiyonlarından faydalanma anlamına da gelen fermentasyon teknolojisi çeşitli alanlarda yaygın olarak uygulanmaktadır (King ve Cheetham 1987). Fermentasyonun en önemli uygulama alanları;

- Mikrobiyel hücre (biomass) üretimi,
- Mikrobiyel enzim üretimi,
- Mikrobiyel metabolit üretimi,
- Fermentasyona eklenen bileşiklerin değişimi

olarak kabaca sınıflandırılabilir (Stanbury ve Whitaker 1984). Endüstriyel olarak üretilen fermentasyon ürünleri Çizelge 2.1' de verilmiştir.

Mikroorganizmaları kullanarak metabolit üretme veya hücre gelişimi için kullanılacak olan fermentasyon ortamı uygun formdaki tüm bileşikleri yeterli miktarda içermelidir. Bu amaçla laboratuarda mikroorganizmalar kullanılarak yapılan üretimlerde genellikle saf kimyasallar kullanılırken, endüstriyel fermentasyonlarda ise ekonomik nedenlerden dolayı farklı kompozisyonlardaki artık maddeler kullanılmaktadır (Brock 1984, Madigan ve Martinko 2006).

Çizelge 2.1. Endüstriyel olarak üretilen fermentasyon ürünleri (Smith 2004)

Sektör	Ürünler
<u>Kimya</u>	
Organik (Dökme)	Etanol, aseton, bütanol, organik asitler (sitrik asit, itakonik asit)
Organik (Saf)	Enzimler, parfümler, polimerler (çoğunlukla polisakkaritler)
İnorganik	Metallerle zenginleştirme, ayrıştırma
<u>Eczacılık</u>	Antibiyotikler Tanımlayıcı kimyasallar (enzimler, antibodiler) Enzim inhibitörleri, steroidler, aşılarda
<u>Enerji</u>	Etanol Metan (biyogaz) Biyokütle
<u>Gıda</u>	Süt ürünleri (peynir, yoğurt) İçecekler (alkollü içecekler, çay ve kahve) Ekmek mayası Gıda katkıları (antioksidanlar, renklendiriciler, lezzet vericiler) Mantar ürünleri, aminoasitler ve vitaminler Nişasta ürünleri, glikoz ve yüksek-fruktozlu şuruplar Proteinlerin fonksiyonel modifikasyonları ve pektinler
<u>Tarım</u>	Hayvan yemleri Veterinerlik aşılarda Silaj ve kompost işlemleri Mikrobiyel pestisitler

2.1.1. Mikroorganizmalar için gerekli hammaddeler

Fermentasyonda kullanılan kültür ortamlarının hücre bileşenlerinin sentezi ve metabolik ürünlerin üretimine imkân verecek bütün bileşikleri içermesi gerekmektedir. Mikroorganizmalarla gerçekleştirilen laboratuvar çalışmalarında kültür ortamında kullanılan kimyasallar oldukça saftır, fakat endüstriyel ölçekli üretimlerde ise ekonomik olması nedeniyle daha kompleks bileşikleri içeren, maliyeti düşük substratlar kullanılmaktadır (Çizelge 2.2). Ancak bu tip üretimlerde mikroorganizma gelişimi ve fermentasyon ortamının kontrol altında tutulabilmesi amacıyla kültür ortamına kritik bileşiklerden katkı yapılmalı, ön denemelerle biyolojik uyumluluk sağlanmalı ve

ortamda ürünün oluşabilmesi yanında ürünün fermentasyon ortamından ayrılması gibi işlemler de göz önünde bulundurulmalıdır (Tunail 2009).

Çizelge 2.2. Fermentasyonlarda kullanılan yan ürünler (Smith 2004)

Tarımsal Yan Ürünler	Orman Yan Ürünleri	Endüstriyel Yan Ürünler
- Saman	- Odun atıklarının hidrolizatları	- Melas
- Küspe	- Sülfite pulp likörü	- İçki fabrikası atıkları
- Mısır koçanı	- Kabuk, talaş, dal ve saplar	- Peyniraltı suyu
- Kahve, kakao ve hindistan cevizi kabukları	- Kağıt atıkları ve selüloz	- Gıda endüstrisinin sıvı atıkları (zeytin, palm yağı, patates, turunçgiller)
- Meyve kabuk ve yaprakları	- Lifler	- Yıkama suları (mandıra, konserve fabrikası, meyve suyu fabrikası, fırın, şeker fabrikası)
- Çay yaprakları		- Balık atık suları ve atıkları
- Ayçiçeği tablası		- Et yan ürünleri
- Pamuk atıkları		- Evsel çöpler ve atıklar
- Buğday kepeği		- Lağım suyu
- Pulp (domates, kahve, muz, ananas, turunçgiller, zeytin vb.)		- Mezbaha atıkları
- Hayvansal atıklar		

Mikroorganizmalar, canlılıklarını sürdürebilmeleri, istenilen biyodönüşümleri yapabilmeleri ve yeni ürünler oluşturabilmeleri için uygun gelişme şartlarına ihtiyaç duymaktadır. Bu şartların başında mikroorganizmaların substrat istekleri gelmektedir. Mikroorganizmalar kendilerini çevreleyen ortamdan besin maddelerini alabilmek ve metabolizma sonucu oluşturdukları primer veya sekonder metabolitlerini hücre dışına çıkarabilmek için de suya gereksinim duymaktadır. Suda çözülmüş olarak aldıkları besin maddelerini hem enerji üretiminde hem de hücre organellerini (hücre duvarı, membran, ribozom, genom, sitoplazma) inşa etmek için makro moleküllerin (polisakkaritler, proteinler, nükleik asitler, fosfolipitler, enzim ve koenzimler) sentezinde kullanmaktadır (Waites vd 2001, Tunail 2009).

Mikroorganizmalar, buldukları doğal ortam koşullarına göre hücresel donanımlarını geliştirerek kendi fizyolojilerini oluşturmuş ve buldukları yerlere adapte olmuşlardır. Dolayısıyla değişik mikroorganizma gruplarının ortamdaki talep ettiği besinler ve koşullar farklıdır. Herhangi bir türün izole edilip kültüre alınmasında, türün beslenme tipine bağlı olarak beslenme isteklerinin ve gelişme koşullarının

bilinmesi büyük önem taşımaktadır. O nedenle öncelikle mikroorganizmalarda besin olarak alınan bileşiklerin hangi amaçlarla kullanıldığının, gelişme faktörlerinin hangi metabolizmalara hizmet ettiğinin ve temel beslenme tiplerinin incelenmesi gerekmektedir (Smith 2004, Ray ve Bhunia 2007).

2.1.1.1. Besin olarak alınan bileşikler

Mikrobiyel beslenme, mikrobiyel fizyoloji yönünden monomerlerin desteği veya sağlanması ile ilgilidir. Hücreler, makromoleküller, su ve makromolekülleri oluşturan monomer adı verilen küçük birimlerden oluşurlar. Hücreler için gerekli olan tüm bu maddeler besin olarak adlandırılmaktadır. Farklı mikroorganizmaların farklı besin gereksinimleri bulunmakta ve birinden diğerine spesifik olarak değişiklik göstermektedir. Bazı besinler büyük miktarlarda kullanılırken (makromoleküller) bazıları daha az veya eser miktarlarda kullanılır ki bunlar da mikrobeyinler olarak adlandırılmaktadır (Brock 1984, Madigan ve Martinko 2006). Yapılan çalışmalarda hücre kuru ağırlığının %95'in üzerinde az sayıda temel elementlerden oluştuğu görülmüştür. Bunlar; karbon, oksijen, hidrojen, azot, kükürt, fosfor, potasyum, sodyum, kalsiyum, magnezyum, demir elementleri olup bütün mikroorganizmalarda bulunmaktadır (Heritage 1999, El-Mansi 2007, Tunail 2009).

Makro elementler olarak adlandırılan gruptan ilk dördünün (C, O, H ve N) tüm organizmalarda, diğer elementlerle kıyaslandığında daha büyük bir orana sahip olduğu görülmektedir (C: %50-60, O: %25-30, H: %8-10, N: %3-4). Bu dört element S ve P ile beraber karbonhidratları, lipitleri, proteinleri ve nükleik asitleri oluşturmaktadır. Makro elementlerden geri kalanlar mikroorganizma hücrelerinde katyonlar (K^+ , Na^+ , Ca^{+2} , Mg^{+2} , Fe^{+2} ve Fe^{+3}) halinde bulunmaktadır. Birçok enzimin katalitik etkisini maksimum düzeyde gösterebilmesi ortamdaki K^+ iyonlarının varlığına bağlıdır. Ca^{+2} iyonları spor oluşumu sırasında Ca-dipikolonat oluşturmakta ve sporların ısıya karşı dirençli olmalarında rol oynamaktadır. Fe^{+2} ve Fe^{+3} iyonları, elektron transport sisteminde (ETS) bulunan Fe-S proteinlerinin ve sitokrom enzimlerinin bileşenleri olup oksidasyon ve redüksiyon olaylarında önemli görevler üstlenmektedir. Mg^{+2} iyonları *Cyanobacter*'lerin ve fototrofik bakterilerin anten pigmentlerinde ve fotoreaksiyon merkezlerinde bulunan klorofil ve diğer bakteriyoklorofillerin yapısında yer almakta,

ayrıca ribozomların ve hücre membranının stabilizasyonunda rol oynamaktadır (Tunail 2009). Makro elementlerden ilk altısı (C, O, H, N, S ve P) çoğu durumda besiyerine organik bileşikler (şeker, pepton, tripton vb.), fosfatlar, sülfatlar ve amonyum tuzları halinde katılmakta ve g/L düzeyinde belirtilmektedir. Majör elementler de denilen bu temel elementlere karşılık, diğer makro elementler mg/L düzeyinde gereksinilen elementler olduğundan minör elementler olarak adlandırılmaktadır. Birçok bakteri makro elementlerden sodyuma (Na^+) fazlaca ihtiyaç göstermez. Buna karşılık başta halofiller olmak üzere tuzlalarda, tuz göllerinde ve okyanuslarda yaşayan bakteriler, Na^+ iyonlarını yüksek konsantrasyonda ihtiyaç duymaktadır (Madigan ve Martinko 2006, Glazer ve Nikaido 2007).

Çizelge 2.3. Bazı mikro elementlerin biyolojik işlevleri (Madigan ve Martinko 2006)

Element	Biyolojik işlevler
Cu	Mitokondriyal oksidaz'ın bileşeni
Co	Kobalaminin (Vitamin B ₁₂ 'nin) bileşeni
Mo	N ₂ fiksasyonunu gerçekleştiren Nitrogenaz'ın bileşeni
Se	Glutasyon peroksidaz'ın bileşenidir
Zn	Dehidrogenaz'ların kofaktörüdür
Mn	Arjinaz'ın, özellikle fosfat grubu taşıyan enzimlerin kofaktörüdür
Mg	Fotosentezde Su dehidrogenaz enziminin, fotosentezin kofaktörüdür
V	Nitrat redüktaz enziminin kofaktörüdür
Ni	Üreaz enziminin kofaktörüdür
Fe	Sitokromlarda ve Fe-S proteinlerinde elektron taşıyıcısıdır

Bütün mikroorganizmalar mikro elementlerden (eser elementler) birkaçına veya daha fazlasına ihtiyaç duymaktadır (Çizelge 2.3). Farklı metabolik olaylarda farklı mikro elementler önem kazanmaktadır. Mangan, molibden, çinko, bakır, kobalt, nikel, vanadyum, bor, klor, selenit, silisyum ve volfram olarak sıralanabilecek mikro elementlerden ilk altısı daha fazla sayıda mikroorganizma tarafından talep edilmektedir. Mikro elementlerin çoğu, enzimlerin bileşenleri veya kofaktörleri olarak iş görmekte, enzimatik reaksiyonlarda katalitik aktivitenin üst düzeyde sürmesine yardımcı olmakta veya enzim protein yapılarının korunmasını sağlamaktadır. Makro elementlerin aksine eser elementler gelişme ortamında $\mu\text{g/L}$ düzeyinde gereklidir. Birçok mikro elementin

$\mu\text{g/L}$ düzeyindeki konsantrasyonları dahi toksik etkilidir (Madigan ve Martinko 2006, Tunail 2009).

2.1.2. Fermentasyonda kullanılan mikroorganizmaların özellikleri

Fermentasyon teknolojisinde daha yüksek verim elde edilmesi, fermentasyonun daha ekonomik olması ve çevre kirliliğine neden olmaması açısından fermentasyon için kullanılacak mikroorganizmaların belli özelliklere sahip olması gerekir. Söz konusu bu mikroorganizmalar, çok sayıda substratla kullanılabilme özelliğine sahip olmalı, kontaminasyondan arınmış olmalı, fermentasyon ortamından kolayca ayrılabilmeli, genetik değişikliğe dirençli olmalı, yüksek karbon-biyokütle dönüşümü sağlamalı, geniş pH aralığında üreyebilmeli ve ayrıca ürettikleri son ürün toksik olmamalı, yüksek oranda sindirilebilmeli, bitki, hayvan ve insanlar üzerinde patojen etkiye sahip olmamalıdır (Brown 2003).

2.2. Mikrobiyel Yağ Üretimi

Dünyadaki gıda sorununa yanıt arama çalışmalarında, insan ve hayvan beslenmesinin temel öğelerini teşkil eden protein, lipid, karbonhidrat ve vitaminleri basit organik maddelerden hızlı bir şekilde sentezleyebilen mikroorganizmalar giderek önem kazanmaktadır (Karapınar 1984, Ratledge 1993). Maya, küf, bakteri ve alg gibi mikroorganizmaların uygun koşullarda yağ üretebilecekleri bildirilmekte ve bu yolla ticari yağ üretim olanakları üzerine yoğun araştırmalar yapılmaktadır (Ratledge 1993, Denli ve Tekin 2000). Özellikle çevre kirlenmesi sorunu yaratan birçok tarımsal ve endüstriyel artıkların substrat olarak kullanıldıkları, bakteri, maya ve küfler ile yapılmakta olan çalışmalar olumlu sonuçlar vermiştir. Bu çalışmalar tarımsal ve endüstriyel artıkların mikrobiyel yıkım ile sindirimlerinin kolaylaştırılmasını, bunlardan mikrobiyel çevirim yoluyla protein, yağ, vitamin ve aminoasit üretimlerini kapsamaktadır (Karapınar 1984, Hsiao vd 1994). Fermentasyon yoluyla lisin, treonin, izolösin ve histidin gibi aminoasitler başarı ile üretilmektedir (Hsiao vd 1994, Hiruta vd 1996b, Kumar ve Gomes 2004). Bunlardan başka mikrobiyel polisakkaritlerin (ksantanlar, pullulanlar vs.) ve glikolipitlerin (nemlendirici ajanlar olarak) üretimi de

bilinmektedir (Ratledge 1993). Yine fermentasyon yoluyla enzim üretimi konusu da endüstriyel açıdan önem arz etmektedir. Bunlardan amilaz, glukoaamilaz, proteaz, selüloz, ligninaz, pektinaz ve ksilenaz başarıyla üretilen enzimlerdendir (Gönül 2001, Jang ve Yang 2008). Ayrıca büyük ölçekli endüstriyel işlemlerle mikrobiyel teknolojinin başarılı bir şekilde uygulanmasına en iyi örneklerden biri de steroid ilaçların ve hormonların üretimidir (Fernandes vd 2003).

Mikrobiyel biyokütle üretiminin iki temel amacı vardır. Birincisi hızla artan gıda talebini karşılamak, ikincisi tarımsal ve endüstriyel artıkları substrat olarak kullanmak suretiyle çevre kirlenmesi sorununa çözüm getirirken sonuçta ekonomik değeri olan bir ürün elde etmektir (Karapınar 1984).

Yağ veya protein eldesi amacı ile üretilen mikroorganizmalardan elde edilen proteine “**Tek Hücre Proteini**” (THP) (Karapınar 1984, Ratledge 1993), yağa ise “**Tek Hücre Yağı**” (THY) adı verilmektedir (Karapınar 1984, Ratledge 1993, Nojima vd 1995, Wynn ve Ratledge 2000, Papanikolaou vd 2004, Ratledge 2004). Her iki üretim yönteminde de bileşiminde protein, yağ, vitamin, karbonhidrat ve mineral madde gibi besin maddelerini içeren mikrobiyel kütle elde edilmektedir (Karapınar 1984). Ancak üreme koşullarında yapılan değişikliklerle mikroorganizmanın bu besin maddelerinden birisini daha fazla sentezlenmesi ve bunu yüksek miktarlarda hücre içerisinde depolaması sağlanmaktadır. Karbon/azot oranı (C/N) yüksek tutulan besiyerlerinde üreyen mikroorganizmalar yağ içeriği yüksek biyokütle verirken (Karapınar 1984, Ratledge 1993, Hsiao vd 1994, Akpınar Bayizit ve Özcan Yılsay 2004, Papanikolaou 2004, Aidil vd 2005), karbon/azot oranı düşük besiyerlerinde üretilenler, protein içeriği yüksek biyokütle vermektedir (Karapınar 1984, Akpınar Bayizit ve Özcan Yılsay 2004).

Bir mikroorganizmanın “**yağlı**” (**oleaginous**) olarak nitelendirilebilmesi için en az %20 oranında yağ içermesi gerekmektedir. Mikrobiyel bir ürünün ekonomik olması ancak substrat maliyetinin ucuz ve sürekli olduğu bir fermentasyon ile mümkündür. (Fidler vd 1999, Denli ve Tekin 2000, Akpınar Bayizit ve Özcan Yılsay 2004). Bunun yanında mikrobiyel yağ üretiminin ekonomik olabilmesi için elde edilecek olan yağın, tarımsal yöntemlerle kolayca üretilenemiyor olması, değerli ve pahalı bir yağ olması

gerekmektedir (Certik ve Shimizu 1999, Ratledge 2004). Bu gereksinimler daha çok uzun zincir yapısındaki çoklu doymamış yağ asitleri (LCPUFA) üretimiyle sağlanabilmektedir (Papanikolaou vd 2004, Ratledge 2004). Uzun zincir yapısındaki çoklu doymamış yağ asitlerini bitkisel kaynaklardan elde etmek mümkün değildir. Tek hücre yağı üretim proseslerinin geliştirilmesinden önce de sadece deniz kaynaklı hayvansal yağlardan elde edilebilmiştir (Ratledge 2004). Mikrobiyel lipofilik bileşikler bu spesifik özellikleri nedeniyle son yıllarda endüstriyel ve finansal potansiyelleri bakımından yoğun ilgi çekmektedir (Nojima vd 1995, Papanikolaou vd 2004, Jang ve Yang 2008). Bu tür ürünler, bazı bakteriler, funguslar ve mikroalgler tarafından diğer yağlara alternatif olarak üretilmektedir (Alonso ve Maroto 2000). Uzun zincir yapısındaki çoklu doymamış yağ asitleri yeni doğmuş bebeklerin ve annelerinin beslenmesinde çok önemli bir yer tutmaktadır. Dolayısıyla Dünya çapında bir pazar imkânı bulabilmektedir. Özellikle 1980'lerin sonları ile 1990'ların başlarını kapsayan dönemde, çoklu doymamış yağ asitlerinin beslenmedeki öneminden dolayı bunlara olan ilgi giderek artmıştır. Özellikle yeni doğmuş bebeklerin beslenmesinde oldukça önemli bir yer kazanmıştır (Ratledge 2004).

Mikrobiyel yağ konusu üzerindeki çalışmalar II. Dünya Savaşı sırasında hızlanmış olmasına rağmen savaş sonrasında oldukça azalmıştır (Denli ve Tekin 2000, Akpınar Bayizit ve Özcan Yılsay 2004). Esas olarak bu konudaki ilk ciddi çalışma 1914-1918 yılları arasında, Almanya'da "Linder" adında bir araştırmacı tarafından *Endomyces vernalis* kullanılarak gerçekleştirilmiş; fakat o sıralarda işlemin ekonomik fayda sağlayacağı hiç düşünülmemiştir (Denli ve Tekin 2000). Ancak, son yıllarda mikroorganizmaların endüstriyel ölçekli üretim proseslerinin geliştirilmesiyle ticari anlamda büyük potansiyele sahip olduğu görülmüş ve ilgi artmıştır (Kimura vd 2004, Ratledge 2004).

1980'li yılların ortalarında mikrobiyel yağ üretimi farklı amaçlarla ve farklı ihtiyaçlara cevap vermek üzere bazı ülkelerde değişik şirketlerce ticari anlamda hayata geçirilmiş; ancak üretilen yağın piyasadaki diğer benzer yağ kaynakları ile rekabetinde bazı sorunlar yaşanmıştır. Ticari olarak mikrobiyel yağ üretiminin ilk hedeflerinden birisi çoklu doymamış yağ asitlerinden (PUFA) yüksek fiyata sahip, γ -linolenik asitin (GLA),

doğadaki diğer ticari tek kaynağı olan çuha çiçeği (*Oenothera biennis*) bitkisinin tohum yağına alternatif olarak üretimidir. Bu amaçla araştırmacıların laboratuvarlarında ilk olarak yaptıkları, diğer birçok bitki ve mikroorganizmada daha çok bulunan α -izomerinden ziyade γ -linolenik asidi ürettiği bilinen *Mucorale* sınıfına ait çok sayıda ipliksi küflerden bir tarama gerçekleştirmek olmuştur. Fazla miktarlarda yağ üreten birçok suş olmasına rağmen, bu suşların ürettiği yağların GLA içeriği düşük olma eğilimi göstermiştir. Buna zıt olarak GLA içeriği yüksek yağ üreten suşların ise yağ verimi düşük seyretmiştir. Bununla birlikte bu küflerden sadece *Mucor circinelloides*'in kuru biyokütlesinde %4'e varan GLA içerdiği (%20 GLA içeren %20 yağ oranı) bilinmektedir (Ratledge 1993).

Bu yüzden *Mucor circinelloides* ile ticari üretimler gerçekleştirilmiştir. *Mucor circinelloides* 220 tonluk fermentörde 96 saatten daha kısa bir sürede oldukça yüksek bir biyokütle verimi ile hızlı bir şekilde üreme gösterebilmiştir. Geliştirmeden sonra hücrelerin ayrılması, biyokütle kurutulması, solvent ekstraksiyonu ve takip eden rafinasyon ve saflaştırma işlemlerinden sonra %98'den daha fazla oranda triaçilgliserol içeren parlak altın sarısı renkte bir yağ üretimi gerçekleştirilmiştir (Ratledge 1993, 2004). Üretilen bu yağın GLA içeriği çuha çiçeği bitkisinden elde edilen yağın GLA içeriğinden 2 kat daha fazladır. Mikrobiyel ürün, 1985'de endüstriyel ölçekli üretimin ilk başlarında fiyat açısından oldukça rekabet edebilir durumda olup, sonraki dönemlerde yaşanan problemler tamamen mikrobiyel yağın pazarlanması ile ilgili konulardan kaynaklanmaktadır. Açıkça bilinmektedir ki, çuha çiçeği yağı denildiğinde akla ilk olarak GLA içeren yağ gelmektedir. Zaten bu bitkiden elde edilen yağın üretilmesindeki temel sebep yüksek GLA içeriğidir. Bu sebeple rakip olarak düşünüldüğünde daha ucuz olan ve GLA içeriği bakımından da çok daha üstün olan mikrobiyel yağın, çuha çiçeği yağının yerini alması kolay olmamıştır. Bu yüzden ilk başlarda küfden elde edilen bu yağ, çuha çiçeği yağına ya da diğer yağlara, GLA içeriklerini %12 düzeylerine kadar yükseltmek maksadıyla katılmak üzere veya küf ya da maya yağı olduğundan direk olarak bahsedilmeden "GLA-Forte" gibi isimler altında satışa sunulmuştur. Fakat GLA içeren yağların ticari anlamda oldukça kârlı olduğu görüldükten sonra 1980'lerin sonlarında birçok çiftçi ihracata yönelik olarak çuha çiçeği üretimine yönelmiştir. Bunun yanında hodan ve Frenk üzümü çekirdeği yağları da

(Frenk üzümü çekirdeği, Frenk üzümü suyu endüstrisinin bir atık ürünüdür) alternatif GLA kaynakları olarak bilinmeye başlamışlardır. Sonuç olarak Avrupa Topluluğu mevzuatı ile üretime yönelik desteklerle birlikte 1984-1985 yıllarında 50-55 dolar olan GLA-yağ'ın kg fiyatı 1990'lı yıllarda yarı yarıya düşmüştür. Avrupa Topluluğunun "gıda olmayan tarım ürünleri" (non-food crops) için yetiştiricilere vermiş olduğu sübvansiyon ile birlikte vasıflı ve kaliteli çuha çiçeği ve hodan bitkilerinin üretimi gerçekleştirilmeye başlanmıştır. Diğer taraftan biyoteknolojik proseslerde genellikle substrat olarak kullanılan glikoz o yıllarda Avrupa Topluluğu ülkelerinde dünya piyasasına göre daha yüksek fiyatlarda satılmaktadır. Sonuç olarak, beklendiği gibi ticari "Mucor prosesi" ile mikrobiyel yağ üretimi, Avrupa Topluluğunda sübvansiyeye edilen bitkisel kaynaklı ürünlerle rekabet edememiş ve mikrobiyel yağ üretimi, gerçekleştiren firmalar tarafından 1990'lı yıllarda askıya alınmıştır. Daha sonraları İngiltere'deki ticari "Mucor prosesi"ne benzer şekilde Japonya'da da bir şirket tarafından, *Mucor circinelloides* ile kıyaslandığında daha düşük GLA içerikli yağ vermesine rağmen *Mortierella isabellina* kullanılarak GLA-yağ üretim girişimine başlanmıştır (Ratledge 1993).

Japonya'da *Mortierella isabellina* kullanılarak üretilen GLA içeren yağ, içecek, şekerleme ve tablet formlarında gıda katkısı ya da fonksiyonel gıdalar olarak tüketilmektedir. Mikroorganizma seçimi göz önüne alındığında triaçilgliserollerinin %25'i GLA olan *Mortierella ramanniana* var. *angulispora* özellikle ön plana çıkmaktadır. GLA tek hücre yağına olan ilgiler artarak devam etmektedir. Özellikle %90 saflıkta GLA üretimi için başlangıç materyali olarak mikrobiyel kaynaklı ürünler çok daha avantajlı olmaktadır (Ratledge 1993).

Yine 1980'lerde mikrobiyel yağ üretiminin bir diğer amacı ise özellikle mayalar kullanılarak kakao benzeri tek hücre yağı (Single Cell Oil-Cacao Butter Equivalent/SCO-CBE) üretimi olmuştur. Ancak kakao yağının dünya piyasasındaki fiyatı çok yükselmediği sürece mayalar vasıtasıyla kakao benzeri tek hücre yağı üretiminin ticari hayata geçirilmesi mümkün değildir. Sonuçta tek hücre yağı üretiminde esas amaç çoklu doymamış yağ asitlerinin üretimi üzerine yoğunlaşmaktadır. Medikal ya da medikal benzeri gereksinimler temel çoklu doymamış yağ asitlerinin gelecekteki talebini

dolayısıyla fiyatını da belirleyecektir. GLA, araşidonik asit (ARA), eikozapentaenoik asit (EPA) ve dokozaheksaenoik asit (DHA) gibi çoklu doymamış yağ asitlerinin elde edilmesi mikrobiyel yağ üretiminin temel hedefini oluşturmakta ve bütün bu yağların üretimi de bakteri, fungi ve algler tarafından sağlanabilmektedir. Mikrobiyel kaynaklardan elde edilen yağın, çoklu doymamış yağ asitlerinin diğer kaynakları ile rekabet edebilmesi daha çok gereksinimi duyulan çoklu doymamış yağ asidinin istenen saflıkta üretilebilmesi ile ilgilidir. Mesela balık yağı, EPA ve DHA'yı elverişli biçimde sağlayabilmekte ve yeterli olmakta ve bu açıdan bakıldığında ise mikrobiyel yağın balık yağı ile rekabet edebilmesi olasılığının düşük olduğu görülmektedir. Fakat bununla birlikte eğer EPA ve DHA'nın diğer çoklu doymamış yağ asitleri olmaksızın konsantre halde bulunmaları istenirse, bu tür preparatları hazırlanmak çok zor olabilmektedir. Balık yağından üretimin imkânsız olduğu bu durumda mikrobiyel yağ ürünleri en iyi sonucu veren dolayısıyla da en rağbet edilen kaynak olmaktadır. Belirli bir yağ asidinin verimini arttırabilmek için kesinlikle optimum şartların belirlenmesi gerekmekte ve ancak böylelikle o yağ asidinin üretimi gerçekleştirilebilmektedir. Bu da bazı anahtar desaturaz enzimlerin bloke edildiği mutantların üretimi ile sağlanabilmektedir. Mikroorganizmada üretilen yağ miktarının arttırılabimesi de mümkündür. Çünkü artık bu tür mikroorganizmaların yağ metabolizmasına ait bazı detaylar daha iyi bilinmektedir (Ratledge 1993).

Tek hücre yağı üretiminin gelişmesi hiç şüphesiz konvensiyonel yöntemlerle üretilen tarımsal kaynaklı olan kakao yağı benzeri yağlar veya GLA-yağı ile hayvansal kaynaklı olan balık yağı veya hayvan ciğerinden ekstraksiyonla elde edilen EPA, DHA ve ARA yağlarından daha ucuz maliyetli yağ üretimi ile sağlanacaktır. Karbonhidrat içerikli atık maddelerin değerlendirilmesi anlamında düşünüldüğünde tek hücre yağı üretiminin tek hücre proteini üretimine alternatif olması ihtimali düşüktür. Tek hücre yağı üretiminde mikrobiyel yağın ekstraksiyonu ve saflaştırılması işlemleri tek hücre proteini üretimi ile kıyaslandığında daha karmaşık teknolojilerin kullanılmasını gerektirdiğinden ve pazarlama maliyetlerinden dolayı tek hücre yağı üretimi caydırıcı olmuştur. Fakat elbette ki tek hücre yağı üretiminde ucuz ya da sıfır maliyetli substrat maddelerin kullanılmasının fizibil olmayacağı anlamına gelmemelidir. Bununla birlikte mikrobiyel yağ üretiminin gelişmesinde atık maddelerin değerlendirilmesinden çok,

bizzat ürünün kendi değerinin göz önüne alınması esas amaç olarak hedeflenmelidir (Ratledge 1993).

2.2.1. Mikrobiyel yağ üretiminde kullanılan mikroorganizmalar

Tunail'in (2009) bildirdiğine göre Whittaker canlıları beş âlem sistemi içerisinde şu şekilde sınıflandırmıştır:

- *Monera* veya *Procaryotae* âlemi (prokaryotik hücre)
- *Protista* âlemi
- *Plantae* âlemi
- *Animalia* âlemi
- *Mycobiota* veya *Myceteae* âlemi (*Fungi* âlemi)

Bu âlemlerden *Monera* veya *Procaryotae* âlemi prokaryotik hücre yapısına sahipken diğer âlemler ökaryotik hücreye sahiptir (Tunail 2009).

Prokaryotlarda (*Procaryotae*); bakteriler, *Cyanobacteria*, *Rickettsia* ve *Chlamydia* gibi hücre içi parazitler, bakteri olmakla birlikte gerçek bakterilerden (öbakteriler) şekil, form ve hareket biçimiyle ayrılan heterojen gruplar yerini almıştır. Ökaryotlar (*Eucaryotae*) içinde ise *protozoan*'lar, algler ve funguslar toplanmıştır (Tayar ve Dokuzlu 2007, Tunail 2009). Genel olarak bitki ve memeli hücrelerini andıran hücreler ökaryotik hücre; (alg, protozoan, mantar, maya) daha ilkel yapıdaki hücreler ise prokaryotik hücre olarak tanımlanmaktadır. Prokaryot ve ökaryotlar arasındaki farklar Çizelge 2.4'de özetlenmiştir (Tayar ve Dokuzlu 2007).

Çizelge 2.4. Prokaryot ve ökaryotlar arasındaki farklar (Tayar ve Dokuzlu 2007)

Özellik	Prokaryot	Ökaryot
Organizma	Bakteriler ve siyanobakterler	Protistler, gerçek mantarlar, bitkiler ve hayvanlar
Hücre Boyutları	Küçük genellikle 1-10µm	Büyük genellikle 10-100 µm
Metabolizma	Oksijenli veya oksijensiz	Oksijenli
Hücre Duvarları	Özel şeker veya peptidler	Selüloz veya kitin, ancak hayvanlarda yok
Üreme	İkiye bölünme	Mitoz veya mayoz
Hüresel Örgütlenme	Çoğunlukla tek hücreler	Genellikle çok hücreli, hücre farklılaşması gözlenir.

Mycobiota veya *Fungi* (Funguslar) âlemi içerisinde temel olarak üç grup; *Zygomycota* (*Zygomycetes*), *Ascomycota* (*Ascomycetes*), *Basidiomycota* (*Basidiomycetes*) bulunur (Tunail 2009).

Mikrobiyel yağ üretiminde kullanılabilecek birçok yağlı mikroorganizma türü bulunmaktadır. Genel olarak ökaryot mikroorganizmaların yağ üretme yeteneği prokaryot mikroorganizmalara göre daha fazladır. Bununla birlikte bütün ökaryot mikroorganizmalar yağ üretme yeteneğine sahip değildir (Ratledge 1993, Denli ve Tekin 2000, Ratledge 2004).

Funguslar 10 karbondan 24 karbona kadar doymuş ve doymamış düz zincirli yağ asitlerini sentezleyebilmektedir (Pinkart vd 1998, Denli ve Tekin 2000, Aidil vd 2005). Palmitik asit en fazla bulunan doymuş yağ asidi iken, en çok bulunan monoen yağ asidi oleik asittir. Linoleik asit ise en yaygın çoklu doymamış yağ asididir. Bunun yanında küfler özellikle ω -3 ve ω -6 doymamış yağ asitlerini üretebilmektedir. Küflerden bir kısmı ALA üretirken, bazıları ise ticari öneme sahip GLA üretebilmektedir (Hiruta vd 1996a, Hiruta vd 1996b, Denli ve Tekin 2000, Aidil vd 2005). *Mucor sp.* türüne ait küfler toplam yağ asitleri içerisinde %20 ila %30 oranlarında, yüksek düzeylerde GLA üretmektedir. *Mortierella sp.* türleri ise yüksek şeker düzeylerinde (200 g/L) gelişebilmekte ve oldukça fazla yağ oluşumu gerçekleştirmektedir (30 g/L). Ürettikleri yağda ise GLA düzeyi %6 ila %8 arasında değişmektedir (Hiruta vd 1996a). *Mortierella alpina* kuru biyokütlede %40 (w/w) oranına kadar yağ üretebilmekte, ürettiği yağda ise ARA düzeyi %40 seviyelerine kadar ulaşabilmektedir. Yine bu küf karbonhidrat (glikoz) kaynaklarını olduğu kadar düşük değerli (ayçiçeği yağı gibi) yağları da

biyotransformasyonla daha değerli olan ARA'ya çevirebilmektedir (Wynn ve Ratledge 2000). ARA üreten bir fungus olan *Mortierella alpina* 1S-4'ün de aynı zamanda ticari olarak öneme sahip dihomogamma-linolenik asit (DHGLA), ARA ve EPA gibi çoklu doymamış yağ asitlerini ürettiği de bildirilmektedir (Takeno vd 2005). Funguslarda trigliserid oranı tüm lipitlerin %80 civarında bölümünü teşkil etmektedir (Pillai vd 1998).

Genel olarak bakıldığında mayaların kimyasal bileşimi, cinslerine ve kültür şartlarına göre değişebilmekle birlikte yaklaşık olarak %46–47 protein, %1–2 yağ, %35–36 karbonhidrat ve %16–17 kül, selüloz vb. içermektedir. Yağlı mayalar ise gerek yağ asidi profili, gerekse yağ asitlerinin gliseritlerdeki dağılımları açısından bitki lipitlerine çok benzemektedir (Denli ve Tekin 2000). Bazı maya türleri kuru maddelerinin %50'sinden fazlasını yağ olarak depolayabilmektedir (Hsiao vd 1994, Nojima vd 1995, Denli ve Tekin 2000, Akpınar Bayizit ve Özcan Yılsay 2004, Kimura vd 2004). *Candida*, *Lipomyces*, *Rhodotorula*, *Trichosporon*, *Fusarium* ve *Mucor* gibi türler bunlara örnek olarak verilebilir (Hsiao vd 1994, Nojima vd 1995, Denli ve Tekin 2000, Akpınar Bayizit ve Özcan Yılsay 2004, Aidil vd 2005). Özellikle *Rhodotorula glutinis* gibi mayaların %70'ler civarında yağ üretebilmesi (Hatzinikolaou vd 1999), mayaların yemeklik yağ üretimine oldukça uygun mikroorganizmalar olduğunu göstermektedir. Diğer taraftan, maya lipitlerinin linolenik asit içeriği de oldukça düşüktür (Denli ve Tekin 2000). Yağlı mayalarda, oleik asit (18:1) ve linoleik asit (18:2), palmitik (16:0) ya da palmitoleik (16:1) asitle birlikte en sık bulunan yağ asitleridir. 18:3 n-3 izomer miktarı %10'dan daha azdır. Sadece fungi ve mikroalglerde çoklu doymamış yağ asitlerinin oranı %20'nin üzerine çıkmaktadır. Ticari üretim göz önüne alındığında istenen çoklu doymamış yağ asitlerini fazla miktarlarda içeren triaçilgliseroller üreten fungi ve mikroalgler bu yüzden daha çok ilgi çekmiştir (Hiruta vd 1996b, Ratledge 2004). Yapılan çalışmalar mayaların yağ üretiminin özellikle C/N oranına bağlı olduğunu göstermiştir (Karapınar 1984, Hsiao vd 1994, Denli ve Tekin 2000, Muniglia vd 2004, Aidil vd 2005).

Yapılan çalışmalarda arzulanan çoklu doymamış yağ asidini zenginleştirme çabalarının, daima toplam yağ oranlarını düşürdüğü belirlenmiştir (Denli ve Tekin

2000, Papanikolaou vd 2004). Genel bir özellik olarak yağlı alçak fungusların (*Zygomycetes*) GLA içeriği yüksek lipit üreten suşlarının ürettikleri toplam yağ miktarı düşük, düşük GLA içeriğine sahip lipit üretenlerin ise ürettikleri toplam yağ miktarı yüksek olmaktadır (Papanikolaou vd 2004).

Yağ kaynağı olarak algler ve bakteriler de kullanılmaktadır. Algler alginat ve kaeregenan gibi polisakkaritleri üretebilmeleri nedeniyle gıda kaynağı olarak kullanılmaktadır. Diğer mikroorganizmalar gibi, biyokütlelerinden yüksek yağ elde edilebilmesine rağmen kolaylıkla kontamine olabildiklerinden, alglerle steril şartlar altında çalışılması oldukça güçtür. Algler tarafından üretilen lipitler oldukça çeşitlilik göstermektedir (Denli ve Tekin 2000). Bununla birlikte alg lipitlerinin özellikle çoklu doymamış yağ asitlerince zengin oldukları bilinmektedir (Denli ve Tekin 2000, Bigogno vd 2002). Tatlı su alglerinin yağ asidi dağılımları, genel olarak bitki lipitlerinininkine benzemektedir. Bu türlerde 16 karbonlu yağ asidi oranı yüksek, 18 karbonlu yağ asidi oranı ise düşüktür. Ayrıca, 20 karbonlu yağ asidi sadece bazı alg türlerinde iz miktarda bulunmaktadır. Buna karşılık deniz algleri 20 karbonlu yağ asitlerince zengindir. Ölü deniz gibi yüksek oranda tuz içeren ortamlarda yaşayan deniz alglerinin lipitlerinde ARA ve EPA en yaygın yağ asitleri olarak tespit edilmişlerdir (Denli ve Tekin 2000).

Bakteriler en basit ve en küçük mikrobiyel hücrelerdir (Denli ve Tekin 2000). Yağ üretimleri düşük olan bakterilerin çok azı arzulanan oranda trigliserid sentezleyebilmektedir (Ratledge 1993, Ratledge 2004, Wältermann ve Steinbüchel 2000). Bugüne kadar bu durumun gözlemlendiği, *Mycobacterium*, *Streptomyces*, *Acinetobacter*, *Nocardia* ve *Rhodococcus* cinslerine ait olan az sayıda bakteri türü tanımlanmıştır (Wältermann ve Steinbüchel 2000).

Geniş bir aralıkta yer alan çoklu doymamış yağ asitleri mikroorganizmalar tarafından sentezlenebilmektedir. Konu ile ilgili yapılan pek çok çalışmada küfler baskın olarak kullanılmaktadır. Fakat algler de önemli bir potansiyele sahiptir. Hatta bazı bakteriler bile çoklu doymamış yağ asitleri üreticisi olarak kullanılmaktadır. Sadece mayalar çoklu doymamış yağ asitlerini üretme bakımından bir potansiyele sahip değildir (Ratledge 1993).

2.2.2. Mikrobiyel yağ üretiminde uygun substrat seçimi

Mikroorganizmaların üreme ve gelişmelerinde ilk ve en önemli koşul ortamda kullanılabilir karbon ve azot kaynağının bulunmasıdır. Karbon kaynağı, yeni hücrel maddelerin oluşumu için gerekli enerjiyi ve karbon iskeletlerinin oluşmasını sağlarken; azot, protein, nükleik asit ve enzimlerin temel taşıını oluşturmaktadır (Karapınar 1984, Akpınar Bayizit ve Özcan Yılsay 2004). Karbon kaynağı olarak genellikle glikoz kullanılmasına rağmen, pentoz ve laktozun da bu amaç için uygun olabileceği bildirilmektedir (Denli ve Tekin 2000, Ratledge 2004). Tek Hücre Proteini ve Tek Hücre Yağı üretiminde kullanılan substratlar genel olarak karbonhidratlar, hidrokarbonlar ve kısa zincirli alkollerden oluşmaktadır. Hububat sap ve samanları ile hububat kepekleri, şeker melası ve küspesi, meyve ve sebze artıkları, sülfite likörü, peyniraltı suyu, nişasta artıkları ve yağ sanayi artıkları gibi tarımsal ve gıda endüstrisi artıkları veya yan ürünleri karbonhidrat içerikli substratları oluşturmaktadır (Karapınar 1984, Hsiao vd 1994, Akpınar Bayizit ve Özcan Yılsay 2004, Papanikolaou vd 2004). Bundan başka ucuz ve bol bulunan pirinç kepeği, tatlı patates artıkları, mısır koçanı içindeki nişasta ve selülozik maddeler de bu anlamda mikroorganizma gelişimi ve metabolitlerinin üretimi için kullanılan yeni kaynaklardır (Jang ve Yang 2008).

2.2.3. Mikrobiyel yağ üretiminde hücre metabolizması

Mikroorganizmalarda yağ sentezlenmesi sırasında gözlenen olaylar şu şekilde gerçekleşmektedir:

- Hücre içinde, maksimum oksijen isteğine ulaşmadan ve kullanılabilir azot bitmeden önce çok az yağ oluşmaktadır,
- Yağ asidi kompozisyonu zaman içinde değişmektedir,
- Kullanılabilir karbon kaynağı zamana bağlı olarak lineer şekilde azalmaktadır,
- Maksimum oksijen isteğine kullanılabilir azot bitmeden hemen önce ulaşılmaktadır. Bu noktada CO₂ üretiminde azalma gözlenmektedir (Akpınar Bayizit ve Özcan Yılsay 2004).

Esasen mikrobiyel yağ üretimi iki aşamalı bir işlemdir. Birinci aşamada hücrelerin gelişimi için gerekli bütün besin elementleri ortamda bulunduğu için, dengeli bir gelişme söz konusudur. Ortamda seçilen besin elementi tükendiği zaman bu aşama sona ermekte ve yağ üretim aşaması veya **“lipogenik faz”** başlamaktadır. Bu safha, ya ortamda bulunan karbon kaynağı tükeninceye veya yağ üretimi için gerekli diğer besin elementleri hücreler tarafından tamamen kullanılıncaya kadar devam etmektedir. Eğer bu besin elementleri ortama tekrar ilave edilirse, lipogenik faz tekrar başlamakta ve kütleden oldukça yüksek yağ verimi elde edilebilmektedir. Bazı durumlarda maya ve küf biyokütlelerinden bu yolla %70'in üzerinde yağ elde edilebileceği belirtilmiştir (Ratledge 1993, Denli ve Tekin 2000).

Besin elementleri içerisinde önem sırası itibariyle karbondan sonra gelen azot, canlı yaşamının temel taşı oluşturulan proteinlerin, nükleik asitlerin ve enzimlerin yapısındaki temel elementtir (Karapınar 1984). Substratta bulunan karbon/azot oranının (C/N) yükselmesiyle birlikte metabolizma yağ sentezine yönelir. Mikroorganizmalarda yağ birikimi, üreme durduktan sonra ve karbon dışında bir elementin, özellikle azotun bazen de fosfor veya magnezyumun tüketilip sınırlanmasıyla gerçekleşmektedir (Karapınar 1984, Certik ve Shimizu 1999, Wältermann ve Steinbüchel 2000, Ratledge 2004, Aidil vd 2005). Kısacası yağlı mikroorganizmalarda lipit üretiminin başlaması için gelişme ortamında bulunan primer besin elementlerinin tükenmesi gerekmektedir. Bu durum özellikle ortamda, NH^4 durumunda bulunan azotun bitmesiyle ilişkilidir (Denli ve Tekin 2000, Ratledge 2004). Protein ve nükleik asit sentezi için esansiyel olan azotun ortamda tükenmesi; hücre gelişimini sınırlayacak, buna karşılık ortamda bulunan karbon, hücreler tarafından asimile edilmeye devam edilecektir. Hücreler, alınan bu karbonu önce yağ asitlerine, daha sonra da trigliseritlere sentezleyebilmektedir (Denli ve Tekin 2000, Ratledge 2004). Bunların yanında substrat içinde yer alan üçüncü grup besin elementi mineral maddelerdir. Bu grup; potasyum, kükürt, fosfor, magnezyum, kalsiyum, demir gibi makroelementler ile çinko, bakır, kobalt, manganez ve molibden gibi iz elementlerden oluşmaktadır. Mineral maddelerin büyük bir bölümü ya enzim aktivatörü olarak işlev görmekte, ya da hücre enzimlerinin veya hücrenin bizzat yapısında bulunmaktadır (Karapınar 1984). Metal iyonları da çeşitli enzimler için kofaktörlerdir. Karbon ve azot kaynaklarına ilaveten mineraller ve metal iyonlarının

fermentasyonda bulunması hayati rol oynamaktadır (Kumar ve Gomes 2004).

2.2.3.1. Mikroorganizmalarda yağ asitlerinin sentezi

Mikroorganizmalarda uzun zincirli yağ asitlerinin sentezini *Asil-CoA sintitaz multi-enzim-kompleksi (mEnzK)* gerçekleştirmektedir. Sentezin giriş maddesi, glukolitik yolda piruvattan *Piruvat dehidrogenaz* multi-enzim-kompleksi tarafından oluşturulan asetil-CoA'dır. Asetil-CoA öncelikle *Asetil-CoA karboksilaz* enzimi ile malonil-CoA'ya dönüşmektedir. Enzim ATP enerjisini kullanarak koenzimi olan karboksi-biotinin yardımıyla CO₂'i asetat köküne eklemekte ve malonil-CoA'da karbon sayısını 3'e çıkarmaktadır. *Asil-CoA sintitaz* multi-enzim-kompleksi çok sayıda alt üniteden oluşmuştur ve iki adet tiyol (-SH) grubuna sahiptir. -SH gruplarından birisi kondansasyon (yoğunlaşma) enzimi olarak bilinen bir protein alt ünitesinin sisteinine ait yan gruptur. Diğeri ise merkezi tiyol grubu olarak anılan ve başka bir proteinin prostetik grubu olan fosfopanteteine aittir (Tunail 2009).

Reaksiyon asetil-CoA'da bulunan asetil kökünün, kondansasyon enziminin içerdiği sistein yan zincirinde bulunan -SH grubu üzerine taşınması ile başlamaktadır. Malonil kökü de enzime bağlı fosfopanteteine ait olan ve merkezî tiyol grubu üzerine taşınmaktadır. Malonil kökteki dekarboksilasyonla birlikte, asetil kökünün merkezî tiyol grubunda yer alan malonil kökünün reaksiyonca çok aktif olan -CH₂ grubuna taşınması (kondansasyonu) sonucu β-ketoasidi meydana gelmektedir. Böylece merkezî tiyol grubundaki C sayısı iki birim uzamaktadır. Bundan sonra ardışık iki redüksiyon gerçekleşmektedir. NADPH'ın hidrojenlerini üzerine alan β-ketoasidi, β-hidroksibütiril köküne dönüşmekte ve 1 mol H₂O çıkışıyla krotonil kök haline çevrilmektedir. İkinci bir indirgenme ile bütiril köküne dönüşen bileşik hâlâ enzim kompleksi üzerindedir. Birinci döngünün tamamlanmasıyla uzayan asil kökü (bütiril kök) sonunda mEnzK'nin ilk tiyol grubuna geri taşınmakta ve merkezî tiyol grubu serbest kalarak tekrar bir mol malonil kökü üzerine almaktadır. Reaksiyonlar yeniden başlayarak devam etmekte ve her döngüden sonra merkezî tiyol grubu üzerindeki yağ asidi 2 C ünitesi uzamayı sürdürmektedir. Sonunda zincir uzunluğu 16 veya 18 C'a ulaştığında uzun zincirli asil kökü CoA-SH üzerine taşınmakta ve aktif yağ asidi serbest hale geçmektedir (Tunail

2009).

Uzun zincirli yağ asitlerinin sentezinde hem enerjiye hem de fazla miktarda indirgeyici güce (NADPH) gereksinilir. Sentezde ard arda gerçekleşen indirgenmelerden ilkinde NADPH, ikincisinde FMNH₂ kullanılmaktadır. Ancak FMN'in redüksiyonu için de 1 mol NADPH görev yaptığından PP yolunda üretilen ve β-oksidasyon döngüsüne hizmet eden NADPH'ların önemi daha iyi anlaşılır. Nötral yağlarda daha fazla palmitik asit ve stearik asidin yer almasının nedeni, β-oksidasyon yolunda daha fazla uzun zincirli yağ asitlerinin ortaya çıkmasındandır. Yağ asitlerinin sentezinde bütün reaksiyonlar multi-enzim kompleksi üzerinde gerçekleşmekte ve yağ asidi sentezleri, enzim üzerinde asetat köklerinin indirgenmeleri ve kondansasyonları olarak özetlenebilmektedir (Tunail 2009).

2.2.3.2. Mikroorganizmalarda lipitlerin sentezi

Bakterilerde bulunan ve önem taşıyan kompleks lipitler, membran yapısına giren fosfolipitlerdir. Ayrıca mikroorganizmaların bir kısmı lipitleri depo maddesi olarak da biriktirmektedir. Fosfolipitlerde en fazla rastlanan yağ asitleri miristik asit (C₁₄H₂₈O₂), palmitik (C₁₆H₃₂O₂), stearik (C₁₈H₃₆O₂) asitler olup bunlar doymuş yağ asitleridir. Ender olarak da oleik asit (C₁₈H₃₄O₂) gibi az doymamış yağ asitlerine rastlanmaktadır. Aktif yağ asitleri doğrudan gliserol ile birleşmemekte, gliserolün fosfatlanmış formu gerekmektedir. Katabolizmada oluşan dihidroksiasetonfosfatın redüksiyonu ile oluşan 3-P-gliserol, 1. C atomundan bir mol aktif yağ asidi ile reaksiyona girebileceği gibi 1. ve 2. C atomlarından iki mol yağ asidine bağlanarak sırasıyla monoasil-gliserolfosfat ve diasil-gliserolfosfat (monogliserit ve digliserit) gibi lipitleri oluşturmaktadır. Monoasil veya diasil-gliserol-fosfat, fosfat üzerinden etanolaminle esterleşirse prokaryotlarda en sık rastlanan fosfolipit (fosfatidil-etanolamin veya kolamin-kefalin) meydana gelmektedir. Fosfatın gliserole karşıt tarafından başka bileşiklerle (inozit, serin, gliserol vb.) ester bağı oluşturması, başka fosfolipitlerin (fosfatitlerin) sentezini olanaklı kılmaktadır. Digliserit-fosfat, *Fosfataz* enzimi ile defosforilize olur ve tekrar bir mol asil-CoA ile reaksiyona girerse nötral yağlar oluşmakta ve bunlar hücrede depo yağları olarak bulunmaktadır (Tunail 2009).

2.2.3.3. Yağlı mikroorganizmalarda yağ asitlerinin sentezi

Tek Hücre Yağı üretim proseslerinin geliştirilebilmesi için mikroorganizmaların yağ asitlerini nasıl sentezlediği ve nasıl bu kadar fazla miktarda yağ retebildiklerinin iyi anlaşılması kritik bir konudur. Kimi mikroorganizmalarda kuru biyokütlede yağ miktarı %70'in üzerine çıkabilmektedir. Bunun yanında üretilen yağ bitkilerde olduğu gibi neredeyse her zaman triaçilgliserol formundadır. Bu bakımdan yağ asitleri sentezinde ve birikiminde etkisi olan anahtar enzimlere ait genetik kodların tanımlanması gerekmektedir. Bu da, mikroorganizmaların ürettikleri yağ miktarının ve/veya önemli çoklu doymamış yağ asitleri içeriğinin arttırılması yönünde düzenlemeler yapılabilmesine olanak sağlamaktadır. Günümüzde artık mikrobiyel yağın çoklu doymamış yağ üretimi ile ilgili olarak değeri anlaşılmış olsa da, bu yağ asitlerini bitkisel kaynaklardan daha ucuz yollarla elde etmenin yolu önümüzdeki süreçte muhtemelen bulunabilecektir. Bununla birlikte henüz hiçbir bitki 18 karbondan (C18) daha uzun zincir yapısına sahip çoklu doymamış yağ asidini üretme yeteneğine sahip değildir. Bu nedenle bitkilerde bu amaca ulaşabilmek için genetik manipülasyon şarttır. Fakat genetik olarak düzenlenmiş bitkilere karşı olan tüketicisi tepkisinin; ilerde üretilebileceği varsayılan, genetik modifiye (GM) yağlara da gösterilebilmesi kuvvetle muhtemel görünmektedir (Ratledge 2004).

Bütün canlı organizmaların hücre membranlarının, minimum düzeylerde de olsa birçok yapısal ve fonksiyonel rollerinden dolayı lipit sentezlemeleri gerekmektedir. Fakat nispeten az sayıda mikroorganizma türü kuru hücre ağırlıklarının %20'sinden fazlasını teşkil eden oranlarda, fonksiyonu rezerve depo materyali olan lipit biriktirebilmektedir. Bakteriler genel olarak triaçilgliserol üretememekte; fakat bunun yerine depo polimerleri olarak poli-β-hidroksi-btiratları ve -alkanaoatları üretmektedir. Yağ biriktirilmesi sadece, **“yağlı türler”** olarak adlandırılan bazı mayalar ve funguslar ile az sayıda alglerde meydana gelmektedir (Ratledge 2004, Ward ve Singh 2005).

Yağ asidi sentezi, asetil-CoA ve malonil-CoA prekürsörlerinden **“yağ asidi sintitaz”** (FAS) olarak adlandırılan enzim sisteminin etkisi sayesinde gerçekleştirilmektedir. Yağ asidi sentez aşaması lipogenezis prosesinin en önemli kısmı

olup glikolizis ile birlikte canlı organizmalarda kan şekerinden yağ oluşturulmasının arkasındaki önemli metabolik olaylardır.

İlk bakışta yağ asidi biyosentetik yolu birçok yağlı mikroorganizmada, yağlı olmayan türlerle aynı görünmektedir. Ancak bununla birlikte yağlı ve yağlı olmayan mikroorganizmalar arasında kritik bazı farklılıklar bulunmaktadır (Ratledge 2004).

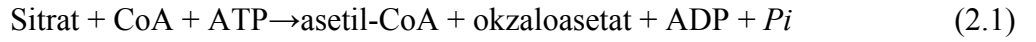
Bir mikroorganizmada lipit birikiminin gerçekleşebilmesi için karbon substratının aşırı fazla ve azotun da (bazen diğer besin elementleri de kısıtlanabilmekle birlikte genellikle azot alışılacığı olanıdır) sınırlı miktarda olduğu besi ortamında gelişmesi gerekmektedir. Böylece organizma gelişirken, azot miktarını hızlı bir şekilde azaltmakta; fakat karbon kaynağını (genellikle glikoz ya da farklı bir alternatif karbonhidrat kaynağı) sindirmeye devam etmektedir. Bu şekilde daha sonra hücre metabolizması direk olarak lipit sentezi içine kanalize edilerek hücre içerisinde birbirinden ayrı yağ damlacıkları şeklinde triaçilgliserol oluşumu gözlenmektedir. Hücre içinde yağ birikimi kimi mikroorganizmalarda %70 düzeylerine kadar çıkabilmekle birlikte her yağlı mikroorganizma için bu geçerli değildir. Yağlı olmayan türlerde ise hiç yağ birikimi gerçekleştirilmez. Yağlı olmayan mikroorganizmalar sınırlanmış azot olan aynı besi ortamında geliştirildiklerinde ya daha fazla hücre çoğalmasını durdurma eğilimine girerler ya da eğer kullanılabilir mevcut karbonhidrat substratını sindirmeye devam edebiliyorlarsa bu defa bu karbonhidratı glikojen ve değişik glukanlar, mannanlar, vb. içeren değişik farklı karbonhidratlara çevirmektedir. Yağ birikimi çok düşük bir düzeyin (genellikle biyokütlenin %10'undan az) üstüne çıkamaz (Fidler vd 1999, Ratledge 2004).

Bir mikroorganizmanın büyük miktarlarda yağ biriktirme yeteneğine sahip olması için bilinen yağ asidi biyosentez mekanizmasının dışında farklılıklarının olması gerekmektedir. Bir mikroorganizmanın yağlı olmasının iki ana sebebi vardır:

- Yağ asidi sintitaz enzim sisteminde gerekli başlangıç prekürsörü olan asetil-CoA'nın direk olarak hücre sitozolü içinde ve sürekli üretiminin sağlanabilmesi yeteneği,

- Yağ asidi biyosentezinde kullanılan temel indirgeyici olarak NADPH'nin yeterli üretiminin sağlanabilmesi yeteneği (Ratledge 2004).

Yağlı mikroorganizmalarda asetil-CoA'nın sürekli üretimi, yağlı olmayan türlerde genel olarak bulunmayan, ATP:sitrat liyaz (ACL, reaksiyon 2.1) varlığına dayandırılmaktadır:



Substratların efektif bir şekilde işletilebilmesi için sitrik asit yağ asidi sentezinin gerçekleştiği hücre sitozolünde sürekli hazır bulunmalıdır (Fidler vd 1999, Kavadia vd 2001, Ratledge 2004).

Sitrik asit hücre mitokondrisi içerisinde trikarboksilik asit (TCA) döngüsünün parçası olarak sentezlenir. Yağlı mikroorganizmalarda benzersiz olan özellik, sitrik asit birikimine imkân veren, TCA çevriminin bir bileşeni olarak izositrat dehidrogenaz aktivitesinin varlığıdır. Bu da AMP varlığına bağlıdır. Yağlı olmayan mikroorganizmalardaki enzimlerde böyle bir bağımlılık yoktur. AMP konsantrasyonu, AMP deaminaz aktivitesiyle kendiliğinden düzenlenmektedir (reaksiyon 2.2):



Yağlı mikroorganizmalarda besi ortamındaki azotun sınırlanmaya başlamasıyla bu enzimin aktivitesi yükseltılarak yeniden düzenlenmekte ve bu yolla hücre içi materyallerden işe yarar durumdaki ilave amonyum iyonlarını toplamaya çalışmaktadır (Ratledge 2004).

Yağlı mikroorganizmaların geliştirilmelerinde azotun tükenmeye başlaması asetil-CoA oluşumuna yol açan birçok reaksiyonlar dizisini indüklemektedir. Bunlar:

- Azotun tükenmeye başladığı anda yağlı hücreler AMP deaminaz aktivitesinde

bir artış göstermektedir. Hücrelerdeki bu artış, azotun sınırlanmasından önceki düzeyinden 5 kat daha fazladır.

- Artırılmış AMP deaminaz aktivitesi, mitokondri içerisindeki AMP içeriğini de kapsayan tüm hücre içi AMP içeriğini azaltmaktadır.
- Mitokondrideki azaltılmış AMP içeriği yağlı mikroorganizmalar çalışırken izositrat dehidrogenazı durdurmaktadır. Bu enzim aktivitesi kesin olarak AMP'ye bağlıdır.
- Sonuç olarak izositrat metabolize olamamakta, dolayısı ile birikmekte ve sonra sitrik asit ile hemen dengelenmekte (azonitaz üzerinden) ve sitrat mitokondride birikmektedir.
- Mitokondri membranında sitrati dışarı taşımak için yeterli bir sitrat akış sistemi mevcuttur (malat'a karşılık olarak).
- Sitrat sitozolden içeri girmekte ve ACL vasıtasıyla bölünürerek asetil-CoA ve okzaloasetat vermektedir.
- Asetil-CoA da yağ asidi biyosentezi için kullanılmaktadır.
- Okzaloasetat, malat dehidrogenaz vasıtasıyla malat'a çevrilmektedir. Daha sonra bu da, sitrat akış sisteminde konteryon (counterion) olarak kullanılmaktadır (Ratledge 2004).

Glikozun, asetil-CoA'ya doğru olan bu metabolizması, sınırlanmış azot şartlarında karbon substratının yağ asidi biyosentezine bu şekilde dönüşümünün kısmen açıklaması olsa da, metabolizmanın tamamının açıklanması daha karmaşık reaksiyonlarla olabilmektedir. Bazı mikroorganizmalar hücrelerinde lipit biriktirememelerine karşın ACL aktivitesinde bulunmaktadır. Ancak yağ biriktirebilen hiçbir mikroorganizmanın ACL aktivitesine sahip olmadığı henüz bildirilmemiştir. Lipit birikiminin sağlanması için bazı diğer enzimler de gereklidir (Ratledge 2004, Ward ve Singh 2005).

Yağ asitleri yüksek düzeyde indirgenmiş materyaller olup sentezlerinin gerçekleşebilmesi için NADPH gibi bir indirgenin hazır bulunması ve sürekli tedarikinin sağlanması şarttır. 1 mol C18 sentezlenmesi için 16 mol NADPH gerekmektedir. Daha sonradan zincir uzatma döngüsüne girecek olan doymuş yağ açıl

zinciri oluşumunda standart yağ asidi sintitaz kompleksinin parçası olarak asetil-CoA ile malonil-CoA'nın her yoğunlaşma reaksiyonundan sonra ortaya çıkan her bir 3-keto-yağaçili (3-keto-fattyacyl) grubunun indirgenmesi için 2 mol NADPH gerekmektedir (Ratledge 2004, Ward ve Singh 2005).

Şekil 2.1'de yağlı mikroorganizmalarda "sitrat/malat" çevrimi ve sitozolik "transhidrogenaz" çevriminin lipogenezis için gerekli olan asetil-CoA ve NADPH prekürsörlerini yeterli düzeylerde nasıl sağladıklarını gösteren bir şeması verilmektedir. Çevrimlerde kullanılan enzimler rakamlarla gösterilmiştir. Bu enzimler: 1, piruvat dekarboksilaz; 2, malat dehidrogenaz; 3, malik enzim; 4, piruvat dehidrogenaz; 5, sitrat sintaz; 6, ATP:sitrat liyaz; 7, sitrat/malat translokazdır.

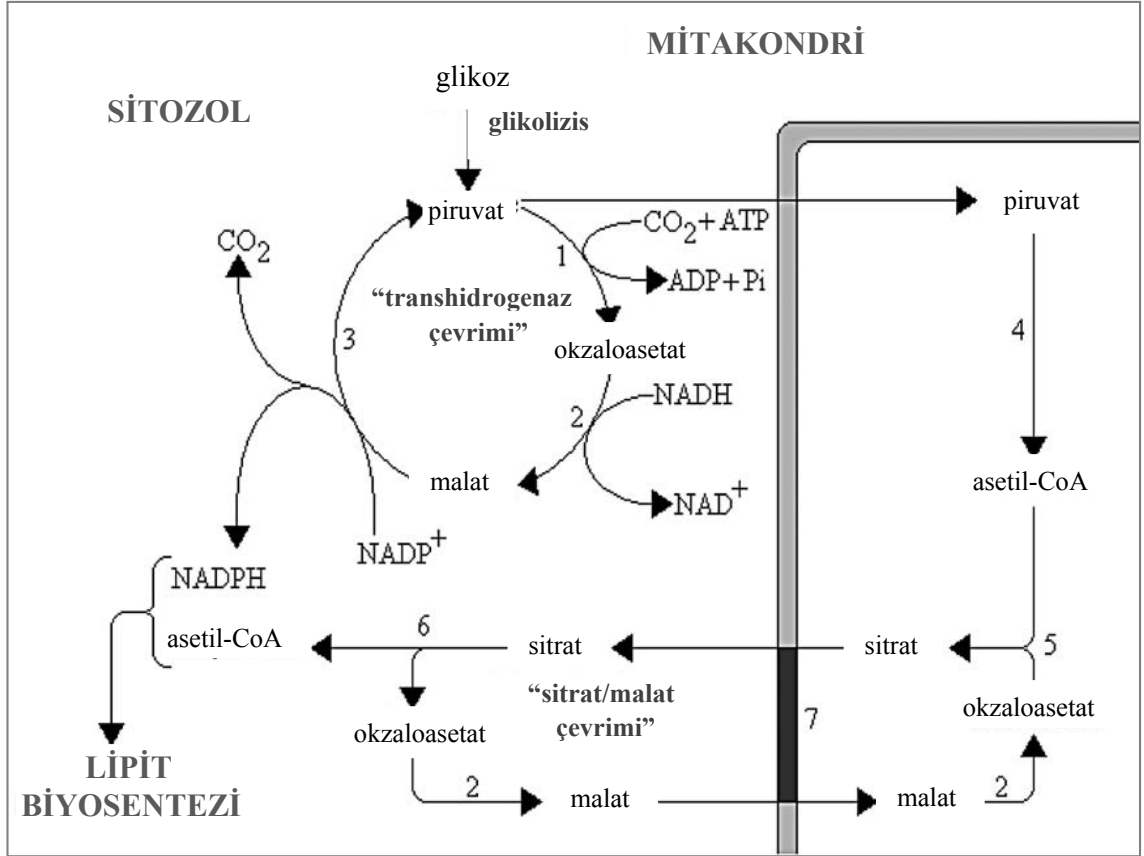
Net karbon balansı:



NADPH ürerimi için net reaksiyon:



Transhidrogenaz çevrimi mitakondri içindeki sitrattan sitozol içindeki asetil-CoA'ya olan karbon akışını bağımsız olarak işletebilmekte ve netice olarak hem yağ asidi biyosentezi hem de yağ asitlerinin zincir uzatma ve desaturasyon reaksiyonlarında gerekli olan bütün NADPH'yi sağlayabilmektedir (Şekil 2.1).



Şekil 2.1. Mikroorganizmalarda “transhidrogenaz” ve “sitrat/malat” çevrimleri

Yağ asidi biyosentezi için NADPH'nin majör sağlayıcısı olarak malik enzimin rol oynadığı belirtilmektedir (reaksiyon 2.5).



Malik enzim aktivitesi, çoğu yağlı mikroorganizmada bulunmaktadır. Malik enzimin, asetil-CoA'nın direk olarak, daha sonradan gliserolle triaçilgliserollere esterleşen yağ asitlerinin sentezine kanalize olmasını ve oluşan yağ asitlerinin endoplazmik rektikulum aracılığıyla yağ asidi damlacıkları içine katılımını sağlamak için, ACL ve yağ asidi sintitaz ile kombine olarak bir entegre metabolon kompleksi oluşturduğu ileri sürülmektedir (Ratledge 2004, Ward ve Singh 2005).

Bununla birlikte malik enzim aktivitesi bütün yağlı mikroorganizma türlerinde her zaman bulunmamaktadır (*Lipomyces* sp. ve bazı *Candida* sp. türlerini kapsayan kimi yağlı mayalarda bulunmayabilir). Yağ asidi metabolonu ile ilgili olarak işlevsel

bakımdan hemen hemen malik enzimle aynı şekilde, yağ asidi biyosentezinde görevi olan izositrat dehidrogenaz gibi başka bir sitozolik NADPH-bağımlı alternatif NADPH-üretici (enzim bulunması muhtemeldir. Aynı şekilde başka enzimlerin olma olasılığı da muhtemeldir. Genel yaklaşım yağlı mikroorganizmalarda çok sayıda enzim tarafından üretilen NADPH'nin genel bir havuzu olmadığıdır. Bunun yerine yağ asidi biyosentezi için, yağ asidi sentez mekanizması ile NADPH üretimine ait olan sistemin (örneğin malik enzim) bir entegrasyonunun olduğu ileri sürülmektedir. Sadece bu yolla kararlı bir triaçilgliserol birikimine ulaşılabileceği bildirilmektedir (Ratledge 2004, Ward ve Singh 2005).

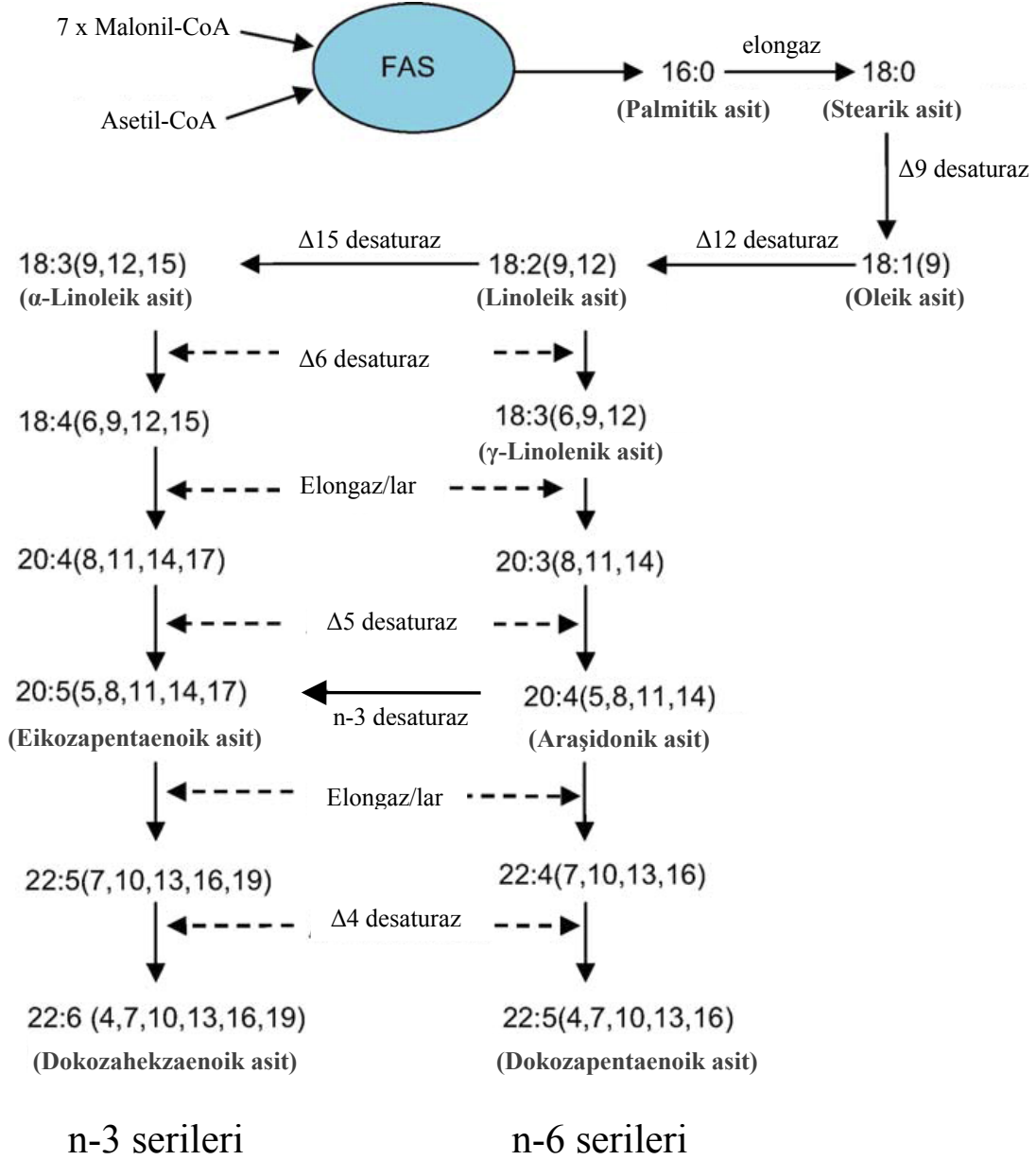
2.2.3.4. Yağlı mikroorganizmalarda çoklu doymamış yağ asitlerinin sentezi

Yağ asidi biyosentezi hemen hemen bütün organizmalarda C16 ya da C18 doymuş yağ asitlerinin oluşumuyla nihayetlenir. Bu yağ asitleri de sonradan bir dizi desaturaz ve elongaz enzimleri vasıtasıyla modifiye edilmekte ve böylece geniş bir doymamış ve çoklu doymamış yağ asitleri silsilesi üretilmektedir (Şekil 2.2). Üretilen yağ asitlerinin büyük miktarlarda olması, türlerin bireysel olarak genetik yapılanmalarına bağlıdır (Fidler vd 1999, Ratledge 2004, Ward ve Singh 2005).

Günümüzde gerçekleştirilen mikrobiyel yağ üretiminde hangi teknoloji kullanılırsa kullanılsın her durumda değişik çoklu doymamış yağ asitlerini içeren yağlar triaçilgliserol formundadır. Bu triaçilgliseroller fosfatik asit yoluyla yağ asitlerinden, müteakip defosforilasyonla bir diaçilgliserole ve bunu takip eden nihai bir açılasyon basamağı sonucu oluşurlar (Ratledge 2004, Ward ve Singh 2005).

Şekil 2.2'de yağ asitlerinin asetil-CoA ve malonil-CoA'dan (asetil-CoA'nın karboksilaz yolu ile asetil-CoA'dan oluşur) FAS (Fatty Acid Synthase) enzimler kompleksini kullanarak sentezi ve meydana gelen doymuş yağ asidi olan stearik asitten ard arda gelen bir seri desaturasyon ve zincir uzatma reaksiyonları sayesinde değişik çoklu doymamış yağ asitlerinin oluşumu görülmektedir. Yine, çoklu doymamış yağ asitlerine ait, metil grubunun olduğu uca en yakın en son çift bağın pozisyonuna bağlı olarak n-3 ve n-6 olmak üzere iki kategoriye ayrılan serileri görülmektedir. ARA

üretiminde kullanılan *Mortierella alpina* belirli şartlar altında EPA oluşturabilen $\Delta 17$ (n-3) desaturaza sahiptir. Dokozaheksaenoik asit (DHA) (n-6) üreten bazı organizmalarda da n-3 desaturaza benzer bir enzim bulunabilmesi mümkündür. Bu enzimle DPA, DHA'ya dönüştürülür (Ratledge 2004, Ward ve Singh 2005).



Şekil 2.2. Mikroorganizmalarda konvansiyonel yağ asidi sintitaz (fatty acid synthase-FAS) yolu kullanılarak çoklu doymamış yağ asitlerinin (PUFA) oluşum mekanizması (Ratledge 2004)

2.2.4. Mikrobiyel biyokütle ve/veya yağ üretimini etkileyen faktörler

Mikrobiyel yağ üretiminde bazı fermentasyon şartları üretilen yağ miktarı ve yağ asidi kompozisyonunu etkileyebilmektedir (Jang ve Yang 2008). Bu faktörler fermentasyon pH'sı, gelişme sıcaklığı, fermentasyon süresi ve çözülmüş oksijen miktarı olarak sıralanabilmektedir. Fermentasyon pH'sı ve gelişme sıcaklığı, Tek Hücre Proteini ve Tek Hücre Yağı üretimlerinde, mikroorganizmanın üremesini etkileyen kontrolü zorunlu iki faktördür (Karapınar 1984, Denli ve Tekin 2000). Bunun yanında ozmotik basınç ve su aktivitesi (a_w) ile CO₂ konsantrasyonu ve basınç da genel anlamda mikrobiyel gelişmeyi etkileyen faktörlerdendir.

2.2.4.1. Fermentasyon pH'sı

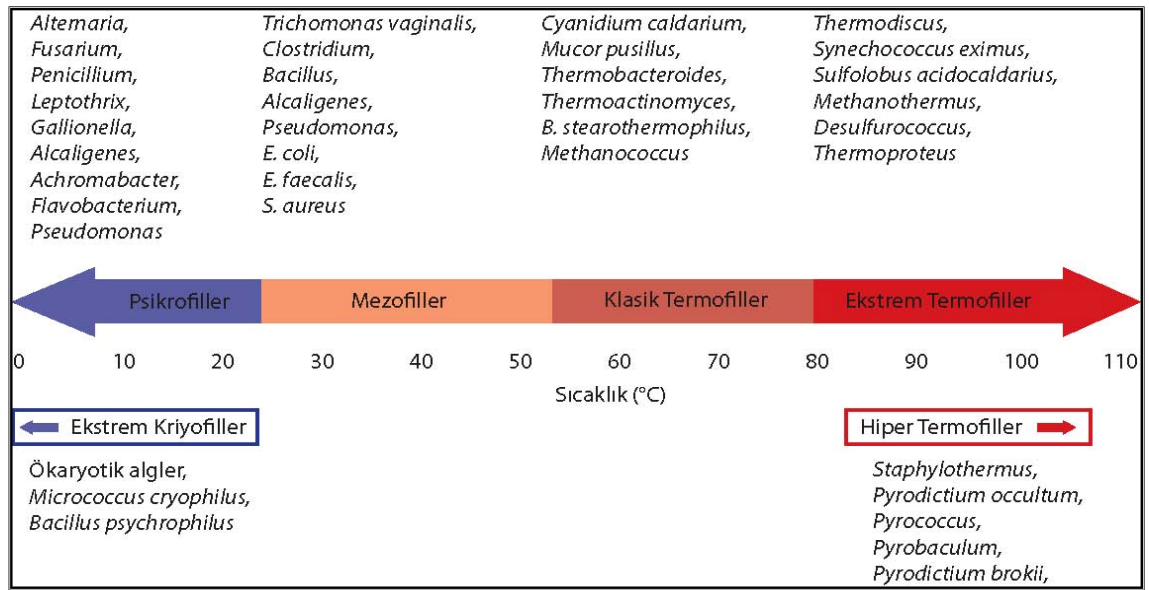
Mikroorganizmalar gelişmeleri için farklı pH derecelerini talep etmektedir. Mikroorganizmalar, geliştikleri pH aralığına bakılarak 3-4 grup içinde toplanabilmektedir. Optimum gelişmelerini; 1.0-5.5 pH arasında gerçekleştirenler **asidofiller**, pH 5.5-8.0 arasında sürdürenler **nötrofiller** olarak adlandırılmaktadır. Yüksek pH derecelerini (pH 8.5-10.0) tercih edenler **alkalofiller**, gelişmeleri için daha da yüksek pH derecelerini (pH 10.0-11.5) talep edenler ise **ekstrem alkalofiller** olarak isimlendirilmektedir (Tunail 2009).

Lactobacillus türlerinin, *Enterobacter*'lerin ve birçok *Pseudomonas*'ın kendi yaşamlarını tehlikeye atacak düzeyde asitlik geliştirdikleri bilinmektedir. Bu nedenle besiyerlerine **tampon maddeler** ilave edilerek aşırı asitliğin veya alkaliliğin önüne geçilmeye çalışılmaktadır. Tampon madde olarak en fazla fosfatların zayıf asitleri ve tuzları kullanılmaktadır (Madigan ve Martinko 2006).

Bakterilerin çoğu nötr veya alkali ortamda iyi gelişme gösterirken maya ve küflerin çoğu hafif asit ortamlarda (pH 4.5-6.0) en iyi şekilde gelişebilmektedir (Karapınar 1984).

2.2.4.2. Gelişme sıcaklığı

Mikroorganizmaların sıcaklık istekleri çok farklı olmakla birlikte genel olarak optimum gelişme için 0-55°C arasında değişen sıcaklıkların uygun olduğu bildirilmektedir. Mikroorganizmaları optimum gelişme sıcaklıklarına göre **psikrofil** veya **kriyofil**, **mezofil**, **termofil**, **ekstrem termofil**, **hiper termofil** olarak gruplandırmak mümkündür (Şekil 2.3). Genel olarak prokaryotlar ökaryotlara oranla daha yüksek sıcaklıklarda gelişebilmektedir (Shuler ve Kargi 2008).



Şekil 2.3. Çeşitli mikroorganizmaların geliştiği sıcaklık aralıkları (Tunail 2009)

Mikroorganizmaların gelişimleri ile ilgili minimum ve maksimum sıcaklık değerleri arasındaki aralığın, kaba bir genelleme ile 30°C civarındadır. Bununla beraber bazı türler daha dar, bazıları ise daha geniş bir aralıkta gelişim göstermektedir (Şekil 2.3). Dar aralığa sahip mikroorganizmalar **stenotermal**, geniş aralığa sahip olanlar ise **öritermal** olarak adlandırılmaktadır (Ertugay ve Certel 1995, Tunail 2009).

Tek Hücre Yağı üretimi açısından sıcaklığın yağ sentezi üzerine olan etkisi konusunda yapılan çalışmalar göstermiştir ki sıcaklık, biyokütle lipid kompozisyonunu etkileyen en önemli fiziksel faktördür (Karapınar 1984, Hiruta vd 1996a, Denli ve Tekin 2000, Aidil vd 2005). Funguslar optimum gelişme sıcaklıklarına göre mezofilik, psikrofilik, termofilik ve termo-tolerant olmak üzere dört gruba ayrılmaktadır. Yağ

üretimi bakımından bu dört grup arasında bir fark yoktur. Ancak mezofilik funguslar doymamış yağ asitlerince, termofiliklere göre daha zengindir. Ayrıca sıcaklık düştükçe doymamışlığın arttığı belirtilmiştir (Hiruta vd 1996a, Denli ve Tekin 2000, Aidil vd 2005). Düşük sıcaklıkta doymamışlığın artmasına gerekçe olarak, mikroorganizmanın düşük sıcaklık koşullarına adapte olma çabası kaynaklandığı belirtilmektedir. Örneğin *Mortierella alpina* IS-41 küfünün düşük sıcaklıklarda inkübasyonu sonucu, ARA'dan EPA üretiminde fonksiyonu olan $\Delta 15$ -desaturaz enziminin indüklendiği belirtilmiştir. Bu sayede hücre membran lipidlerinin doymamışlığını, dolayısıyla akışkanlığını da yükselterek düşük sıcaklıklara adapte olma eğilimi göstermektedir (Hiruta vd 1996a).

2.2.4.3. Fermentasyon süresi

Fermentasyon süresinin de oluşan mikrobiyel lipidlerin yağ asitleri kompozisyonu üzerine etkisi bulunmaktadır. Kimi türlerde hücresel lipidin yağ asidi kompozisyonu fermentasyon süresine bağlı olarak önemli ölçüde değişme göstermektedir (Papanikolaou vd 2004).

2.2.4.4. Çözünmüş oksijen miktarı

Bazı mikroorganizmalar gelişebilmeleri için havanın oksijenine ihtiyaç duyarken (**aerob mikroorganizmalar**), bir kısmı da ortamda oksijenin bulunmamasını ister (**anaerob mikroorganizmalar**). Aerob olanların bir bölümü mutlak olarak O₂'ye gereksinir. **Obligat** veya **zorunlu aerob** olarak tanımlanan bu mikroorganizmalar O₂'nin bulunmaması durumunda yaşamlarını sürdüremezler. Bazı aeroblar ise oksijensiz ortamda üreyebilseler de O₂ varlığında daha iyi bir gelişme gösterirler ve **fakültatif anaerob** olarak tanımlanırlar (Doran 1995, Madigan ve Martinko 2006).

Mikroorganizmaların gelişmelerine oksijenin çok önemli etkisi nedeniyle aerob ve anaerob mikroorganizmalarla çalışılırken onların üretim tekniklerinde farklı uygulamalara dikkat etmek gerekir. Aerob mikroorganizmaların yüksek hacimli kültürlerinde havanın besiyeri içine difüze olabilmesi için kültürün manyetik karıştırıcı

ile karıştırılması veya çalkalamalı inkübatörlerde çalkalanarak geliştirilmesi önerilir. Alternatif bir yöntem ise havanın kültür kabına steril bir filtreden geçirilerek verilmesidir. Bu yöntemde içeriye giren havanın besiyerinde homojen dağılımı yine mekanik karıştırıcılar ile sağlanır (Glazer ve Nikaido 2007, Shuler ve Kargi 2008).

Anaerobların geliştirilmesinde ise ortamdan oksijenin uzaklaştırılması gerekir. Eğer üretilecek anaerob kültür az miktarda ise sıvı veya katı besiyerine indirgeyici ajanlar (tiyoglikolat, sistein) katılarak oksijenin uzaklaştırılması sağlanır (Tunail 2009).

Aerobik mikroorganizmaların mevcut karbon kaynağını tam olarak kullanabilmeleri için ortamda yeterli miktarda oksijenin bulunması şarttır. Ortamdaki oksijen konsantrasyonu hücre yapısına, biyokütle verimine büyük ölçüde etkili olduğu için Tek Hücre Proteini ve Tek Hücre Yağı üretimlerinde fermentasyon boyunca ortama yeterli oksijenin sağlanması üretimin başarısı yönünden çok önemlidir (Karapınar 1984, Hiruta vd 1996b). Hücre gelişimi biyokütle 60 g/l düzeyinin üzerine çıktığında, oldukça yavaşlar, 100 g/l'nin üzerinde ise hemen hemen imkânsız hale gelir. Buna karşılık, lipit biyosentezi büyük oranda oksijene bağımlı değildir ve lipit üretebilen mayalar, kontrollü koşullarda 150 g/l yoğunluğuna kadar gelişebilirler. Bu nedenle oksijen de bir besin elementi olarak düşünülmeli ve hücre ölümlerini önlemek için fermentöre yeterli düzeyde oksijen verilmelidir (Denli ve Tekin 2000).

2.2.4.5. Ozmotik basınç ve su aktivitesi

Mikroorganizmaların fermentasyon ortamında optimum faaliyeti ve biyodönüşümü gerçekleştirebilmesi için, ortamın ozmotik basıncı ve iyon konsantrasyonu önemli olup, farklı mikroorganizma suşları için optimum iyon konsantrasyonu ve ozmotik basınç farklılık göstermektedir. Mikroorganizmaların buldukları ortamın ozmotik basıncı değeri hücre içi ozmotik basınç değerinden yüksek (hipertonik çözeltiler), düşük (hipotonik çözeltiler) veya eşdeğer (izotonik çözeltiler) olabilmektedir. Eğer mikroorganizma izotonik ortamda ise, gelişmesini diğer koşulların elverdiği ölçüde sürdürebilmektedir. Ancak hipotonik ortamlarda hücre içine doğru suyun akışı önlenemez ise hücre şişmeye başlamakta ve sonunda patlayarak

dağılabilmektedir. Aynı şekilde hücre hipertonic ortamda suyun hücreden kaçışını engelleyemiyorsa plazmoliz meydana gelmekte ve dehidrasyona dayanamayan hücrede membran zarar görebileceği gibi, hücreler de metabolik olarak durma noktasına geldiklerinden gelişme engellenmektedir. Bununla beraber çeşitli mikroorganizmalarda hücreyi ozmotik basınç etkisinden koruyan mekanizmaların varlığı ve gerektiğinde bunların devreye girdiği bilinmektedir. Hipotonik çözeltiler hücre duvarı bulunmayan bakteriler veya protoplastlar için ciddi tehlike oluşturup ozmotik şoka neden olurken, çoğu bakteri, fungus ve alg sağlam hücre duvarı yapısına sahiptir (Tunail 2009).

Bazı mikroorganizmalar ozmotik şoktan korunma davranışı olarak katı yüzeylere adsorbsiyonu geliştirmiş olup bu yolla hücre içine giren suyun miktarı azaltılmaktadır. Bütün mikroorganizmaların suya ihtiyacı olmakla beraber suya olan gereksinimleri farklıdır. Bir çözeltide veya katı ortamda (katı besiyeri, çeşitli substrat veya gıda maddelerinde) bulunan suyun oranı mikroorganizmanın gelişebilmesi açısından genel bir bilgi sunsa da, önemli olan ortamdaki serbest suyun miktarıdır. Ortamdaki bağlı olmayan suyu ifade etmek ve ortamları kıyaslayabilmek için **su aktivitesi (a_w)** değerinden yararlanılmaktadır (Ertugay ve Certel 1995).

Genel olarak mikroorganizmalar 0.988-0.600 arasındaki a_w değerlerinde gelişebilirler. Bakterilerin optimum olarak gelişebildikleri su aktivite değerleri ($a_w=0.98$) oldukça yüksektir.

Funguslar bakterilerle kıyaslandıklarında daha düşük a_w değerlerinde gelişebilmektedir. Birçok fungus optimum gelişmesi için daha yüksek a_w değerini talep etse de, $a_w=0.80-0.85$ değerlerinde de rahatlıkla spor çimlenmesi ve gelişme gösterebilmektedir. Ozmotolerant bir maya olan *Saccharomyces rouxii* şeker konsantrasyonu oldukça yüksek olan çözelti, şurup ve marmelatlarda ($a_w=0.60$) gelişebilir. Düşük a_w değerine sahip ortamda mikroorganizmanın gelişebilmesi çok fazla efor sarf etmesini gerektirmektedir. Bunun nedeni suyu hücreden kaçırmamak için, içerideki ozmotik basıncı yükseltebilmek amacıyla çeşitli maddeler sentezlemeye mecbur olmasıdır. Bunu başarabilen mikroorganizmalar **ozmotolerant** olarak tanımlanmaktadır. Bunlar a_w sınırları geniş bir aralıkta gelişme yeteneği göstermektedir.

Bakterilerden de halofil veya ekstrem halofil karakterli olanlar $a_w=0.75$ değerlerinde rahatlıkla gelişebilmektedir. Ancak çoğu bakteri bunu başaramamaktadır (Ertugay ve Certel 1995, Tunail 2009).

2.2.4.6. Karbondioksit

Bütün mikroorganizmaların az veya çok CO₂'e gereksinimleri bulunmaktadır. Kùltürün bulunduğu gaz atmosferindeki CO₂, KOH ile tutularak ortamdan çekildiği zaman hemen hemen bütün bakterilerin gelişiminde inhibisyon gör÷lmektedir. Ototrof mikroorganizmalar C asimilasyonu için yalnızca havanın CO₂'inden yararlandıkları için CO₂'e çok fazla ihtiyaç duymakta, CO₂ fiksasyonunu ribuloz-bi-fosfat (RuBP) yolu üzerinden gerçekleştirmektedir. Bu nedenle karbondioksitle zenginleştirilmiş hava veya gaz karışımları (hacim olarak %10 CO₂) gelişme ortamına sürekli verilerek bu bakterilerin gelişimleri sağlanmaktadır. Ototrofik bakterilerin besiyerlerine ayrıca sodyum bikarbonat (NaHCO₃) ilave edilmektedir. Besiyerine katılan NaHCO₃'ın yanı sıra besiyerinden bu gaz sürekli geçirilmektedir (Tunail 2009).

2.2.4.7. Basınç

Mikroorganizmalar yerkürede habitatlarına göre farklı atmosfer basıncı altında bulunmaktadır. Toprakta veya suyun yüzeyinde yaşayanlar 1 atmosfer basınç altında yaşamlarını sürdürürken, okyanusun veya denizlerin derinliklerinde bulunanlar hem soğukta (2-3°C) hem de su katmanlarının etkisiyle yüksek hidrostatik basınç altında yaşayabilmektedir. Derin sularda yaşayan amfipodlar (yengeç vb.) ile denizhiyari gibi omurgasız canlıların sindirim sistemlerinde yerleşik bazı bakteriler gerçek **barofilik bakteriler** olarak adlandırılmakta ve gelişebilmek için yüksek atmosfer basıncına ihtiyaç duymaktadır (Tunail 2009).

2.2.5. Mikrobiyel yağ üretiminde yağ verimi ve yağ bileşimi

Mikrobiyel yağ üretiminde elde edilen yağ ve yağ asitleri ile ilgili olarak sözü edilmesi gereken üç önemli kriter bulunmaktadır. Bunlar; üretkenlik (productivity:P),

verimlilik (yield:Y) ve kompozisyonudur (composition:Co).

$$P = \frac{[\text{hücre içi lipitler}]}{[\text{toplam biyokütle}] \times \text{zaman}}, \quad Y = \frac{[\text{hücre içi lipitlerdeki karbon}]}{[\text{toplam tüketilen karbon}]}, \quad Co = \frac{[\text{doymamış yağ asitleri}]}{[\text{toplam yağ asitleri}]}$$

Fermentasyonun son noktasının belirlenmesinde bu hesaplamalar kullanılmakta ve istenilen kritere göre P ya da Co değeri maksimum düzeye ulaştığında fermentasyona son verilmektedir (Muniglia vd 2004).

Optimal şartlar altında bir fermentörde, mikroorganizmalar 1 kg triaçilgliserid tipinde yağ üretebilmek için 5 kg fermente olabilir substrata gereksinim duymaktadırlar (Certik ve Shimizu 1999). Yapılan çalışmalarda, endüstriyel anlamda tek hücre yağı üretiminde fermentasyon işleminin uygulanabilir olmasının ön koşulu olarak, mikrobiyal hücrelerin içinde önemli miktarda rezerv lipid birikimi (en az %30, w/w) yapabilen, 30 g/l'den fazla olacak şekilde biyokütle verimi sağlanmasının dikkate alınması gerektiği önerilmektedir. Ayrıca, çeşitli şekerler, polisakkaritler ve polialkoller karbon ve enerji kaynağı olarak kullanıldığında, gram substrat karbon tüketimine karşılık sentezlenen lipid miktarının 0.18 g ve 0.22 g arasında olması, tüm yağlı mikroorganizma ve kültür tipleri için optimum koşul olarak göz önünde bulundurulmaktadır (Papanikolaou vd 2004).

Mikrobiyel yağın besin değerini, o yağın trigliserid oranı ile yağ asidi dağılımı tayin etmektedir. Yapılan çalışmalarda, mikrobiyel yağlardaki trigliserid oranlarının türlere bağlı olarak %30-90 arasında değiştiği bildirilmiştir. Yenebilir yağlarda trigliserid oranının yüksek olması (%90'ın üzerinde) istendiğinden en yüksek oranı sağlayan mikrobiyel yağlar, besin değeri en iyi olan kaynağı oluşturmaktadır. Genelde mayaların trigliserid oranları, küflere göre daha yüksek ise de yağ asitleri dağılımları yönünden küflerin daha dengeli bir dağılım gösterdikleri belirtilmiştir. Mikrobiyel yağların yağ asitleri dağılımı üzerinde yapılan çalışmalar bunların bitkisel yağlarla mukayese edilebilir durumda olduklarını, hidroksi ve metil dallı yağ asitlerini içermediklerini ortaya koymuştur (Karapınar 1984). Bununla birlikte mikrobiyel yağlar bitkisel ve hayvansal yağlarla kıyaslandığında eşsiz bir özellik göstermekte ve diğer yağlardan ayrılmaktadır. Bitkisel ve hayvansal yağların içerdiği doymuş ya da

doymamış yağ asitleri belirli bir sınırın içinde kalmaktadır. Çoklu doymamış yağ asitlerine beslenme bakımından duyulan ihtiyaç mikrobiyel yağlarca karşılanabilmektedir (Wynn ve Ratledge 2000, Ratledge 2004). Diğer taraftan mikroorganizmaların gelişme koşulları (sıcaklık, pH, verilen oksijen miktarı) üretilen yağın çeşit ve bileşimini ve yağ asitleri dağılımını etkilemektedir (Denli ve Tekin 2000).

Mikroorganizmalar gelişme ortamında oluşabilecek herhangi bir değişime oldukça hızlı reaksiyon vermektedir. Bu durum mikroorganizmaların sadece gelişme ve üretimlerini değil, aynı zamanda üretilen lipitlerin bileşimlerini de etkilemektedir (Denli ve Tekin 2000, Jang ve Yang 2008).

Maya ve küflerin kuru biyokütlede %70-80 düzeylerinde (w/w) yağ üretebilecekleri bildirilmektedir (Ratledge 1993). Maya ve küf lipitleri ve yağ asidi kompozisyonları araştırmacılar tarafından oldukça yoğun bir şekilde çalışılmıştır. Funguslarda yağ içeriklerinin, türe ve özellikle gelişme ortamı koşullarına bağlı olduğu belirtilmiştir (Pillai vd 1998, Denli ve Tekin 2000, Jang ve Yang 2008). Ortam koşulları olarak, sıcaklık, pH, karbon kaynağı, inorganik besin maddeleri ve havalandırma sayılabilmektedir (Denli ve Tekin 2000). Bunun dışında bazı funguslar gelişme ve lipit sentezi için belirli vitamin ve amino asitlere de ihtiyaç duymaktadırlar. Genel olarak vitamin eksikliği lipit içeriğini azaltmaktadır (Denli ve Tekin 2000). Maya ve küfler bünyelerindeki lipit cisimcikleri (lipid bodies) ya da bununla ilgili organellerle lipit sentezini gerçekleştirmektedir (Kamisaka vd 1999). Hücre içinde biriken trigliserid ve diğer lipitler, lipit cisimcikleri, yağ cisimcikleri (oil bodies) ya da lipit granülleri (lipit granüles) denilen organellerde depolanmaktadır (Pillai vd 1998, Kamisaka vd 1999).

2.2.6. Mikrobiyel yağ üretiminin avantajları

Geçmişte yağ sanayinde mikrobiyel lipitlerin önemi dikkate alınmayıp, ihmal edilirken günümüzde artık birçok sebep mikrobiyel yağ üretimini daha avantajlı hale getirmekte ve umut vermektedir. Mikrobiyel yağ üretiminin diğer yağ kaynaklarına göre avantajları şu şekilde sıralanabilir:

- Mikrobiyel çoklu doymamış yağ asitleri, daha ucuz olan soya yağı, palm yağı ve ayçiçeği yağı gibi ticari yağ benzerlerinden daha yüksek değere sahip yağlardır,
- Bu mikroorganizmaların çok çeşitli substratlarda yüksek oranda gelişme gösterebilmesi, düşük maliyetle ya da hiç masrafsız kullanabilmelerine olanak sağlamaktadır,
- Yağ üretimi bütün bir yıl boyunca devam ettirilebilmekte, mevsime ya da iklime bağımlılık göstermemektedir,
- Mikrobiyel kaynaklar diğer kaynaklarla kıyaslandığında eczacılık saflığında konsantre çoklu doymamış yağ asitleri sağlayabilmektedir. Üretilen yağ kalitesinin kontrol edilebilmesine olanak sağlamaktadır,
- Yağlı mikroorganizmalar birçok transformasyon (oksidasyon, desaturasyon ve hidrojenasyon gibi) reaksiyonunu gerçekleştirme kabiliyetine sahiptir. Böylece çoklu doymamış yağ asitlerinin yapıları geliştirilebilmekte ve eşzamanlı olarak lipit ve diğer ürünlerin oluşumu gerçekleştirilebilmektedir,
- Spesifik enzimlerdeki (desaturazlar gibi) çok sayıdaki mutant değişimler, istenilen kompozisyona sahip yağların üretilmesine imkan vermektedir,
- Yağlı mikroorganizmalar, diğer sıvı ya da katı yağ kaynaklarında hiç bulunmayan, istenen yağ asitlerinin üretimi için yabancı genlerin (bitki ya da hayvan) klonlanabileceği uygun konakçılar olarak düşünülebilir,
- Mikroorganizmalar lipid biyokimyası çalışmaları için kullanışlı modeller olabilirler. Yine metabolik kontrol ve fonksiyonlarının belirlenmesi çalışmalarında kullanılabilir. Çünkü hücrelerindeki az sayıdaki organel bölümleri, diğer organizmaların çok hücreli kompleks sistemleri ile kıyaslandığında anahtar metabolik ve biyokimyasal sorulara daha çabuk ve daha kolay cevap sağlayabilmektedir,
- Mikrobiyel metabolik düzenlemelerinin basitliğinden dolayı, besinsel rejimle birlikte kontrollü şartlar altında kolayca gelişebilmekte ve bu sayede serbest yağ asidi oluşumunun anahtar adımlarını stimüle edebilmekte ya da baskılayabilmekte ve lipit veriminin ve profilinin istenilen şekilde değiştirilip düzenlenmesine imkân sağlamaktadır,
- Mikroorganizmalar proteince, iz elementlerce, vitaminlerce, antioksidanlarca v.s. zengindir. Böylece diğer makro ve mikro besinleri de karşılayabilmektedir

(Certik ve Shimizu 1999).

2.2.7. Çoklu doymamış yağ asitleri ve mikrobiyel yağ üretimi

Mikrobiyel yağ üretiminin en önemli avantajlarından biri doğada sınırlı kaynaklarda bulunan uzun zincir yapısındaki çoklu doymamış yağ asitlerini içeren yağ elde edilmesidir.

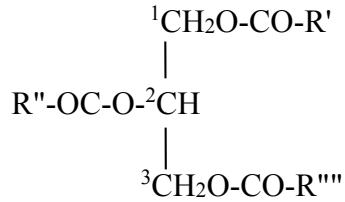
2.2.7.1. Çoklu doymamış yağ asitleri

Diyetteki yağların çok büyük kısmını trigliseridler oluşturmaktadır. Her trigliserid molekülünde üç yağ asidi ve bir gliserol bulunmaktadır. Hemen hemen tüm lipidlerin temel yapısında yer alan yağ asitleri zincir uzunluğu ve saturasyon durumuna göre isimlendirilmektedir. Trigliseridler diyetdeki temel yağlar olmakla birlikte, kalan %2'lik kısmını ise fosfolipidler, serbest yağ asitleri, mono- ve di-gliseridler oluşturmaktadır. Lipidler temel enerji deposudur. Örneğin, kalp enerji gereksiniminin %50-80'ini yağ oksidasyonu ile karşılanmaktadır (Akşit 2009).

Gıda olarak tüketilen yemeklik yağlarda bulunan yağ asitlerinin tamamına yakını, yapısında çift sayıda karbon atomu içeren, değişik zincir uzunluğu ve yapısı gösterebilen, çoğunlukla düz zincirli olan mono bazik organik asitlerdir (Kayahan 2002). Farklı karbon zinciri uzunluğunda olan yağ asitleri (alifatik asitler) bir ucunda karboksilik asit (-COOH) grubuna (Δ ucu) ve diğer ucunda ise metil (-CH₃) grubuna (n ya da ω ucu) sahiptir. Yağ asitleri doymuş ya da doymamış olabilmektedir. Doğal doymuş (alkanoik) asitlerin çoğu, her bir tarafında ikişer tane H atomu olan, cis (ya da Z) formunda çift bağ içermektedir. Yağ asitlerinin yapıları basit bir numerik sistem kullanılarak gösterilebilmektedir. Mesela, stearik asit (doymuş) "18:0" olarak gösterilebilmektedir. Burada 18 toplam karbon atomu sayısını, 0 ise çift bağ içermediğini göstermektedir. Oleik asit (doymamış) ise "18:1" ya da "18:1(9)" şeklinde gösterilmektedir. Yine burada yağ asidi molekülünün 18 karbon atomu içerdiğini, 1 çift bağa sahip olduğunu ve bu çift bağın " Δ " ucundan itibaren 9. karbondan bulunduğunu göstermektedir. Bu durum çoklu doymamış yağ asitleri olduğunda ise sadece "n" ucuna

en yakın olan en son çift bağın pozisyonunu göstermek sıklıkla daha yaygındır. Bu da “n-3”, “n-6” ve “n-9” serileri olarak bilinen yağ asitleri gruplarının oluşmasına sebep olmuştur (Ratledge 1993). Bir başka deyişle çoklu doymamış yağ asitleri metil (CH₃) kökünden başlamak üzere çift bağın bulunduğu ilk karbona göre gruplandırılmaktadır. Mesela n-3 yağ asitlerinde ilk çift bağ üçüncü karbondan itibaren, n-6 yağ asitlerinde ilk çift bağ altıncı karbondan itibaren yer almaktadır. n-6 serisi çoklu doymamış yağ asitlerinin temel yağ asidi linoleik asittir (LA). Bu yağ asidi vücutta ARA'ya dönüşebilmektedir. n-3 çoklu doymamış yağ asitlerinin temel yağ asidi ise α-linolenik asit (ALA) olup vücutta EPA'ya ve DHA'ya dönüşebilmektedir (Gibson ve Makrides 2000, Whalley vd 2004, Akşit 2009).

Gliserolle esterleşen yağ açil gruplarının gliserol üzerindeki pozisyonunu göstermek için de (ister mono- olsun, ister di- ya da tri- açilgliseroller olsun) “**stereospesifik numaralandırma**” (sn-) sistemi kullanılmaktadır. Bu yolla iki pro-çiral (pro-chiral) pozisyon, “sn-1” ve “sn-3” olarak birbirinden ayırt edilebilmektedir (Şekil 2.4).



Şekil 2.4. Triaçilgliserol (Ratledge 1993).

2.2.7.2. Çoklu doymamış yağ asitlerinin sağlık üzerine etkileri

Çoklu doymamış yağ asitleri; prostaglandinler (prostaglandins), tromboksanlar (thromboxanes) ve lökotrienler'i (leukotrienes) içeren, signaling moleküllerinin eikosanoidlerinin habercisi (precursor) olarak önemli rol oynamaktadır. Bütün memeliler eikosanoidleri sentezlemektedir. Eikosanoidler vücudun enflammatuvar tepkilerinde, üreme fonksiyonlarında, immün sistemin tepkilerinde ve kan basıncının düzenlenmesinde rol oynamaktadır (Ratledge 1993, Takeno vd 2005). ω-3 ve ω-6 yağ asitlerinin metabolizmalarının bu kadar önemli olması, onların hem organ yapılarında yer alması hem de sözü geçen eikosanoidler, tromboksanlar, lökotrienler gibi hormonal

aktivite gösteren bu metabolitlerin oluşmasında prekürsör olmalarından kaynaklanmaktadır. Bu metabolitler vücutta birçok noktada anahtar rol oynamaktadır (Gibson ve Makrides 2000, Whalley vd 2004, Akşit 2009). Uzun zincirli çoklu doymamış yağ asitleri, vücuttaki bütün dokuların membran fosfolipidlerinin temel yapısal bileşeni olup membranın geçirgenliğini ve iyon transferini etkilemektedir (Gibson ve Makrides 2000, Whalley vd 2004, Takeno vd 2005, Akşit 2009). Bu yağ asitlerinden uzun zincirli ω -3 çoklu doymamış yağ asitleri özellikle, miyokard, retina, beyin ve spermatozoada bol miktarda bulunur ve bu dokuların gelişmesi, doğru ve tam çalışması ve düzenleyicisi oldukları birçok fizyolojik sürecin işlemesi için gereklidir. Genel olarak ω -3 yağ asitleri (ALA, EPA, DHA) bu işlevlerine bağlı olarak, kalp ve damar hastalıkları, romatoid artrit, kanser, astım, Alzheimer gibi birçok hastalığın önlenmesi ve tedavisinde; ayrıca bebeklerde hem prenatal hem de postnatal dönemde retina ve santral sinir sisteminin gelişiminde etkin rol oynamaktadır (Akşit 2009). Ayrıca ω -3 yağ asitlerinin serum trigliserid seviyesini düşürdüğü de bildirilmektedir (Harris ve Bulchandani, 2006).

Özellikle bebeklerin ve çocukların beslenmesindeki öneminin yanında çoklu doymamış yağ asitlerine yetişkin insanların günlük beslenmelerinde de ihtiyaç duyulmaktadır (Wibert vd 1997, Ratledge 2004). Genel olarak çoklu doymamış yağ asitlerinin eksikliğinde ciltte, sinir sisteminde, kardiyovasküler sistemde, böbreklerde, solunum sisteminde ve üreme sisteminde anormallikler ortaya çıkarmaktadır. Memeliler vücutlarında çoklu doymamış yağ asitlerini sentezleme yeteneğine sahip olmadıklarından, bu yağ asitlerinin besinlerle dışarıdan alınması gerekmektedir. C18'in üzerindeki çoklu doymamış yağ asitleri yüksek bitkilerde, gerekli enzimlerin noksanlığından dolayı önemli miktarlarda sentezlenememektedir (Certik ve Shimizu 1999).

Birçok çoklu doymamış yağ asitleri “esansiyel yağ asitleri” olarak beslenmeyle ilişkili hastalıkların önlenmesinde normal günlük diet içinde bulundurulmalıdır. Bunlardan en önemlileri linoleik asit, GLA, ALA ve ARA'dır. Bunların yanında diğer bazı çoklu doymamış yağ asitlerinden oktadekatetraenoik asit (OTA), DHGLA, EPA ve DHA'nın insan sağlığı üzerine etkileri halen yoğun araştırılmaların konusunu

oluşturmaktadır (Alonso ve Maroto 2000, Papanikolaou vd 2004, Jang ve Yang 2008). Sağlık üzerine etkilerinden dolayı çoklu doymamış yağ asitlerine, ω -3 ve ω -6 esansiyel yağ asitlerinin dietsel kaynaklarına olan ilgi gittikçe artmaktadır. ω -3 serisinin yüksek oranda doymamış yağ asitlerinden olan EPA ve DHA kalp hastalıklarının önlenmesinde diet takviyesi olarak tavsiye edilmektedir (Ratledge 1993). Özellikle DHA bakımından zenginleştirilmiş yağlar, koroner kalp hastalıklarının önlenmesinde yardımcı olmaktadır. Günde 250 mg ω -3 (EPA ve DHA) alınmasının koroner kalp hastalığı riskini azalttığı bildirilmektedir (McCann ve Ames 2005, Jang ve Yang 2008). Son zamanlarda Alzheimer hastalığı gibi dejeneratif hastalıkların başlangıcında hastalığı önlemede DHA'ca zenginleştirilmiş diyetlerin kullanılması önerilmektedir. Aynı zamanda çocuklarda dikkat dağınılığı (konsantrasyon bozukluğu) sendromunun önlenmesinde de yararlı olabilmektedir (Ratledge 2004, Jang ve Yang 2008). ω -3 yağ asitlerinin (ω -linolenik asit ve onun uzun zincirli metaboliti olan DHA) eksikliğinde sinir sistemine ait problemlerin oluşma riski bulunmaktadır (Wibert vd 1997). DHA sinir sistemi ve retina gelişiminde rol oynamaktadır. EPA'nın kan dolaşım sisteminin fonksiyonları üzerinde olumlu etkisi 30 yıldan beri bilinmekte, günümüzde de bu fonksiyonu ile ilgili olarak çok sayıda araştırmalar yapılmakta ve bu özelliği kuvvetli verilerle desteklenmektedir. Bu yüzden bazı kanserlerde ve diğer bazı hastalıklardaki olumlu etkilerinden dolayı EPA üzerine de gittikçe artan bir ilgi meydana gelmektedir (Alonso ve Maroto 2000). Sonuç olarak EPA ve DHA'nın beyin ve retina hücre zarı yapısında bulunarak, organ ve hücre gelişimine destek vererek, kolesterol ve trigliserit seviyesini düşürerek ve damarlarda pıhtı oluşumunu azaltarak insan sağlığı üzerine olumlu etkiler gösterdiği belirtilmektedir (Connor ve Connor 1997, Kroes vd 2003, Medina vd 2003, Meza vd 2003, Müftüoğlu 2003). Yapılan pek çok çalışma DHA'nın sinir sistemi gelişimi için çok önemli olduğunu göstermiştir. Beyinde DHA'nın azalması öğrenme kapasitesini olumsuz etkilemektedir (Akşit 2009). Çalışmalarda ω -3 yağ asidi yetersizliğinin ışığa karşı retinal yanıtı azalttığı, görme keskinliğinde yetersizlik yarattığı ve bazı çalışmalarda da karanlığa adaptasyon süresinde gecikmeye neden olduğu gösterilmiştir (Akşit 2009).

Diğer yandan ω -6 serisinden olan GLA'nın özellikle ekzema tedavisinde ve diğer birçok hastalıkların iyileştirilmesinde kullanımı tavsiye edilmektedir. Günümüzde

hem reçetesiz supplement olarak hem de doktor tavsiyesi ile reçeteli olarak kullanılan bu yağ asitlerini içeren preparatların hazırlanması büyük bir endüstri kolu haline gelmiştir. İngiltere’de çuha çiçeği yağı GLA kaynağı olarak kullanılmakta ve çeşitli ekzema tiplerinin, özellikle de çocuklarda görülen ekzema tiplerinin tedavisinde doktorlarca reçetelere yazılmaktadır (Ratledge 1993). GLA, linoleik asitten $\Delta 6$ -desaturaz aktivitesi ile oluşturulan ürün olup, alındıktan sonra vücutta hızla DHGLA’ya dönüşmektedir. DHGLA, prostaglandin E1 (PGE1) ve 15-OH DGLA gibi, bağışıklık sağlayan ve enflamatuvar hastalıkları önleyici hormonların öncüsü olan bir yağ asididir. DHGLA, $\Delta 5$ -desaturaz enzimi ile ARA’ya dönüşmektedir (Şahin Yeşilçubuk ve Karaali 2008). GLA’nın bazı cilt hastalıkları ve diabet gibi kimi hastalıkların önlenmesinde önemli rol oynadığı ileri sürülmekte, bundan başka yüksek tansiyon, kardiyovasküler hastalıklar, kanser, enflamatuvar hastalıklar, sikleroz, alerji, adet dönemi rahatsızlıklarda, osteoporoz ve şizofreni gibi birçok hastalık üzerinde, bunların yanısıra LDL (düşük yoğunluklu lipoprotein) kolesterol ve serum trigliserid seviyesini düşürmede, HDL (yüksek yoğunluklu lipoprotein) kolesterolü yükseltmede, damarlarda plak oluşumunu önlemede olumlu etkilerinin olduğu birçok araştırmacı tarafından bildirilmektedir (Engler vd 1992, Wibert vd 1997, Elliot vd 1998, Senanayake ve Shahidi 1999, Clough 2001, Aidil vd 2005, Lumor ve Akoh 2005, Jang ve Yang 2008). Aynı zamanda GLA, beynin gri dokusunda ve retinanın yapısında yer alan ve buldukları dokularda bu dokulara ait hücrelerin haberleşmesinde, ikinci haberci olarak fonksiyonu olan ARA’nın vücutta sentezinde kullanılmaktadır (Wainwright vd 2001). ω -6 linoleik asit ve onun daha uzun zincirli türevi olan ARA eksikliğinde, deride doku bozukluğu ve yara gelişimi gibi belirtiler görülmektedir (Wibert vd 1997). Yine ARA da, DHA ile birlikte sinir sisteminin gelişiminde etkili olmaktadır (Alonso ve Maroto 2000).

ω -9 serisi yağ asitlerinden olan eikozatrienoik asit’in (ETA) 1950’li yıllardan beri bilinmesine karşın, bu seri yağ asitlerinin beslenme üzerindeki etkileri ise tam olarak anlaşılamamıştır (Ratledge 1993).

2.2.7.3. Çoklu doymamış yağ asitleri ve mikrobiyel yağ üretimi

Funguslardan özellikle bazı yağlı Zygomycetes (alçak funguslar) türleri yukarıda

bahsedildiği üzere medikal ve diyetetik açıdan ilgi gören GLA, DHGLA, ARA ya da DHA gibi çoklu doymamış yağ asitlerince zengin lipitlerin üretiminde kullanılmaktadır (Papanikolaou vd 2004).

Bunlardan ω -3 çoklu doymamış yağ asitleri serisinden EPA ve DHA diyetetik açıdan en çok dikkat çekenlerindedir. Funguslarda EPA, doğada yaygın olarak bulunmayan eşsiz bir enzim olan Δ -17 desaturazın, ω -6 serisi yağ asitlerinden ARA üzerine etki etmesiyle oluşmaktadır. Küfler ele alındığında her ne kadar bazı *Mortierella* ve *Pythium* türlerinde EPA, toplam yağ asitlerinin %20'sine varan bir kısmını oluştursa da, yine de bu yağ asidinin muhtemelen en iyi kaynakları alglerdir. Mesela *Porphyridium cruentum*, hücrelerinde az miktarda yağ depolamasına karşın (%6'dan daha düşük düzeylerde), yapılan çalışmalar sonucu elde edilen klonlarında ürettiği yağdaki EPA verimi toplam yağ asitlerinin %40'tan çoğunu teşkil edecek şekilde artırılmıştır. ABD'de bir şirket (Martek Corp.) alglerden EPA ve DHA üreterek bu konuda öncülük etmiştir. Yağ üretiminde kullandıkları organizmalardan biri MK8908 yüksek oranda yağ üretmekte; ancak ürettiği yağdaki EPA oranı toplam yağ asitlerinin ancak %5'ini teşkil etmektedir. Diğer bir alg MK8805 ise düşük miktarlarda yağ üretmesine rağmen toplam yağ asitleri içerisindeki DHA oranı %30'lara kadar çıkmaktadır. Bu organizmalarda sadece belirli çoklu doymamış yağ asitlerinin oranı yüksek olup, bu açıdan diğer çoklu doymamış yağ asitlerinin yokluğu her iki yağ asidinin saflaştırılmasını kısmen kolaylaştırdığı için büyük avantaj sağlamaktadır (Ratledge 1993).

DHA aynı zamanda bazı deniz küfleri tarafından da üretilebilmektedir. Bunlardan *Thraustochytrium aureum* en başarılı yağ üretenidir. Ürettiği yağda DHA oranı toplam yağ asitleri içerisinde %50'lere varmaktadır. Fakat maalesef bu küfün ürettiği yağ miktarı %10-15 (w/w) düzeylerini geçmemekte, hücreler çok uzun sürelerde gelişme göstermekte ve biyokütle verimi de düşük olmaktadır. Bu sebeplerden dolayı bu organizma ile bir üretim prosesi geliştirilmesi oldukça zordur. Fakat gerekli şartlar sağlandığı takdirde üretiminin imkânsız olmadığı belirtilmiştir. Bununla birlikte bu organizmada EPA üretiminin olmaması yüksek saflıkta DHA elde edilmesini kolaylaştırmaktadır (Ratledge 1993).

DHGLA yağ asidi normal şartlarda sadece bir kısım küfler tarafından üretilmektedir. Yapılan bir çalışmada susam tohumu yağının minör bir bileşeni olan sesaminin, Δ -5 desaturaz enziminin spesifik inhibitörü olduğu saptanmıştır. Sesamin, doğal olarak ARA üreten *Mortierella alpina* kültürüne eklendiğinde Δ -5 desaturaz enziminin aktivitesini engellediğinden, DHGLA ARA'ya dönüştürülememekte ve DHGLA birikerek verimi 2.3 g/l'ye kadar yükselmektedir. Δ -5 desaturaz üzerine yapılan birçok çalışma ile bu enzimin mutasyonla silindiği suşlar da üretilmiştir (Ratledge 1993).

ARA *Mortierella alpina* küfünün bazı suşlarınca toplam yağ asitlerinin %65'ini teşkil edecek düzeylerde üretilmektedir. Bu organizma ile ARA verimini artırmak üzere yapılan çalışmalar sonucu üretiminde optimum strateji geliştirilmiştir. Buna göre, ilk önce organizma 10 gün süre ile 28°C sıcaklıkta geliştirilip daha sonra 18°C ya da daha düşük bir sıcaklıkta 6 gün daha gelişme ortamında bekletilerek, toplam yağ asitlerinin %70'i ARA olan, %40 yağ oranına (kuru biyokütlesinde) sahip hücreler elde edilmiştir (Ratledge 1993).

Ender olarak bulunan ETA çoklu doymamış yağ asidi, *Mortierella alpina* küfünün, Δ -12 desaturaz enzim aktivitesi eksik olan bir mutantınca nispeten düşük oranlarda üretilmektedir. Enzim aktivitesinin düşük olmasından dolayı oleik asit, linoleik aside dönüştürülememekte, sonuç olarak biriken oleik asit ω -9 serisi üzerinden metabolize olup ETA'ya çevrilmektedir. Bu da fosfolipit fraksiyonu içindeki toplam yağ asitlerinin %15'ini oluşturmaktadır (Ratledge 1993).

Bakteriler ise uzun süre çoklu doymamış yağ asitlerinden yoksun olarak bilinmişlerdir. Fakat bu organizmaların da birçok çoklu doymamış yağ asitlerini üretebilecekleri bildirilmiştir. Özellikle bakterilerin EPA üretimi ilgi çekmektedir. EPA üreten bakteriler daha çok deniz ve tatlı su kaynaklarından izole edilmektedir. Bu türler arasında *Altermonas*, *Shewanella*, *Flexibacter* ve *Vibrio* türlerinin yer aldığı belirtilmektedir. Özellikle ticari üretim olanakları düşünüldüğünde yeni bir izolat olan *Shewanella putrefaciens*'in EPA üretiminde fizibil olabileceği bildirilmiştir. Bu bakterinin 12–18 saatlik bir gelişme süresinden sonra litre substrat başına 15-18 g kuru

biyokütle verimi sağladığı, bu biyokütlenin %10–15 düzeylerinde yağ içerdiği, elde edilen yağda ise EPA oranının %25–40 olduğu bildirilmektedir. Bununla birlikte bütün EPA içeriği fosfolipit membranlarındadır ve yağ asitleri sadece total esterifikasyonla ya da sabunlaşma yoluyla serbest bırakılabilirler. Diğer çoklu doymamış yağ asitlerinin olmayışı, %80 saflığında EPA üretimini sağlayabilmektedir (Ratledge 1993).

2.2.8. Mikrobiyel yağın bebek mamalarında kullanımı

Anne sütünde bulunan uzun zincir yapısındaki çoklu doymamış yağ asitleri düzeylerinin yeterli miktarlarda olmasının hem pretermate hem de normal bebekler açısından önemli olduğu görme keskinliği ve gelişimsel testlerle gösterilmiş olmasına karşın, bunun sadece uzun zincir yapısındaki çoklu doymamış yağ asitleri düzeylerine bağlı olup olmadığı (emzirmenin olumlu etkilerine de bağlı olabileceği) tam açıklığa kavuşmamıştır (Gibson ve Makrides 2000, Whalley vd 2004, Akşit 2009). Uzun zincir yapısındaki çoklu doymamış yağ asitlerinin bugün için çocuklar açısından bilinen yararları şöyle sıralanabilir:

- Beyin gelişimini desteklemektedir,
- IQ üzerine olumlu etkileri saptanmıştır,
- Öğrenme ve konsantrasyonu olumlu yönde etkilemektedir,
- Problem çözme yeteneğini arttırmaktadır,
- Dikkat eksikliği ve hiperaktivite bozukluğunun tedavisini desteklemektedir (Akşit 2009).

Klinik bilimsel çalışmalar yeni doğan bebeklerin beslenmesinde bilhassa DHA ve ARA'nın önemini defalarca kez vurgulamıştır (Burns vd 1999, Alonso ve Maroto 2000, Wynn ve Ratledge 2000, Ratledge 2004, Jang ve Yang 2008). Bu yağ asitlerinin önemi beyin dokusunun oluşumunda görev almalarından kaynaklanmaktadır (Ratledge 2004). ARA ve DHA, beyin hücresi fosfolipidlerinin başlıca çoklu doymamış yağ asitleri olup bebek gelişimini desteklemektedir (Bigogno vd 2002). Bunlar, anne sütünde bulunmalarına karşın inek sütünde bulunmamaktadır (Wibert vd 1997, Ratledge 2004). Anne sütünün yerini alan bebek mamaları inek sütünden yapıldığı için bu yağ

asitleri mamalarda bulunmaz (Ratledge 2004). Bu nedenle son yıllarda yeni doğan bebeklerin özellikle de erken doğan bebeklerin mamalarına bu yağ asitlerinin eklenmesi tavsiye edilmektedir (Wibert vd 1997, Bigogno vd 2002). İnsanda sinir sisteminin ve retinanın gelişiminde gebeliğin son üç aylık bölümünün sonları ile doğumdan sonraki erken dönem oldukça önemli olduğundan, DHA eksikliğinden kaynaklanabilecek sorunlar bakımından bebekler en yüksek risk grubu içindedirler. Ayrıca, beyin ve retinal gelişim için bu zaman periyodunun önemli olmasından dolayı bu dönemde oluşabilecek hasarlar kalıcı olabilmektedir. Erken nöronal gelişim genellikle, DHA ve onun prekursorü ω -3 yağ asitlerinin anneden rahim içindeki fetüse plenta yoluyla geçerek veya doğumdan sonra anne sütü vasıtasıyla sağlanmaktadır. Erken doğan bebekler bu bakımdan özellikle hassas olabilmektedirler. Çünkü bu bebekler -linolenik asidi DHA'ya uzatmak ve desature etmek için gereken enzimlere sahip olmalarına karşın, büyüme ihtiyaçlarını karşılayacak düzeylerde DHA depolamasını sağlayabilecek, yeterli miktarda enzimden ve/veya dokudan yoksun olabilmektedirler. Özellikle düşük ağırlıkta doğan veya prematüre bebeklerde, normal beyin ve retinal gelişme ile diyetten sağlanan DHA arasında ilişki olduğu yapılan çok sayıda çalışmayla ortaya konulmuştur (Wibert vd 1997). Çoklu doymamış yağ asitleri aynı zamanda normal bebeklerin nöral ve retinal fonksiyonlarının gelişmesinde de etkili olduğundan bebeklerin hafıza ve görme gücünün düzgün şekilde gelişebilmesi için son derece önemlidir (Alonso ve Maroto 2000, Ratledge 2004). Fakat besinlerle alınan çoklu doymamış yağ asitlerinin oranı yeterli olmayabilmekte, bu da önemli bir problem olarak ortaya çıkmaktadır (Ratledge 2004). Genel olarak bu yağ asitlerini içeren kaynaklar (balık yağı, yumurta sarısı yağları), aynı zamanda diğer yağ asitlerini de gereğinden fazla içerdiklerinden bebekler için uygun olmamaktadır (Wibert vd 1997, Jang ve Yang 2008). Öte yandan balık yağı sahip olduğu C20 ve C22 ω -3 yağ asitleri içeriği nedeniyle yararlı etkiye sahip olmakla birlikte (Wibert vd 1997, Certik ve Shimizu 1999, Jang ve Yang 2008) bunun takviye olarak verilmesi, insanlardan kaynaklanan çevre problemleri nedeniyle dioksinler, PCB'ler ve civa bileşikleri gibi ağır metal artıklarından oluşan kirliliklerin balıkların özellikle karaciğerinde ve başka organlarında konsantre halde birikmesinden dolayı bazı şüpheler ve kuşkuvarın meydana gelmesine sebep olmaktadır (Wibert vd 1997, Ratledge 2004). Bu sebeplerden dolayı ABD'de ve diğer bazı gelişmiş ülkelerde bebeklere ve küçük çocuklara bu yağların verilmesini engelleyen ciddi yasaklar getirilmiştir

(Ratledge 2004). Bunun yanında balık yağının kabul edilebilir duyuşal özelliklere sahip olmaması yine kullanımını zorlaştırmaktadır. Balık yağlarının tatmin edici bir şekilde kullanımı, ancak kolesterolün ve potansiyel kirliliklerin uzaklaştırılmasıyla mümkündür. Aynı zamanda balık yağının kalitesinde varyasyonlar olmakta ve antagonistik yağ asitlerinin varlığı da bir sorun olarak karşımıza çıkmaktadır. İstenen yağ asitlerinin toplam miktarı da mevsime ve bölgeye oldukça bağılıdır. Balık etinin yağ içeriğı büyük çeşitlilik göstermektedir. Sadece balık türüne göre değil, aynı balık türü içinde mevsimsel koşullar, beslenme özellikleri, suyun tuz oranı ve diğer çeşitli faktörler balık etinin içerdiği yağ miktarını büyük ölçüde değiştirebilmektedir (İmre ve Sağlık 1998, Certik ve Shimizu 1999, Jang ve Yang 2008). Bunun yanında ω -3 çoklu doymamış yağ asitlerinin hastalıklardan koruyucu (propilaktik) ilaçlar olarak kullanımının yaygınlaşmasından dolayı balık yağı üretimi dünya çapında talebi karşılayamayacak duruma gelecektir (Certik ve Shimizu 1999, Alonso ve Maroto 2000).

Bazı sağlık kuruluşları ve uzmanlar bebek mamalarının DHA ve ARA ile güçlendirilmesini tavsiye etmektedir (Wibert vd 1997, Alonso ve Maroto 2000, Bigogno vd 2002). Avrupa Topluluğı Pediatrik Gastroentoloji ve Beslenme Komitesinin (ESPGAN Committee on Nutrition) ve ABD'de Gıda ve Tarım Organizasyonu ile birlikte Dünya Sağlık Örgütünün (FAO/WHO) de içinde bulunduğu pek çok otorite bebek mamalarına anne sütünde bulunan seviyelerde ω -3 yağ asidi DHA ve ω -6 yağ asidi ARA eklenmesini önermiştir. Bebek mamalarına eklenmesi için uygun DHA ve ARA kaynaklarına ihtiyaç duyulmaktadır. Söz konusu yağ asitlerinin algal ve fungal yağ kaynakları piyasada bulunmaktadır. Bebek beslenmesi dikkate alındığında, bu tek hücre yağları, yüksek konsantrasyonlarda DHA ve ARA içerikleri ve aynı zamanda kontrollü fermentasyon koşullarında üretilebilmeleri nedeniyle cazip olmaktadır (Wibert vd 1997, Burns vd 1999). Kısa dönemli yürütölen çalışmalar, bu yağlar ile DHA:ARA oranı 1:2 olacak şekilde, yani anne sütündekine benzer oranda hazırlanan kombinasyonlarının, 4 hafta süresince farelere verildiğinde veya yetişkin insanlar tarafından 2 hafta boyunca tüketildiğinde herhangi bir yan etkiye neden olmadığını göstermiştir (Burns vd 1999). Bir başka çalışmada, algal ve fungal yağ karışımının DHA ve ARA kaynağı olarak güvenli olduğu ve bebeklerin alabileceğı tahmini değerden 22 kat daha fazla düzeylerde (dozlarda), 4 hafta süreyle farelere

uygulandığında hiçbir yan etki oluşturmadığı görülmüştür (Wibert vd 1997). Bu amaçla bebek maması formülasyonlarında tek hücre yağından elde edilen araşidonik asit (ARASCO) ve dokosahekzaenoik asit (DHASCO) 2:1 oranında karıştırılıp “Formulaid” ticari adı altında satılmaktadır (Fidler vd 1999, Ratledge 2004).

GLA vücuda alındığında hızla DHGLA'ya ardından da ARA'ya dönüştürülmektedir. GLA, ARA ile kıyaslandığında hem daha güvenli ve ucuz, hem de üretimi daha kolaydır. Bu sebeple ARA'ya alternatif olarak bebek mamalarında kullanımı önerildiği için GLA içeren yağların bebek maması formülasyonlarına eklenmesi de son yıllarda önem kazanmıştır. (Redden vd 1998, Shimada vd 1999, Kawashima vd 2002, Fewtrell vd 2004). Lipaz katalizörlüğünde gerçekleşen enzimatik interesterifikasyon reaksiyonları ile fiziksel karışım hazırlığına gerek kalmadan, GLA ile zenginleştirilmiş anne sütü yağına benzer yapılandırılmış yağların üretilmeleri mümkün olmaktadır. Bu ürünler $\Delta 6$ -desaturaz enziminin yetersiz olduğu durumlarda da yararlı olmaktadır (Şahin Yeşilçubuk ve Karaali 2008).

Bundan başka palmitik asitin de bebeklerin beslenmesinde oldukça önemli bir yeri bulunmaktadır. Palmitik asit anne sütünde de büyük oranda bulunmakta ve bebek için oldukça önemli fonksiyonel özellikler göstermektedir. Anne sütü, yeni doğan bebeklerin hücreleri için gerekli olan yapısal komponentleri ve enerjiyi sağlayan tek doğal besin kaynağıdır. Bu nedenle, bebek beslenmesi ve gelişimi açısından anne sütünün son derece önemli olduğu bilinmektedir. Anne sütü yaklaşık olarak %3–5 oranında yağ içermektedir. Anne sütünün en önemli bileşeni olan yağın gliserol molekülündeki özgün yağ asidi dizilimi bitkisel ve hayvansal yağlardan oldukça farklıdır. Anne sütü bileşimi beslenme, laktasyon (emzirme) devresi, ırk, genetik özellikler ve mevsim gibi birçok faktöre bağlı olarak değişim gösterse de genel olarak oleik (%30–35), palmitik (%20–30), ve linoleik asitçe (%7–14) zengin triaçilgliserol (TAG) karışımıdır. Anne sütünde bulunan triaçilgliseroller, anne sütünün toplam yağ asitlerinin %20-25'ini oluşturan palmitik asidi (C16:0) %60–70 oranında gliserol molekülünün sn–2 pozisyonunda, uzun zincirli doymuş veya doymamış yağ asitlerini ise sn–1,3 pozisyonlarında bulundurmaktadırlar. Bu özgün yapı sadece anne sütü yağında görülmektedir (Şahin Yeşilçubuk ve Karaali 2008). Yağların bağırsaklarda

sindirimi sırasında 1,3 spesifik enzim olan pankreas enzimi rol almaktadır. Sindirim esnasında bu lipaz enzimi beslenme yoluyla alınan triaçilgliserol moleküllerinin 1. ve 3. pozisyonlarında yer alan yağ asitlerini hidroliz etmekte ve bu hidroliz sonucunda 2-monoaçilgliseroller (2-MAG) ve triaçilgliserolün 1. ve 3. pozisyonundan ayrılan yağ asitleri karışımı oluşmaktadır (Hamam ve Shahidi 2004, Şahin Yeşilçubuk ve Karaali 2008). Açığa çıkan yağ asitlerinin büyük bir kısmı sütte bulunan kalsiyum iyonları ile sabun oluşturarak atılmaktadır. Bu durum bebeklerde hem enerji kaybına hem de iskelet sisteminin gelişimi için gerekli olan kalsiyum gibi minerallerin kaybına neden olmaktadır. Oysa anne sütünde sn-2 pozisyonunda yer alan palmitik asit sindirim sırasında korunmakta ve 2-monoaçilgliserol olarak absorplanmakta olduğu için, anne sütü ile beslenen bebeklerde kalsiyum sabunu oluşumu hemen hiç gözlenmemektedir. Geleneksel ticari bebek mamalarında kullanılan bitkisel kaynaklı yağlarda, palmitik asidin %80'inden fazlası triaçilgliserollerin 1. ve 3. pozisyonunda yer almakta ve bebeğin mamayı sindirimi sırasında, palmitik asit ve stearik asit gibi serbest yağ asitleri ile çözünmeyen kalsiyum sabunları oluşturmaktadır. Oysa anne sütü ile beslenemeyen bebeklerin mamalarında kullanılan yağların yapısında, anne sütü yağına benzer şekilde, 2. pozisyonunda palmitik asit yüzdesi yüksek triaçilgliseroller bulunması durumunda kalsiyum absorpsiyonu artmaktadır. Palmitik asidi yüksek miktarlarda içeren ve triaçilgliserol molekülündeki pozisyonu spesifik olarak belirtilmeyen formüllerle beslenen yeni doğmuş bebeklerde kalsiyum absorpsiyonu alınan miktarın sadece %6'sı kadar gerçekleşirken, anne sütüyle beslenen bebeklerde bu oran %51'e yükselmiştir. Bu nedenle anne sütü yağının özgün yağ asidi dizilimi bebek beslenmesi ve gelişimi açısından büyük önem taşımaktadır (Şahin Yeşilçubuk ve Karaali 2008). Funguslardan elde edilen yağda palmitik asit en fazla bulunan doymuş yağ asididir (Denli ve Tekin 2000). Fakat maya ve küflerden elde edilen mikrobiyel yağlarda da bitkisel yağlara benzer şekilde doymuş yağ asitlerinin gliserolün 2. pozisyonunda neredeyse hiç bulunmadığı bildirilmektedir. Çoklu doymamış yağ asitlerini ihtiva etmesi durumunda ise gliserol üstündeki yağ asitleri yerleşimi balık yağına benzerlik göstermektedir (Ratledge 1993). Bu nedenle funguslardan elde edilen mikrobiyel yağın, anne sütüne benzer yapılandırılmış yağ üretiminde içerdiği palmitik asit ve diğer çoklu doymamış yağ asitleri nedeniyle önemli bir kaynak olarak düşünülebileceği görülmektedir.

Son yıllarda “**yapılandırılmış yağlar**” (YY) olarak tanımlanan enzimatik interesterifikasyonla modifikasyona uğratılmış yağlar konusunda çalışmalar yapılmaktadır. Yapılandırılmış yağlar, gliserol molekülünün yağ asitlerinin doğal pozisyonu değiştirilmiş ya da uzun zincirli çoklu doymamış veya orta zincirli yağ asitlerinin spesifik olarak yerleştirilmesi suretiyle yağ asidi profili değiştirilmiş triaçilgliseroller veya yeni triaçilgliserol eldesi için sentezlenen triaçilgliseroller olarak tanımlanmaktadır (Hamam ve Shahidi 2004, Şahin Yeşilçubuk ve Karaali 2008, Zhang vd 2009). Enzimlerin katalizörlüğünde gerçekleşen enzimatik interesterifikasyon modifikasyonları ile kakao yağı ikameleri, anne sütü yağına benzer yapılandırılmış triaçilgliseroller, kısmi açilgliseroller, zenginleştirilmiş yağlar, kalorisi azaltılmış yağlar ve çeşitli lipit ürünlerinin üretimi mümkün olabilmektedir (Şahin vd 2003, Zhang vd 2009). Bunun yanında yapılandırılmış yağların; serum triaçilgliserol, LDL kolesterol ve toplam kolesterolün düşürülmesi, immün sistemin fonksiyonlarının iyileştirilmesi ve kalp veya damarda kan pıhtılaşmasına (thrombosis) karşı korunması, protein bozulmasının azaltılması, diğer katı yağların absorpsiyonunun düzeltilmesi, düşük kalori ve retiküloendotelyal sistem (immün sistemin bir parçası) fonksiyonlarının korunması, azot dengesinin korunması ve kanser riskinin azaltılması gibi çok önemli potansiyel biyolojik fonksiyonları ve besleyici özelliklerinden dolayı ilgi artmaktadır (Hamam ve Shahidi 2004, Zhang vd 2009).

Orta zincir uzunluğundaki yağ asitleri (MCFA) karbon zincir uzunluğu 6-12 arasında değişen doymuş yağ asitleridir. Konvensiyonel olarak bu yağ asitleri hindistan cevizi ve palm çekirdeği yağı gibi tropik meyve yağlarından hazırlanmaktadır. Orta zincir uzunluğundaki triaçilgliseroller (MCT) eşsiz bir yapısal ve fizyolojik özellik göstermektedir. Vücutta kolaylıkla absorblanıp, glikoz kadar hızlı metabolize edilmekte ve kandan kolaylıkla temizlenebilmektedir. Bu bakımdan esansiyel ya da spesifik bir yağ asidini içeren yapılandırılmış yağ hazırlanması oldukça gerekli görülmektedir. ARA tek hücre yağı, ARA'nın zengin bir kaynağıdır (%40-50 ARA). ARA tek hücre yağının bir mikrofungus olan *Mortierella alpina* tarafından üretildiği bilinmektedir. Hızlı enerji sağlaması için orta zincir uzunluğundaki yağ asitleri ile şartlı olarak esansiyel yağ asidi kaynağı olarak uzun zincirli yağ asidi ARA'nın karışımını içeren yapılandırılmış yağ hazırlanmasının, malabsorpsiyon sendromlarının hafifletilmesinde yararlı olabildiği

bildirilmiştir. Bu şekilde hazırlanmış, ARA ile zenginleştirilmiş monoaçilgliserollerin (MAG) tamamen sindirilebildikleri ileri sürülmektedir (Hamam ve Shahidi 2004).

2.2.9. Endüstriyel ölçeklerde mikrobiyel yağ üretimi ve ekonomik değeri

Tek Hücre Yağı üretim proseslerinde dikkat edilmesi gereken önemli bir husus, kullanılan mikroorganizmanın istenen yağ asidini yüksek miktarlarda ana bileşen olarak üretmesidir. Fakat hiçbir yağlı mikroorganizma yalnızca tek bir çoklu doymamış yağ asidini içeren yağ üretmez. Mesela ticari “Martek Prosesi”nde kullanılan *Cryptocodinium cohnii* DHA oranı toplam yağ asitleri içerisinde %40-50 arasında değerlere ulaşan triaçilgliserol formunda yağ üretmektedir. Bununla birlikte üretilen tek yağ asidi bu değildir, diğer yağ asitlerini de içermektedir. Bu yağda diğer yağ asitlerinden oleik asit kısmi olarak oldukça düşük miktarlarda bulunmaktadır. İçerdikleri yağ asitleri bakımından eşsiz bir karaktere sahip olan bu yağlar, ne bitkilerden ne de hayvansal kaynaklardan elde edilen yağlara hiç benzememektedir. Bitkisel ve hayvansal kaynaklı yağlarda doymuş ve doymamış yağ asitleri içerik olarak daima belirli bir sınır içerisinde bulunmaktadır. Bu yüzden belirli bir yağ asidini yüksek oranda içeren yağ üretilemez. Dolayısıyla spesifik olarak tek bir çoklu doymamış yağ asidine olan diyetel ihtiyaç sadece mikrobiyel kaynaklardan karşılanabilmektedir. Son 20 sene içerisinde Tek Hücre Yağı üretimine olan ilgi bilimsel araştırmalardan çok ticari alanlara da yönelerek bu alanda endüstriyel üretime başlanmıştır, bebeklerin beslenmesi için gerekli olan anahtar çoklu doymamış yağ asitlerinin temel kaynakları haline dönüşmüştür. Aynı zamanda bu mikrobiyel ürünlere yetişkin insanların diyet katkıları olarak da artan büyük bir ilgi meydana gelmiştir. Bunlardan özellikle DHA içeriği zengin yağların koroner kalp rahatsızlıklarının ve Alzheimer hastalığı gibi dejeneratif hastalıkların başlangıcının önlenmesinde diyetel katkı olarak son zamanlarda önerilmesiyle birlikte kullanımına olan ilgi de her geçen gün artış göstermektedir (Ratledge 2004).

Bütün bu ilgiler neticesinde DHA yağ asidine olan talep, artış gösterirken özellikle bazı ticari şirketler konunun önemini kavramış ve endüstriyel ölçekli üretimler gerçekleştirmişlerdir. Mesela ABD’de bir ticari firma alg lipidlerini kullanarak DHA

içeriği yüksek yağ üretmektedir. Bunun gibi büyük endüstriyel ölçeklerde gelişme gösterebilecek benzer organizmalar konusunda çeşitli araştırmalar yapılmış ve bunların muhtemel DHA kaynakları olarak endüstriyel üretimlerde kullanılmak üzere potansiyele sahip olabilecekleri belirtilmiştir. ABD’de gerçekleştirilen üretimle eş zamanlı olarak 1980’lerin sonlarına doğru Japonya’da ARA üretimi üzerine çalışmalar yapılmış ve *Mortierella alpina* lipitlerinin temel çoklu doymamış yağ asidi kaynağı olarak endüstriyel ölçeklerde üretimi gerçekleştirilmiştir (Ratledge 2004).

DHA üretimi için farklı mikroorganizmaların kullanıldığı bilinen en az 3 farklı endüstriyel üretim prosesi mevcuttur. ARA üretiminde ise *Mortierella alpina*’nın değişik suşlarının kullanıldığı Avrupa, Çin ve Japonya’da farklı prosesler uygulanmaktadır. Bebek mamalarına katılan ARASCO™ ve DHASCO™, 2:1 oranında karıştırılıp “Formulaid” ticari markası adı altında satılmaktadır. 2003 yılı rakamlarına göre bu karışımdan dünya çapında 700 ton üretildiği, 60’den fazla ülkede bebek maması preparatlarında kullanıldığı ve üretim miktarının 2004 yılında tahmini olarak 1000 tonun üstünde olduğu bildirilmiştir (Ratledge 2004).

Tek Hücre Yağının ticari olarak üretiminde değişik ülkelerde farklı ticari firmaların geliştirdikleri bazı endüstriyel üretim prosesleri mevcuttur:

- DSM Prosesi:

İtalya’da 1000 m³’lük fermentörler kullanılarak gerçekleştirilen “DSM” prosesi ile *Mortierella alpina* kullanılarak ARA-SCO üretimi gerçekleştirilmektedir. Bu prosesde hücrelerdeki yağ içeriği %40 (w/w) düzeyindedir. Üretilen bu yağ özellikle Martek Biosciences Şirketine satılmakta ve 2:1 (v/v) oranında DHASCO™ ile karıştırılıp “Formülaid” ticari adı altında bebek mamalarına katılmaktadır. 2003 yılı rakamlarına göre bu yağın üretim miktarı 480 tondur.

- Wuhan Alking Prosesi:

Wuhan Alking Mühendislik Şirketi tarafından Çin’in Wuhan şehrinde uygulanmaktadır. 50-100 m³ kapasiteli fermentörlerde *Mortierella alpina* kullanılarak ARA-SCO üretimi gerçekleştirilmektedir.

Amerikan tarım ve gıda şirketi olan Cargill'de 2004 yılından itibaren ARA-SCO üretimi gerçekleştireceğini ve bunu ABD ve Avrupa dışına satacağını da bildirmiştir.

- Martek Prosesi:

Cryptocodinium cohnii kullanılarak %40'ın üzerinde yağ düzeyine sahip biyokütle üretimi gerçekleştirilmektedir. Martek Bioscience Şirketi tarafından 100 m³'lük fermentörler kullanılarak üretim gerçekleştirilmektedir. Üretilen DHA-SCO, ARA ile birlikte özellikle bebek mamaları üretimi için kullanılmaktadır. 2003 rakamlarına göre üretilen yağ miktarı 240 tondur.

- Omega-Tech Prosesi:

Schizochytrium spp. kullanılarak DHA-SCO üretimi gerçekleştirilmektedir. OmegaTech Inc., Boulder, CO şirketi tarafından üretilmekte ve "DHAGold" ismi ile de bilinmektedir. Biyoküttele üretilen yağ miktarı %40 düzeyindedir. Önceleri özellikle başta hindi olmak üzere bazı hayvan yemlerinin zenginleştirilmesi amacıyla üretilirken, daha sonradan yetişkin insanların besin takviyesi olarak üretim hedefini değiştirmiştir. 2003 yılı itibarıyla bu yağın üretim miktarı 10 ton'dur.

- Nutri-nova prosesi:

Ulkenia spp. kullanılarak 80 m³'lük fermentörlerde DHA-SCO üretimi gerçekleştirilmektedir. Nutrinova GmbH şirketi tarafından Almanya'nın Frankfurt şehrinde üretilmekte ve "DHActive" ticari adı altında satılmaktadır (Ratlidge 2004).

Funguslardan elde edilen GLA'nın ticari amaçlı üretimi için birçok teşebbüs ve çaba vardır. GLA için pazar talebi dünya çapında 2000 ton üzerinde olduğu tahmin edilmektedir. GLA'nın satış fiyatının yaklaşık olarak 100 dolar/kg ham yağ olduğu düşünülürse ekonomik açıdan oldukça büyük bir değere sahip olduğu görülmektedir. Diğer bir yağ asidi EPA ise sadece Japonya'da 125 ton civarında talep almakta ve bu da 600 dolar/kg saf EPA üzerinden satılmaktadır (Alonso ve Maroto 2000).

2.3. Peyniraltı Suyu

Doğal niteliklerini kısa bir sürede kaybeden sütün değerlendirilmesi bakımından önemli bir süt ürünü olan peynir, hayvansal protein gereksiniminin karşılanmasında başlıca besin kaynaklarından biridir. Süt bileşenlerinin sadece bir kısmını kullanabilen peynir endüstrisinde, yan ürünler içerisinde peyniraltı suyu ilk sırada yer almaktadır (Kurt 1990, Sienkiewicz ve Riedel 1990, Akpınar Bayizit ve Özcan Yılsay 2004, Üçüncü 2004b). Sütün peynir mayası (rennet enzimi) veya organik asitle pıhtılaştırılmasından ve peynirin esasını oluşturan pıhtının alınmasından sonra, geri kalan yeşilimsi sarı renkteki protein (toplam proteinlerin %20'si) (Kurt 1990, Sienkiewicz ve Riedel 1990, Metin 1998, Demirci vd 2000, Üçüncü 2004a, Üçüncü 2004b, Atra vd 2005), laktoz, mineral maddeler ve vitaminlerce zengin sıvı kısım, peyniraltı suyudur (Üçüncü 2004b). Zengin besin içeriğine sahip peyniraltı suyu ortalama olarak %6 kuru madde, %0.05-1 yağ, %0.55-1.80 protein, %3.8-4.9 laktoz ve %0.191-0.5 mineral madde içermektedir (Demirci vd 2000). Kısacası sütün rennet enzimi ya da asitle çöktürülemeyen, suda çözünür formdaki tüm bileşenlerini içermektedir (Sienkiewicz ve Riedel 1990).

Süt endüstrisinden kaynaklanan atık sularda en büyük kirlilik kaynağını, peynir üretimi sonucu oluşan ve kirletici vasfı yüksek olan peyniraltı suları oluşturmaktadır. Kabaca, peynir için işlenen 100 kg sütten, yaklaşık 90 kg peyniraltı suyu ortaya çıkmaktadır (Brown 2003).

Toplam süt kuru maddesinin %50'si peyniraltı suyunda yer almaktadır (Akpınar Bayizit ve Özcan Yılsay 2004, Atra vd 2005). Bileşimi, peynir yapımında uygulanan yöntem ve özellikle de sütün pıhtılaştırılmasında kullanılan maddenin asit veya maya enzimi oluşuna göre değişmektedir (Üçüncü 2004b). Bu kurumaddede bulunan öğeler besin değerini arttırmakla birlikte, özellikle laktoz, protein ve mineral madde bileşimi ile peyniraltı suyu fermentasyon endüstrisi için uygun bir hammadde özelliği taşımaktadır (Üçüncü 2004a). Bu nedenlerle peyniraltı suyundaki bileşenlerin, özellikle de laktozun değerlendirilmesinin gerekliliği ortaya çıkmaktadır (Akpınar Bayizit ve Özcan Yılsay 2004).

Kazein ve peynir üretimi sırasında elde edilen peyniraltı suyu elde edilme yöntemine bağlı olarak “**maya peyniraltı suyu**”, “**asit peyniraltı suyu**” ya da “teknik peyniraltı suyu” olarak isimlendirilmektedir (Sienkiewicz ve Riedel 1990, Üçüncü 2004b). Sütün laktik asit bakteri kültürleri yardımıyla asitlendirilmesi veya süte organik asit katılması yöntemiyle peynir yapımında açığa çıkan peyniraltı suyu, “**ekşi peyniraltı suyu**” ya da “**asit peyniraltı suyu**” olarak bilinmektedir. Buna karşın peynir üretiminde pıhtılaştırıcı ajan peynir mayası enzimi (rennet) kullanılması durumunda ortaya çıkan yan ürün ise, “**tatlı peyniraltı suyu**”, “**maya peyniraltı suyu**” ya da “**rennet peyniraltı suyu**” olarak adlandırılmaktadır. Bunların gerek bileşenleri gerekse özellikleri birbirlerinden oldukça farklıdır (Sienkiewicz ve Riedel 1990, Üçüncü 2004b). Sienkiewicz ve Riedel (1990) tarafından bildirildiğine göre Demmler, Hargrove ve Webb maya ve asit peyniraltı suyunun bileşimini şu şekilde vermişlerdir (Çizelge 2.5).

Çizelge 2.5. Maya ve asit peyniraltı suyunun bileşimi

Bileşen, Parametre	Maya Peyniraltı Suyu (Cheddar)	Asit Peyniraltı Suyu (Taze Peynir)	Asit Peyniraltı Suyu (Kazein)
Su (%)	93.3	95.58	94.0–95.0
Kurumadde (%)	6.7	6.42	5.4–6.0
Yoğunluk (15°C’de)	1.026	1.024–1.025	1.024–1.025
Protein (%)	0.60	0.53	0.90
Toplam Azot (mg/g)	1.30	1.19	-
Protein Olmayan Azot (mg/g)	0.34	0.34	-
Protein Azot (mg/g)	0.95	0.85	-
Çözünür Azot (mg/g)	1.30	1.18	-
Protein Olmayan Azot (% N)	26.20	28.60	-
Laktoz (%)	5.00	4.40	3.80–4.20
Kül (%)	0.52	0.60	0.70–0.80
Laktik Asit (%)	0.14	0.47	≤ 0.80
Sitrik Asit (%)	0.10	-	0.10
Kalsiyum (%)	0.05	-	0.10–0.13
Asitlik (°SH)	8.00	-	12
pH	6.10	4.70	4.50–4.70

Rennet enzimi etkisi ile elde kalan peyniraltı suyu yüksek oranda laktoz içermekte ve bu nedenle daha çok laktoz üretiminde kullanılmaktadır. Peyniraltı suyu

çok uzun sürelerde depolanamaz. Hatta 48 saat sonra içerisinde kalan laktik asit bakterilerinin faaliyeti sonucu laktoz üretimi için kullanılamaz hale bile gelmektedir. Asitlik değerindeki artışla birlikte laktoz içeriğinde azalma olmaktadır. Genel olarak taze maya peyniraltı suyu ve asit peyniraltı suyu 5 güne kadar 5 ila 10°C'de depolanabilmektedir (Sienkiewicz ve Riedel 1990).

2.3.1. Peyniraltı suyunu değerlendirme yöntemleri

Peyniraltı suyunun tam olarak değerlendirilebilmesi önemli bir husustur. Peyniraltı suyunun değerlendirilmesi ile;

- Peynir işleyen fabrikaların atık sularından kaynaklanan kirliliklerin azaltılması,
- Peyniraltı suyu proteini, peyniraltı suyu kreması, laktoz ve süt mineralleri gibi tipik peyniraltı suyu ürünleri ile ekonomik açıdan yeni pazar oluşturulması,
- Yeni peyniraltı suyu ürünlerinin geliştirilmesi (laktitol vs.) sağlanmış olacaktır (Sienkiewicz ve Riedel 1990).

Dünya genelinde bazı gelişmiş ülkelerde peyniraltı suyunun geniş kullanım alanları mevcuttur. Bu alanlar genel olarak şöyle sıralanabilmektedir:

1. Hayvan beslenmesinde;
 - Geviş getiren hayvanların beslenmesinde (sıvı peyniraltı suyu, koyulaştırılmış peyniraltı suyu ve peyniraltı suyu tozu),
 - Domuz ve kümes hayvanlarının beslenmesinde (sıvı peyniraltı suyu, koyulaştırılmış peyniraltı suyu ve peyniraltı suyu tozu),
 - Diğer bazı hayvan yemlerinin hazırlanmasında (peyniraltı suyu tozu katılarak silaj üretimi, peyniraltı suyunun süt ikamelerinde kullanımı, peyniraltı suyu protein konsantreleri ve permeatları)
2. Kurutulmuş peyniraltı suyu ve peyniraltı suyu ürünlerinin eldesinde;
 - Peyniraltı suyu tozu,
 - Peyniraltı suyu proteini ve peyniraltı suyu protein konsantresi,

- Laktoz üretimi,
3. Peyniraltı suyunun ve peyniraltı suyu bileşenlerinin insan gıdası olarak kullanımında;
- Peyniraltı suyu içecekleri (alkolsüz peyniraltı suyu içecekleri, alkollü peyniraltı suyu içecekleri, peyniraltı suyu proteini katılmış içecekler ve süt benzeri içecekler),
 - Peyniraltı suyu kreması, tereyağı ve peyniraltı suyu peyniri,
 - Jel halindeki peyniraltı suyu ürünleri,
 - Fırıncılık ve makarna ürünlerinde kullanımı,
 - Şekerleme sanayinde kullanımı (koyulaştırılmış peyniraltı suyu, peyniraltı suyu tozu ve peyniraltı suyu protein konsantreleri),
 - Dondurulmuş ürünlerde kullanımı,
4. Peyniraltı suyunun fermentasyonlarda kullanımı;
- Maya fermentasyonunda (biyokütle üretimi),
 - Laktik asit bakterileri ve kefir mayaları ile biyokütle üretimi,
 - Küfler ya da bakteriler ile biyokütle üretimi,
 - Laktaz enzimi üretimi,
 - Etil alkol ve organik asitlerin üretimi (etil alkol, asetik asit, laktik asit ve laktat, laktobiyonik asit, sitrik asit ve glukonik asit),
 - Vitamin üretimi (kobalaminler, riboflavin ve n-bütanol),
 - Fermente peyniraltı suyu içecekleri,
 - Biyogaz gibi diğer bazı fermentasyon ürünleri üretimi.

Yaklaşık olarak %4.8 laktoz içeriğine sahip peyniraltı suyu kullanılabilir karbon açısından oldukça zengindir. Bununla birlikte peyniraltı suyunda kullanılabilir azot miktarının düşük olduğu bildirilmektedir. Mayalarla yapılan çalışmalarda (peyniraltı suyundan maya üretiminde) peyniraltı suyundaki amonyum azotunun %50'sinin ve organik azotun ise yaklaşık yarısının kullanılabildiği belirtilmiştir. Bu anlamda peyniraltı suyunda bulunan azot kaynakları proteoz pepton, amino asit ve diğer bileşikler olarak sıralanmakta fakat peyniraltı suyu proteinlerinin bu gruba girmediği

belirtilmektedir. Fosfor kaynağının özellikle maya üretimi için yeterli olduğu, suda çözünür vitaminler bakımından da yine yeterli olduğu, ilave vitamin eklenmesine gerek duyulmadığı; fakat vitamin ihtiyacının fermentasyonda kullanılan mikroorganizma türüne göre değişiklik gösterebileceği bildirilmektedir. Mikrobiyel protein üretimi amacıyla Waldhof fermentörü ile yaklaşık 60 yıl önce *Saccharomyces* ve *Torula* mayaları kullanılarak maya biyokütlesi üretimi gerçekleştirilmiştir. Peyniraltı suyu kullanılarak gerçekleştirilen bu üretimde 100 l peyniraltı suyundan yaklaşık 14 kg maya kuru biyokütlesi üretilmiştir. Bu biyokütlenin %59 oranında protein içerdiği bildirilmiştir. Yine kullanılan peyniraltı suyundan da ısıtma yöntemiyle 1.2 kg koagüle peyniraltı suyu proteini elde edildiği de ifade edilmiştir. (Sienkiewicz ve Riedel 1990).

Peyniraltı suyunun gıda olarak kullanılacak bazı küf türleri için de uygun besi ortamı oluşturabileceği, bu amaçla *Oospora (Geotrichum)*, *Candida*, *Penicillium* ve *Rhizopus* küflerinin kullanıldığı bildirilmektedir. Belirli küflerin misellerinin peyniraltı suyunda geliştirildikten sonra kimi et ürünlerinin hazırlanmasında kullanıldığı belirtilmektedir. Özellikle bakterilerle karışık kültürleri üzerinde çalışmalar yapılmıştır. Bu amaçla ilk önce bakterilerin (özellikle *E. Coli*) geliştirilmesinin, küf gelişim oranı üzerine stimüle edici bir etki gösterdiği bildirilmiştir. Böylece aynı besi ortamında (peyniraltı suyu) daha sonra *Penicillium roqueforti*, *Rhizopus oligosporus* ve *Geotrichum candidum* geliştirilmektedir. Bu şekilde 100 ml peyniraltı suyundan 0.97 ila 1.79 g arasında biyokütle proteini elde edilebildiği belirtilmektedir. Bakteriler olmadan bu protein veriminin 0.64 ila 0.80 arasında değiştiği ifade edilmektedir. Bakterilerle hazırlanan karışık kültürlerden elde edilen proteinin özellikle lizin ve metionin gibi esansiyel amino asit içeriği bakımından bakteriler olmadan elde edilenden çok daha zengin olduğu belirtilmiştir (Sienkiewicz ve Riedel 1990).

Yapılan başka bir çalışmada ise deproteinize peyniraltı suyu, mineral tuzları ile zenginleştirilmiş ve nişasta (patates) ile karıştırıldıktan sonra elde edilen bu besi ortamına küf kültürleri inoküle edilmiştir. 3-4 gün havalandırılmalı fermentasyondan sonra kurutulmuş besi ortamının %16.5 ile %24.0 arasında azot bileşiklerini içerdiği ve yağsız süt tozu ile karıştırıldığında kümes hayvanları için üstün nitelikli bir besin olduğu bildirilmiştir (Sienkiewicz ve Riedel 1990).

Aspergillus oryzae kültürü (insan gıdası olarak önceden denenmiş olan bir küf) aşılama peyniraltı suyu permeatının fermentasyonu sonucunda, iyi bir amino asit profiline, aynı zamanda düşük nükleik asit ve düşük yağ içeriğine sahip, biyokütlesinde %40 protein içeren üstün kaliteli bir ürün elde edildiği belirtilmiştir. *Aspergillus oryzae* kültürünün optimum koşullar altında yaklaşık %3 laktozu 3 saat içerisinde fermente edebildiği, kullanılmış atık peyniraltı suyunda ise BOD değerinin %95 oranında azaldığı bildirilmiştir. Bu fermentasyon işlemi ile ilgili olarak ekonomik değerlendirmeler yapılmış, 300000 ABD doları yatırım ve 108000 ABD doları yıllık işletim maliyetinin olduğu, buna karşılık vergiler hariç gelirin 1500000 ABD dolarından fazla olacağını hesaplandığı ifade edilmiştir (Sienkiewicz ve Riedel 1990).

Yukarıda bahsedildiği gibi endüstriyel anlamda peyniraltı suyu tozu, laktoz, protein, mikrobiyel protein (tek hücre proteini), peyniraltı suyu şurubu, peyniraltı suyu içecekleri, alkol, laktik asit, asetik asit, sitrik asit, mikrobiyel yağ (tek hücre yağı), amonyum laktat ve biyogaz üretimleri gibi alanlarda değerlendirilebilen peyniraltı suyu (Üçüncü 2004b, Panesar vd 2007), insan gıdası olarak direk kullanılmaz. Esansiyel aminoasitler açısından fakir olan ekmek ve diğer hububat mamullerinin zenginleştirilmesi amacıyla ve şekerleme sanayinde peyniraltı suyu tozu yaygın olarak kullanılmaktadır. Ülkemizde basit bir yöntemle, peynir suyu ısıtılarak serum proteinlerinin çökmesi sağlanmakta ve bu yolla, "lor" adı verilen bir ürün elde edilmektedir (Metin 1998). Çevre sorunlarına ve doğanın korunmasına bilinçli olarak eğilen ve süt endüstrisi gelişmiş olan ülkelerde peyniraltı suyundan çok daha fazla sayıda ürün (ilaç sanayi, etil alkol üretimi, yem sanayi, laktoz üretimi v.s.) eldesinde yararlanılmaktadır (Demirci vd 2000, Özrenk vd 2003). Bunun yanı sıra peyniraltı suyunun bitki besin maddesi olarak da bir değerinin bulunduğu ve özellikle gübreleme amacıyla kullanıldığında toprağa olumlu katkılarının olduğu bildirilmektedir (Sienkiewicz ve Riedel 1990, Özrenk vd 2003).

2.3.2. Peyniraltı suyundan kaynaklanan çevre sorunları

Bilindiği gibi organik maddelerin biyokimyasal oksidasyonu havalı (aerobik) ve havasız (anaerobik) olmak üzere iki şekilde gerçekleşmektedir. Aerobik organizmaların

neden olduğu olaylarda organik maddeler, oksijenle yükseltgenerek (oksitlenerek) enerji düzeyleri düşük ürünlere dönüşmektedir. Azotlu maddeler ise nitrit ve nitrate yükseltgenerek “**nitrifikasyon**” olayları meydana gelmektedir. Doğada biyolojik indirgenme ve yükseltgenmelerin birlikte oluştuğu bu olaylara “**aerobik çevrim**” adı verilmektedir (Üçüncü 2004b).

Havasız ortamda bekletilen maddeler ise anaerobik mikroorganizmalar aracılığı ile ayrıştırılmaktadır. Anaerobik bozunma iki aşamada gerçekleşmektedir. İlk aşamada, karmaşık yapıdaki organik maddeler daha basit organik asitlere; ikinci aşamada ise, organik asitler metan ve karbondioksit'e dönüştürülmektedir. Bu olaylar “**anaerobik çevrim**” olarak adlandırılmaktadır (Üçüncü 2004b).

Suda bulunan organik kirleticilerin saptanabilmesinde, “**oksijen parametre yöntemleri**” ve “**karbon parametre yöntemleri**” gibi çeşitli analitik yöntemler kullanılmaktadır. Bunlardan özellikle kimyasal ve biyokimyasal oksijen gereksiniminin belirlenmesi büyük önem taşımaktadır. Organik maddelerin mikroorganizmalar tarafından parçalanması ortamdaki oksijenin tüketimine neden olduğundan, kirli suların durumu için indikatör (belirteç) olarak oksijen istemi ya da gereksinimi dikkate alınmalıdır (Üçüncü 2004b).

- Kimyasal oksijen istemi (COD):

Kimyasal oksijen istemini ifade eden COD değeri, mikroorganizmaların aracılığı olmadan atık bir suyun oksijen ile beslenen kısımlarının oksijen harcaması, yani organik maddelerin yalnızca kimyasal oksidasyonu için gerekli oksijen miktarıdır. Şu halde kimyasal oksijen gereksinimi, atık sudaki organik maddelerin kuvvetli bir kimyasal oksitleyici tarafından oksidasyonu sonucu harcanan oksijen miktarına eşdeğerdir. Oksitleyici madde olarak genellikle potasyum permanganat veya potasyum bikromat kullanılmaktadır (Üçüncü 2004b). Yani belirli bir atık sıvı ele alındığında COD değeri, bu atık sıvının yüklediği organik yük anlamına gelmektedir. COD değeri biyokimyasal oksijen istemi değerinden daha yüksektir. Çünkü COD değerinin potasyum dikromat ile oksidasyonuyla tayininde biyolojik olarak ayrışmaya maruz kalmayan maddeler de

hesaba katılmaktadır (Sienkiewicz ve Riedel 1990).

- Biyokimyasal oksijen istemi (BOD):

Atık sulardaki organik maddelerin 20°C'de 5 gün içinde oksidatif olarak parçalanabilmeleri için mikroorganizmalar (aynı zamanda çoğalabilmek için) tarafından tüketilen oksijen miktarı olup litrede mg olarak ifade edilmektedir (Sienkiewicz ve Riedel 1990, Üçüncü 2004b).

Yukarıda da belirtildiği gibi, atık suların arıtılmasında önem taşıyan üç türlü organik madde grubu vardır. Bunlardan karbonhidratlı ve yağlı bileşikler C, H ve O elementlerini içerdiğinden havalı (aerobik) oksidasyon sonunda ne kadar oksijen harcanacağı kolayca hesaplanabilmektedir. Ancak, protein gibi azot içeren maddelerde nitrifikasyon olayları da olduğu için gerekli oksijen hesaplaması çok karmaşıktır. Kükürt ve fosfor gibi elementler içeren organik maddelerde bu hesaplamalar, çok daha karmaşık olmakta ve bu duruma göre atık suda bulunan organik maddelerin biyokimyasal oksijen gereksinimlerini kuramsal olarak hesaplayabilmek için suda bulunan tüm organik maddelerin belirlenmesi gerekmektedir. Bu ise zor ve zaman alıcı, çok uzun bir işlemdir. Bu nedenle konu ile ilgili kuruluşlar tarafından BOD parametresinin kullanılması önerilmiştir (Üçüncü 2004b).

Havalı (aerobik) koşullar altında ayrışabilen tüm organik maddelerin biyolojik oksidasyonu sırasında mikroorganizmalarca kullanılan oksijen miktarı BOD olarak adlandırılmaktadır. Araştırmalar, süt sanayi atıklarının parçalanması için gerekli biyokimyasal oksijen gereksiniminin çok yüksek değerlere ulaştığını göstermiştir. Peyniraltı suyunun biyokimyasal oksijen gereksinimi 35-50 g/l değerlerine ulaşabilmektedir (Üçüncü 2004b). 1 kg BOD süt ürünlerindeki yaklaşık 1 kg organik kurumaddeye, 1 kg COD ise süt ürünlerindeki yaklaşık olarak 0.65 kg organik kurumaddeye karşılık gelmektedir (Sienkiewicz ve Riedel 1990).

Biyokimyasal oksijen gereksinimi, kişi başına düşen kirletme miktarını belirtmek için de kullanılmaktadır. Yaşam standardının ve dolayısıyla su tüketiminin ve

bu bağlamda çok fazla atığın oluştuğu ülkelerde, kişi başına günde ortalama 100 litre su ve yaklaşık 54 g biyokimyasal oksijen gereksinimi hesaplanmaktadır. 1 litre peyniraltı suyunun doğrudan atık sulara karışmasıyla oluşan kirlilik miktarı, yaklaşık 1 kişinin bir günde ürettiği kirliliğe eşdeğerdir. Örneğin günde 10 ton sütü peynire işleyen ve artakalan yaklaşık 8 ton peyniraltı suyunu değerlendirmeden döken bir işletme, 8000 nüfuslu bir yerleşim biriminin yol açtığı düzeyde çevre kirlenmesine neden olmaktadır. Şu halde peyniraltı suyu, işlenmeden özellikle protein ve süt şekerinden arındırılmadan çevreye verilmemelidir. İşletmelerin biyolojik ve kimyasal arıtma yöntemlerini uygulamaları gerekir (Üçüncü 2004b).

Zengin besin içeriğine sahip ve üretim sonunda fazla miktarda arta kalan peyniraltı suyu, yüksek maliyeti sebebiyle büyük bir kısmı değerlendirilmeyip atık olarak çevreye bırakılmaktadır. Bu zengin sütçülük artığı içerdiği mineral maddeler ve laktoz ile protein ve yağ gibi mikroorganizmalar tarafından biyolojik olarak parçalanabilen organik maddelerden dolayı büyük ölçüde kirlenme kaynağıdır. Akarsulara, göllere ve hatta denizlere atıldığında, ortamın oksijenini tükettiği için yaşamı olumsuz etkilemekte ve çevre kirlenmesine yol açmaktadır (Sienkiewicz ve Riedel 1990, Özrenk vd 2003, Üçüncü 2004b). İçerdiği bu organik maddeleri parçalayabilmek için mikroorganizmaların sudaki çözünmüş oksijeni kullanmasıyla birlikte suda yaşayan canlılar yaşamları için gerekli oksijeni bulamamakta ve ölmektedir. Sudaki yaşam için en az 5 mg/L miktarda çözünmüş oksijen gereklidir. Bu miktarın altına inildiğinde, sudaki canlıların yaşamı tehlikeye girer (Üçüncü 2004b). Yapılan bir çalışmada kanalizasyon şebekesine 3800 l peyniraltı suyunun yüklenmesi ile birlikte 1800 kişinin günlük kişisel ev ihtiyaçları kullanımında ortaya çıkardığı kirliliğe eşdeğer düzeyde kirlilik oluştuğu belirlenmiştir. Benzer konu üzerinde yapılan bir başka çalışmada 50000 mg/l laktoz, 9000 mg/l protein, 150 mg/l fosfor, 1500 mg/l azot içeriğine ve yaklaşık olarak 32000 mg/l BOD değerine ve 60000 mg/l COD değerine sahip peyniraltı suyunun 40-45 kişinin oluşturduğu atık sudaki kirliliğe eşdeğer kirlilik oluşturduğu bildirilmektedir (Sienkiewicz ve Riedel 1990).

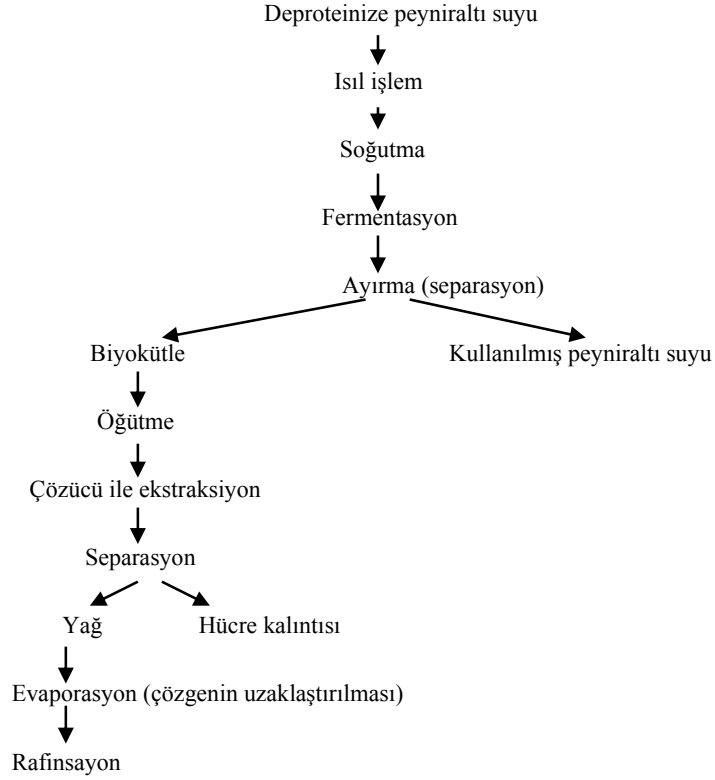
Dünyada süt üretiminde önemli bazı ülkelerde peynir üretimi 2008 yılı itibariyle AB15'de 7145000 ton, AB 25'de 8147000, AB 27'de 8276000, ABD'de 4793000 ton,

Arjantin’de 491000 ton, Avustralya’da 348000 ton, Brezilya’da 630000 ton, Kanada’da 396000 ton, İsviçre ‘de 179000 ton, Rusya’da 429000 ton ve Yeni Zelanda’da 345000 ton olarak verilmiştir (Anonymous 2009). Ülkemizde ise 1999 verilerine göre 200000 ton beyaz peynir üretildiği bildirilmektedir. Bu sayının ise 2000 yılında 220000 ton olduğu tahmin edilmektedir (Demirbaş vd 2002). 2002 yılında istatistiklere girmiş olan süt üretim miktarı 8408566 tondur (Anonim 2004). Bunun yaklaşık %20’sinin peynire işlendiği kabul edilirse işlenen süt miktarı yaklaşık olarak 1681713 tondur. Beyaz peynir üretiminde randımanın ortalama 1/5 olduğu göz önüne alındığında ülkemizde sadece 1681713 ton sütün beyaz peynire işlenmesi ile 1345370 ton peyniraltı suyunun açığa çıktığı görülmektedir. Bu miktarın ne kadarının işlendiği tam olarak bilinmemekte; fakat işletmelerin çoğunda peyniraltı suyu işleme tesislerinin olmadığı bilinmektedir. Peyniraltı suyunun büyük bir kısmının değerlendirilmeden atıldığı düşünülürse, çevre kirliliği ve besin değeri yüksek bir yan ürünün kaybı açısından büyük problemler oluşturduğu görülmektedir.

2.3.3. Peyniraltı suyundan mikrobiyel yağ üretimi

Apiotrichum curvatum’un (*Candida curvata*) laktozu kullanma eğilimi olduğu ve bu sebeple de peyniraltı suyu permeatından tek hücre yağı üretiminde potansiyele sahip olduğu belirtilmektedir. Elde edilen bu yağın özellikle kakao yağı benzeri yağ üretiminde kullanılmak üzere uygun olduğu bildirilmiştir (Ratledge 1993).

Peyniraltı suyundan mikrobiyel yağ üretimi sırasında izlenen işlem basamaklarını genel olarak ısıtma işlemi, fermentasyon, hücrelerin konsantrasyonu, kurutma, hücre duvarlarının parçalanması, ekstraksiyon, yağ/çözgen fazından hücre kalıntısının ayrılması ve yağsız hücrelerin taşınması olarak gruplayabiliriz (Ratledge 1993, Akpınar Bayazit ve Özcan Yılsay 2004, Ratledge 2004).



Şekil 2.5. Peyniraltı suyundan mikrobiyel yağ üretim basamakları (Akpınar Bayazit ve Özcan Yılsay 2004).

2.4. Mikrobiyel Fermentasyon ve Peyniraltı Suyu ile İlgili Yapılan Çalışmalar

Yapılan bir çalışmada β -karotenin *Mortierella ramanniana* var. *ramannaiana* küf kültüründe bulunan tek pigment olduğu bildirilmiştir (Attwood 1970).

Yağlı mayaların, karbon dışında diğer bir besin kaynağının tükenmesi durumunda hücre içinde kuru biyokütlenin %70 düzeylerine kadar yağ biriktirdiği bildirilmektedir. Bu mayalarda lipit biriktirilmesi biyokimyasal ve nitel anlamda iyi bilinmektedir. Düşük dilüsyon oranlarında sürekli yetiştirme, kesikli yetiştirmede olduğu gibi lipit birikimi ile sonuçlanmaktadır. Bununla birlikte, bu konudaki nicel ve kinetik analizlerin sınırlı olduğu belirtilmiştir. Yapılan çalışmada numune mayası olarak *Rhodotorula glutinis*'de lipit birikiminin kinetik ve enerjik analizleri daha nicel olarak gerçekleştirilmiştir. Bu analizlerin kısıtlı olmayan şartlar altında *Cryptococcus terricolus*'un anormal lipit birikimini açıklayabileceğinin düşünüldüğü ifade edilmiştir (Pan ve Rhee 1986).

Turcotte ve Kosaric (1988) *Rhodosporidium toruloides* ATCC 10788 yağlı mayasında lipit birikiminin tetiklenebilmesi için besi ortamında azotun kısıtlanmasının gerektiğini belirtmişlerdir. Kesikli kültür şartlarında yapılan çalışmada eksponensiyel fazın ortasındaki hücreler yıkanmış, 35 g L⁻¹ glikoz ve mineralleri içeren besi ortamında 10⁻² M ve 10⁻⁴ M azot düzeylerinde geliştirilmişlerdir. Veriler, lipit birikiminin daima azot düzeyi 3x10⁻⁵ M değerine ulaştığında başladığını ve başlangıç spesifik lipit veriminin sabit olduğunu göstermiştir. Bundan başka hücreler sıcaklık ve pH parametrelerinin 9 farklı kombinasyonuna (25°C, pH 4.5'ten 35°C, pH 7.5'e) tabii tutulmuştur. Her bir besi ortamına 0.5 g L⁻¹ oranında maya ekstraktı, 1 g l⁻¹ (NH₄)₂SO₄ ve mineral maddeler ilave edilmiştir. Beklendiği şekilde 25°C'de geliştirilen hücreler yüksek lipit içeriği vermiştir. Ayrıca pH 6.0-7.5 civarlarında düşük sıcaklığın etkisi hafifçe artmıştır. pH aynı zamanda azotunun tükenmesinden önce üretilen yağlarda zamana bağlı olarak yağ asidi profillerinin değişimi üzerine de etki ederken azotun tükenmesinden sonra üretilen yağlarda ise bütün sıcaklık ve pH kombinasyonlarında önemli düzeyde bir değişiklik meydana getirmemiştir.

Yağlı bir maya olan *Apiotricum curvatum*'un peyniraltı suyu permeatında lipit üretimi araştırılmış ve bu besi ortamında optimum çalışma koşulları belirlenmiştir. Sürekli fermentasyonda besi ortamının C/N oranının lipit üretimine etkileri üzerine yapılan çalışmalar, peyniraltı suyu permeatındaki hücrelerin lipit içeriklerinin, C/N oranı yaklaşık 25'e yükseltilene kadar değişmediğini ve kuru hücre ağırlığının %22 düzeyinde sabit kaldığını göstermiştir. Fazla azotlu peyniraltı suyu permeatında bütün laktozun tüketildiği maksimum dilüsyon oranı 0.073 h⁻¹ olarak bulunmuştur. C/N oranı 25-30'dan yüksek olduğunda lipit içeriği kademeli olarak artmış ve C/N oranı 70'de yaklaşık %50 düzeylerine çıkmıştır. C/N oranının 70'de maksimum sağlanabilir dilüsyon oranı 0.02 h⁻¹'ye düşmüştür. Bu verilerden peyniraltı suyu permeatında maksimum lipit üretiminin, C/N oranının 30-35 olması durumunda elde edilebileceği sonucuna varılmıştır. Normal olarak peyniraltı suyu permeatında C/N oranının 70 ile 101 arasında bir değere sahip olduğu, lipit üretim oranını optimize etmek için ilave azot katılması gerektiği belirtilmiştir. Peyniraltı suyu permeatında *A. curvatum*'un lipit üretim oranı dört farklı geliştirme yönteminde (kesikli, beslemeli-kesikli, sürekli ve kısmi yeniden kullanımlı) karşılaştırılmıştır. En yüksek hücre densitesi veren geliştirme

yötemlerinde en yüksek lipit üretim oranlarına ulaşılmıştır. Kısmi yeniden kullanımlı kültürde yaklaşık 1 g/L/h lipit üretim oranına ulaşılmıştır. Bu geliştirme tekniği kullanılarak oksijen takviyesinin optimize edilebilmesi durumunda lipit üretim oranının 2.9 g/L/h değerine ulaşabileceği hesaplanmıştır (Ykema vd 1988).

Candida curvata D'nin değişik pH, sıcaklık ve karbon kaynaklarında geliştirilmesi durumunda yağ sentezleme kapasitesinin belirlendiği bir çalışmada, üretilen mikrobiyel yağın C₁₂'den C₂₂'ye uzanan geniş bir aralıktaki yağ asitlerini içerdiği belirlenmiştir. Hücrelerin yağ asitleri kompozisyonunda olduğu gibi lipit fraksiyonlarının birbirine oranları da sıcaklık, pH ve besi ortamının içeriğine bağlı olarak değişim göstermiştir. Bütün şartlarda çalışılan yağlar; oktadekenoik, stearik ve linoleik asitçe zengin bulunmuştur (Leman vd 1990).

Peyniraltı suyunun ve sütün ultrafiltrasyonundan elde edilen permeatının alkollü içecek üretiminde kullanımı üzerine yapılan bir araştırmada permeat ve peyniraltı suyu %50 oranında üzüm suyu ve %20 oranında da glikoz şurubu ile karıştırılıp substrat olarak kullanılmıştır. Bütün substratlar *Kluyveromyces fragilis*, *Saccharomyces cerevisiae* ve *Saccharomyces boyanus* ile fermente edilmiştir. Fermentasyondan sonra alkollü içekte %4.4-%12.2 düzeylerinde alkol belirlenmiştir. Elde edilen alkollü içecekler 6 ay süre ile depolanmış ve lezzet ve doğallığı bakımından duyuşal değerlendirmeye tabii tutulmuştur. Özellikle %50 oranında üzüm suyu karıştırılmış olan substratla üretilmiş ve lezzetlendirilmiş alkollü içeceklerin duyuşal olarak diğerlerinden daha iyi olduğu belirlenmiştir (Akbulut vd 1991).

Yapılan bir çalışma ile 5(Z), 11(Z), 14(Z)-eikozatrienoik asit (20:3Δ5) ve 5(Z), 11(Z), 14(Z), 17(Z)-eikozatetraenoik asit (20:4Δ5) yağ asitlerinin *Mortierella alpina* 1S-4'nin Δ⁶-desaturaz-defektif mutantında bulunduğu belirlenmiştir. 20:4Δ5, sadece 24°C'den daha düşük sıcaklıkta geliştirildiğinde ya da gelişme ortamına α-linolenik asit veya 11(Z), 14(Z), 17(Z)-eikozatrienoik asitten birinin ilave edilmesi durumunda tespit edilmiştir. 20:3Δ5, 12-28°C'lerde geliştirildiğinde bulunmuştur. 20:3Δ5 miktarı 20°C'de geliştirilenlerde en yüksek düzeyde (27 mg g⁻¹ kuru misel) belirlenmiştir. Bu da miselin toplam yağ asitleri içerisinde yaklaşık %7 (wt) oranına denk gelmektedir. 20:4Δ5

birikimi için (6.4 mg 20:4/15/g kuru misel) optimum sıcaklık 12°C olarak bulunmuştur. Bu iki yağ asidinin çoğunun (mol olarak %75'den fazlası) triaçilgliserol fraksiyonunda bulunduğu bildirilmiştir (Jareonkitmongkol vd 1993).

Farklı bir çalışmada, fermentasyon prosesinde kullanılan su miktarında tasarruf edilmesi amaçlanmıştır. Araştırmacılar fermentasyon işlemini, fazla miktarlarda sıvı besi ortamının atıldığı ve aşırı suyun kullanıldığı bir işlem olarak karakterize etmekte ve bu durumun önüne geçilmesi gerektiğini bildirmektedirler. Fermentasyondan sonra geriye kalan kullanılmış sıvı atıkların minimize edilerek üretilen ürünün kullanılan sıvıya oranının artırılması gerektiği ifade edilmiştir. Çalışmada, kültür olarak yağlı bir maya olan *Apiotrichum curvatum* kullanılmış olup fermentasyonda kullanılan besi sıvısının sonraki fermentasyonlarda tekrar kullanılma durumu araştırılmıştır. Belirli bir kompozisyona sahip kullanılmış sıvı besi ortamının, sonraki fermentasyonlarda tekrar kullanılmasıyla gerekli su ve mineral maddenin %75 oranında bu yolla tekrar sağlanabileceği bildirilmiştir. Bu şekilde kullanılmış besi sıvısının sonraki kesikli fermentasyon işlemlerinde tekrar kullanımının hücre kütlesinde ve üretilen yağ içeriğinde değişiklik olmadan 7 ardışık prosese kadar tekrarlanabildiği belirtilmiştir. Bu anlamda %64'e varan oranlarda su tasarrufunun sağlandığını, bununla birlikte peyniraltı suyu permeatının besi ortamı olarak kullanıldığı durumlarda ise kullanılan besi sıvısının %50 oranında (taze besi sıvısı ile karıştırılması) üç kere, %75 ve %100 oranlarında da iki kere ardışık kullanımı durumunda yağ üretiminde azalma görüldüğü ifade edilmiştir. Bu inhibisyon etkisinin besi sıvısındaki iyon birikiminden kaynaklandığı, bir iyon değiştirici aşama ile iyon birikiminin önüne geçilebileceği ve fermentasyon performansının düzeltilebileceği bildirilmiştir (Hsiao vd 1994).

Nojima vd (1995), *Trichosporon sp.* mayasının düşük hücre yoğunluklu mutantlarından trigliserid salgılayan bir suş olan L-12'yi kullanarak bir çalışma gerçekleştirmişler ve bu mutant suşun orijinal suşlarına göre glikozdan ekstrasellüler trigliserid üretiminde çok üstünlük gösterdiğini tespit etmişlerdir. Çalışmada trigliserid birikiminin %75'in üzerinde olduğunu belirlenmiştir.

Hiruta vd'nin (1996a) yaptıkları çalışmada *Mortierella ramanniana*'nın bir

mutantı elde edilmiş ve yüksek düzeylerde GLA üretimi sağlanmıştır. Düşük sıcaklıklarda gelişmenin baz alındığı, çok sayıdaki denemeler sonucunda yüksek oranda GLA üretebilen *Mortierella ramanniana* mutant MM15-1 elde edilmiştir. Erlenmayerlerde gerçekleştirilen geliştirme denemelerinden elde edilen sonuçlara göre mutant MM15-1 tarafından üretilen toplam lipit oranı, kendisine akraba suş olan *Mortierella ramanniana* IFO 8187'ye göre %14 oranında daha düşük olmasına rağmen, lipitteki GLA içeriği bakımından kıyaslandığında %16.5 GLA içeriği ile bu akraba suşdan yaklaşık 2 kat daha fazla artış gösterdiği belirlenmiştir. MM15-1 mutant suşunun bilhassa fosfolipit fraksiyonlarındaki GLA oranında önemli düzeyde artış belirlenmiştir. Ayrıca, MM15-1 mutant suşunun fosfolipitlerinin TLC (ince tabaka kromatografisi) ile fraksiyonlarına ayrılmasından sonra lipit kompozisyonunun analiz sonuçları, fosfatidiletanolamin (PE) (phosphatidylethanolamine) ve fosfatidilinositol (PI) (phosphatidylinositol) fraksiyonlarındaki GLA oranlarında önemli düzeyde artış olduğunu göstermiştir. Çalışmada MM15-1 mutant suşunun 600 L fermentörde geliştirilmesi durumunda, %18.3 GLA içeren lipit ürettiği belirlenmiştir. Bu da aynı koşullar altında üretimi gerçekleştirilen akraba suşun lipitlerindeki GLA düzeyinin 2 katı olduğu belirtilmiştir.

Yüksek GLA içerikli lipit üretimi amacıyla *Mortierella ramanniana* mutant MM15-1'in optimum gelişme koşullarının araştırıldığı bir çalışma yapılmış ve başlangıç glikoz konsantrasyon düzeyi için optimum değer 300 g/l, pH değeri için ise 4.0 olarak belirlenmiştir. Geliştirme süresince bu mutant suşun hem topak (pellet) hem de ipliksi (filamentous) formlarının oluşumu gözleniş, topak formlarının ipliksi formlarına göre daha yüksek oranda GLA içerikli lipit birikimi gösterdiği saptanmıştır. Bu sebeple kültür koşullarının topak formlarının oluşumu üzerine etkisi 30-l jar fermentör kullanılarak araştırılmıştır. Sonuçlar, 5.0×10^3 /ml spor içeren aşılama oranının ve 800 rpm karıştırma hızının, 0.15-0.5 mm çapında topaklanma oluşumu sağladığını göstermiştir. Sonuçta üretilen lipitlerdeki GLA içeriği %18.3 gibi oldukça yüksek değerlere çıkmıştır. Bunun yanında bu prosesin 10-kl fermentörde gerçekleştirilmesi durumunda hem topak oluşumunun hem de GLA içeriği ile lipit üretiminin 30-l fermentördeki değerlerle aynı şekilde tutarlılık gösterdiği bildirilmiştir (Hiruta vd 1996b).

Kawashima vd'nin (1996) bildirdiğine göre antioksidan olarak bilinen alkil gallat, deney farelerinin karaciğer mikzomlarında ve ARA üreten fungus, *Mortierella alpina* 1S-4'te yoğun bir şekilde $\Delta 5$ ve $\Delta 6$ desaturasyonunu inhibe etmektedir. Deney farelerinin karaciğerlerindeki mikromozal $\Delta 5$ ve $\Delta 6$ desaturazların farklı sayıda karbona sahip alkollerle esterleşmiş gallik asit tarafından inhibe edilmesi, esterleşmiş bir alkolde inhibisyon için gerekli yapının çok rijit olmadığını öne sürmektedir. Gallik asitte üç hidroksi grup arasında, *m*-hidroksi grubun gerekli yapı olduğu görülmüştür. Kinetik analizler propil gallatın, $\Delta 5$ desaturaz ($K_i=2.6 \cdot 10^{-5}$ M) ve $\Delta 6$ desaturaz'ın ($K_i=1.7 \cdot 10^{-4}$ M) rakipsiz inhibitörü olduğunu ortaya çıkarmıştır. Bu veriler alkil gallatın yeni bir tip desaturaz inhibitörü olduğunu ve sesamin ve hint safranı gibi bilinen doğal inhibitörlerden farklı olduğunu göstermiştir.

DHA ve ARA insan sütünde bulunmakta (salgılanarak üretilmekte) ve yeni doğan bebeklerin emzirilmesi ile bu yağ asitlerine olan ihtiyaçları karşılanabilmektedir. Fakat bu yağ asitleri ABD'de halen mevcut olan bebek mamalarında bulunmamaktadır. Bebek mamalarına DHA ve ARA ilave edilerek kuvvetlendirilmesi bilhassa premature bebekler için daha da önemlidir. Premature bebeklerde uterusu bu yağ asitlerinin alımı normal bebeklere göre daha az oranda gerçekleşmiştir. Bazı araştırmalar sonucunda DHA ve ARA yağ asitlerinin bebek mamalarına katılması gerektiği önerilmektedir. Bu yağ asitlerinin yaygın kaynakları (balık yağları, yumurta sarısı yağları v.s.) bebekler için optimal değildir. Çünkü bu kaynaklar aynı zamanda diğer yağ asitlerini de uygun olmayan oranlarda içerir. Yapılan bu çalışmada 4 hafta süreyle yüksek düzeyde algal DHA ve yüksek düzeyde fungal ARA yağının güvenliği araştırılmıştır. Bu yağ asitleri, DHA:ARA oranı anne sütündeki orana yaklaşık olarak benzetilerek karıştırılıp harmanlanmıştır. Deney farelerine bu harmanlanmış karışım, bebeklere uygulanması düşünülen 3, 11 ve 22 kat daha fazla miktarlarda verilmiştir. Kontrol fareleri de ya yüksek yağlı diyetle (%13,1, w/w; uygulama grubunun yağ içeriğine denk) ya da düşük yağlı diyetle (%5, w/w) beslenmişlerdir. Farelerin vücut ağırlıklarında, besin alımında, organ ağırlığında, hematoloji ve klinik kimyasında uygulamalara bağlı bir değişiklik gözlenmemiştir. Böylece bu çalışma ile DHA ve ARA'nın güvenli kaynakları olarak algal ve fungal yağların harmanlanması ile elde edilen karışımın üretilbileceği ve bu karışımın farelere 4 hafta süreyle bebeklere

verilmesi düşünölen dozdan 22 kat daha fazlasının verilmesinin bile bir yan etki oluşturmadiğı gösterilmiştir (Wibert vd 1997).

Certik ve Shimizu (1999) çoklu doymamış yağ asitlerinin değişik alanlarda uygulamalarına yönelik artan ilgi ile sağlık ve diyetetik gereksinimler üzerindeki öneminden dolayı bu bileşiklerin uygun kaynaklarının sağlanması yönünde dikkatlerin yoğunlaştığını bildirmişlerdir. Yüksek düzeylerde verimli yağlı mikroorganizmaların izolasyonu, fermentasyon tekniklerinin tarımsal ve hayvansal proseslere alternatif olarak gelişmesine neden olmuştur. Bilhassa çoklu doymamış yağ asitlerinin sentezinde aktif olan *Zygomycetes* fungi ve belirli mikroalgler daha öne çıkmıştır. Diğer kaynaklarla rekabet edebilmek için tatminkâr düzeyde verim sağlayarak mikrobiyel çoklu doymamış yağ asitlerinin regüle edebilmesine imkân verecek yeni biyoteknolojik stratejilerin uygulamaya konulmasıyla (mutasyon teknikleri, moleküler mühendislik ve biyotransformasyon v.s.) ürün değerinin artırılması üzerinde vurgu yapılmıştır. Fungal çoklu doymamış yağ asitlerinin üretiminin diğer kaynaklarla kıyaslandığında başarılı olması, bunların yüksek-değerli yağların sentezlenmesinde mikrobiyel potansiyelinin olduğunu gösterdiği ve uygulama alanlarının artırılmasında teşvik edici olduğu bildirilmektedir.

Laktik asit mayalarının peyniraltı suyunda geliştirilmeleri durumunda biyokütle ile birlikte aynı zamanda bazı hücre dışı metabolitler de üretebildikleri bildirilmiştir. Karışık kültürler birkaç değişik karbon kaynağını aynı anda kullanabilmektedir. Bu yüzden karışık maya kültürlerinin kullanımı peyniraltı suyunun COD değerinin azaltılmasında ve biyokütle veriminin artırılmasında önerilmektedir. Karışık maya kültürlerinin test edilmesinde en yüksek biyokütle verimi, *Torulopsis cremoris* ve *Candida utilis* ile sağlanmıştır. *C. utilis*'in, *T. cremoris* tarafından üretilen bazı metabolik yan ürünleri tükettiğı bildirilmektedir. *C. utilis* ve *T. cremoris*'in, değişken hacimlerde işletilebilecek şekilde dizayn edilmiş havalandırılmalı bir biyoreaktörde gerçekleştirilen tekrarlanan beslemeli-kesikli (fed-batch) üretimlerinde peyniraltı suyunun işlenmesinde yüksek verimle biyokütle üretebildiğı (0.75 g biyokütle/g laktoz) için potansiyel bir alternatif olduğu ve COD değerinin azaltılmasında literatürde genel olarak bildirilenden (%95.8) daha etkili olduğu belirtilmiştir (Cristiani-Urbina vd 2000).

Lewis vd (2000), lipid üreten iki farklı mikroheterotrofun dondurularak kurutulmuş (freze-dried) biyokütlelerinden yağ asitlerinin ayrılmasında farklı ekstraksiyon tekniklerinin etkisini araştırmışlardır. Bu amaçla iki farklı prosedür uygulanmıştır. Bunlardan birinci yöntemde biyokütleden lipidlerin ekstraksiyonu ve bunu takiben yağ asitlerinin transesterifikasyonu (ekstraksiyon-transesterifikasyon) gerçekleştirilmiştir. İkinci yöntemde ise yağ asitleri metil esterlerinin üretilmesi için (başlangıç ekstraksiyon aşaması olmadan) biyokütlenin direk transesterifikasyonu sağlanmıştır. Ekstraksiyon-transesterifikasyon denemesinde değişken faktörler; örneklere eklenen solventler, metanolün solvent içindeki bağıl miktarı ve solvent karışımı içinde biyokütlenin sonikasyonu olarak sıralanmıştır. Direk transesterifikasyon denemesinde ise değişken faktörler; örnek boyutları ve reaksiyon süresidir. İstatistiksel değerlendirme sonuçlarına göre:

(i) Yüksek polarite gösteren solventlerin eklenmesi durumunda toplam yağ asitlerinin transesterifikasyon öncesi ekstraksiyonu önemli düzeyde daha etkili bulunmuştur,

(ii) Ne sonikasyon ne de ekstraksiyon solventlerinde metanol oranının artırılması, transesterifikasyon öncesi yağ asitlerinin ekstraksiyonunu önemli düzeyde etkilemiştir,

(iii) Yağ asitlerinin direk transesterifikasyon etkinliği reaksiyon süresiyle önemli düzeyde artış göstermiştir,

(iv) Yağ asitlerinin direk transesterifikasyon etkinliği örnek boyutundan önemli düzeyde etkilenmemiştir,

(v) Transesterifikasyon öncesi yağ asitlerinin ekstraksiyonu için en etkili metot, en etkili direk transesterifikasyon metodundan önemli düzeyde daha az yağ asitleri kazanım verimi göstermiştir.

Başka bir çalışmada, ticari olarak ARA (20:4n-6) üretiminde kullanılan *Mortierella alpina*'nın, lipid bazlı karbon kaynaklarında geliştirilmesi durumunda, bunun yağ asitleri biyosentezinde ve/veya yağ asidi desaturasyon ve elongasyon (zincir uzatma) reaksiyonlarında bir değişime (enzimleri baskılamaya) sebep olup olmadığı araştırılmıştır. *Mortierella alpina*, yağ asidi bazlı (Tween) karbon kaynağında

yetiştirildiğinde, ATP : sitrat liyaz, izositrat liyaz, karnitin asetiltransferaz, malik enzim, glikoz-6-fosfat dehidrogenaz ve piruvat kinaz aktivitelilerindeki değişimlerin aşağıdaki durumlarla tutarlılık gösterdiği görülmüştür;

(i) hücreler substratın yağ açıl kısımlarını tek karbon kaynağı olarak kullanmışlardır, (ii) piruvat kinaz bu üretim koşullarında biyosentez için piruvat kaynağı olmuştur, (iii) malik enzimin major fonksiyonu, lipid biyosentezi için NADPH sağlayıcısı şeklindedir. Hücreler tweenler üzerinde geliştiğinde yağ asidi sentez aktivitesinin ortadan kalkması, bu üretim koşulları altında yeni baştan yağ asidi biyosentezinin durduğunu göstermektedir. Tween 20, 40 ve 80 üzerinde gelişen funguslarda sentezlenen lipidlerin yağ açıl kompozisyonları, onların substrat lipidlerinden desaturasyon ve elongasyonla meydana geldiğini göstermektedir. Tweende gelişmiş olan hücrelerce sentezlenen ARA'nın mutlak miktarı glikozda gelişmiş olan hücrelerle aynı bulunmuştur. 20:4(n-6)'ya dönüştürülen yağ asitlerinin transformasyonunda 18:3(n-6)'nın, 20:3(n-6)'ya uzatılması aşaması baskılanmış ve dolayısıyla her durumda Tweende gelişen hücrelerin 18:1, 18:2 ve 18:3(n-6) miktarları artmıştır. Bu veriler; yağ asidi sentezinin, yağ asidi desaturasyon/elongasyonundan ayrı olarak regüle edildiğini ilk kez göstermektedir. Sonraki reaksiyonlar fungusun basit yağ asitleri ortamında geliştirilmesinden dolayı baskılanmamaktadır. Ayrıca çalışma sonucunda *Mortierella alpina*'nın ARA biyosentezinde, 18:3(n-6)'nın 20:3(n-6)'ya elongasyonunun sınırlayıcı adım olduğunu kuvvetle vurgulamaktadır (Wynn ve Ratledge 2000).

Hidrokarbonları degrade edebilen yağlı bir bakteri suşu *Rhodococcus opacus* PD630 üzerine bir çalışma yapılmış ve çalışmada sterkulik asit metil esterinin triaçilgliserol yağ asitleri üzerine *in vivo* etkileri araştırılmıştır. Sterkulik asit bir siklopropan yağ asidi olup stearoil-CoA desaturaz sisteminin bir inhibitörüdür. Kültür ortamına eklendiğinde monoenik yağ asitlerinin, 16 karbon atomundan fazla karbon içeren doymuş yağ asitlerinin ve tek sayılı karbon atomu içeren yağ asitlerinin sentezini kuvvetle inhibe etmektedir. Buna ilave olarak uzun zincirli yağ asitlerinin desaturasyonları çok ya da az zayıflatılmış olan kimyasal mutagenesislerin ve zenginleştirilmiş penisilin tekniği uygulaması ile sağlanan mutantların sterkulik asit

metil esteri varlığında bazı durumlarda orijinal tipteki suşlarıyla benzer yağ asidi kompozisyonu gösterebildiği belirtilmiştir (Wältermann ve Steinbüchel 2000).

Wältermann vd (2000), triaçilgliserol biriktirebilen ve hidrokarbonları parçalayabilen bir bakteri olan *Rhodococcus opacus* PD630 suşu ile bu suştan kimyasal olarak indüklenecek türetilmiş olan yağ birikimi yapamayan mutant suşu üzerine çalışma yapmışlardır. Çalışmada kısıtlı azot şartlarında geliştirmede bu iki suşun sitoplazmalarında depo lipit birikim kabiliyetlerini araştırılmıştır. Çalışma sonunda glukonatta geliştirilmiş hücrelerde önemli düzeyde tek sayılı, 13-19 arası karbon atomlarını içeren değişik gliserollerde yağ asitleri bulunduğu ve bunların kuru hücresel ağırlığın %76'sını oluşturduğu belirlenmiştir. Ayrıca yağ asitlerinin gliserol omurgasının üç pozisyonu üzerinde rastgele dizilmediği tespit edilmiştir. Uzun ve yüksek derecede doymamış yağ asitlerini gliserolün 2. pozisyonunda ağırlıklı olarak içeren yaygın bitkisel yağlarla kıyaslandığında *R. opacus* PD630 bu pozisyonda sadece kısa zincirli ve doymuş yağ asitlerini bulundurduğu saptanmıştır. Araştırma bu bakterinin triaçilgliserollerini en az iki farklı yolla sentezleme yeteneğine sahip olduğunu göstermiştir.

Kavadia vd (2001) yaptıkları bir çalışma ile *Zygorhynchus*, *Mortierella*, *Rhizopus*, *Mucor* ve *Cunninghamella* cinslerine ait Zygomycetes suşlarının glikoz içeren besi ortamında geliştirilmeleri durumunda önemli miktarlarda GLA ürettiğini ortaya koymuşlardır. Kültür ortamında azotun tükenmesiyle birlikte bütün suşlar %10 ile %28 oranlarında (kuru biyoküttele) yağ birikimi göstermişlerdir. Bununla birlikte bazı suşlarda kültür ortamında karbon kaynağının (glikoz) bitmesiyle birlikte hücre içinde biriken yağın kullanılarak yağsız hücre materyalinin sentezlendiği görülmüştür. Miseller içerisinde fazla miktarda yağ birikmesi, düşük GLA içerikli yağ üretimi ile sonuçlanmıştır. Bir başka ifade ile yağ üretimi arttıkça yağın GLA içeriği düşmüştür. Çalışmada kullanılan *Rhizopus stolonifer* suşu LGAM 1 ve *Cunninghamella sp.* suşu LGAM 2 suşları, kuru biyoküttelelerinde 30 mg'dan fazla GLA üretmiştir. *Cunninghamella sp.* %11.9 GLA içeren %28.1 oranında (kuru biyoküttele) yağ birikimi göstermiştir. Kültür ortamının litresinde 260 mg GLA üretimi sağlanmıştır.

İpliksi (filamentous fungi) funguslarda bir anahtar lipojenik enzim olan malik enzimin yağlı fungus *Mucor circinelloides*'de en az 6 farklı izoformunun bulunduğu bildirilmiştir. Sadece bir izoformunun (izoform IV) lipid birikimi ile ilgili olduğu, glikozda geliştirilen hücrelerde ortamda azotun sınırlanmasıyla (lipid birikimi için ön koşul) ortaya çıktığı belirlenmiştir. I, II, V ve VI izoformlarının anaerobik gelişme şartlarıyla ilgili olduğu ve sadece limitli O₂ altında ortaya çıktığı saptanmıştır. III izoformu temel izoform olarak ortaya çıkar ve aktif gelişme (dengelenmiş) şartlarında oluşur ve bu yüzden temel metabolizmada kritik bir rol oynar. Hücrelerin asetatta geliştirilmesi *M. circinelloides* tarafından biriktirilen hücre lipidlerinin miktarını arttırmış (glikozda gelişen hücrelerde %25-27 iken asetatta gelişenlerde %37-38'e yükselmiştir) ve bu, kültür ortamında azotun tükenmesinden önce malik enzimin IV izoformunun ortaya çıkması ile birlikte gerçekleşmiştir. III ve IV izoformunun aminoasit dizilimi analizi sonucunda bu iki malik enzimin tekil bir gen tarafından kodlanmış olabileceği ve IV izoformunun, azotun tükenmesiyle (karbon kaynağı olarak sadece glikoz kullanıldığında) ya da karbon kaynağı olarak sadece asetatin kullanıldığı ortamda geliştirilmesi durumunda başlatılan post-translasyonel modifikasyonla III izoformundan türemiş olabileceği ileri sürülmüştür (Song vd 2001).

González-Martínez vd (2002), peyniraltı suyunun laktoz, kalsiyum, süt proteinleri ve çözünebilir vitaminlerin önemli bir kaynağı olması bakımından fonksiyonel gıda olarak kabul gördüğünü ve değerli besinlerin kaynağı olduğunu bildirmişlerdir. Araştırmacıların gerçekleştirdiği çalışmada, yoğurt üretiminde sütün kurumaddesinin arttırılmasında sütünu yerine kısmi olarak peyniraltı suyu tozu kullanılmıştır. Üretim beş farklı formülasyonla üretilmiş ve 5°C'de gerçekleştirilen depolamanın 1, 15 ve 28. günlerinde asitlik, pH, jel konsistansı ve mikroyapı ve akış davranışları, renk (CIE *L*, *a*, *b*) ve sineresiz indeksi analiz edilmiştir. 15 gün depolamadan sonra duyusal özellikler değerlendirilmiştir. Sonuçlar peyniraltı suyu tozu kullanımının hafif sarımsı bir görünüşe dönen yoğurdun yavaş asitlenme oranı gösterdiğini ortaya koymuştur. Aynı zamanda bu ürünler daha iyi akış özellikleri ve yağsız süt tozu ile üretilen ürünlere göre daha büyük sinerezis göstermiştir. Yüksek oranda peyniraltı suyu tozu katılarak (%3.64-5.20) üretilen yoğurt örnekleri duyusal panel tarafından tercih edilmişlerdir.

Yapılan bir çalışmada *Schizochytrium limacinum* SR21 ve *Thraustochytrium* sp. KK17-3'ü içeren thraustochytridlerden elde edilen iki çeşit tek hücre yağı, DHA bakımından zengin açığliseroller hazırlamak için *Candida rugosa* lipazı ile hidroliz edilmiştir. Lipaz düzeyi 800 ünite/g-yağ olduğunda ve SR21 yağı 24 saat süreyle 37°C'de hidrolize tabi tutulduğunda gliseridler fraksiyonundaki DHA içeriği sürfaktan yokluğunda bile %67.3 düzeyine kadar yükselmiştir. Bu da orijinal yağdaki değerinden (%40.5) yüksektir. Özellikle monoaçığliserollerde DHA içeriği %85.6 düzeylerine kadar ulaşmıştır. Serbest yağ asitlerinin uzaklaştırılmasından sonra DHA içeriklerini %81.3 düzeylerine kadar geliştirmek için gliserit fraksiyonlarının hidrolizine devam edilmiştir. Triton X-100 ya da deoksiçolat eklenmesi (fakat Tween 20 eklenmeden) DHA'ca zengin monoaçığliserolün hızlı bir şekilde üretimini kolaylaştırmış olsa da bunun birikim seviyesini önemli düzeyde yükseltmemiştir. Kullanılan bu lipaz; KK17-3 yağının (%30.7), gliserit fraksiyonlarında DHA içeriğinin (%63.0) zenginleştirilmesinde de etkili olmuştur. Bu yağda bulunan EPA ve ARA gliseritlerden hidrolizle DPA ve DHA'ya göre daha kolaylıkla ayrılmıştır. SR21 ve KK17-3 yağlarında bulunan çoklu doymamış yağ asitleri ve palmitik asitten oluşan hâkim ester bağlarının hidrolize karşı gösterdikleri direncin büyükten küçüğe sıralaması, DHA>>DPA>EPA>ARA>palmitik asit şeklindedir. Thraustochytrid yağlarının DHA'ca zengin gliseritlerin, özellikle de monogliseritlerin hazırlanmasında uygun kaynaklar olarak kullanılabilceği belirtilmiştir (Huang vd 2002).

Yapılan bir çalışmada peyniraltı suyunun yüksek sıcaklıklarda alkol fermentasyonu için yeni bir sistem geliştirilmiştir. Bu sistem delignifiye selülozik materyalde *Kluyveromyces marxianus* mayasının immobilize edilmesinden oluşmuştur. pH'nın, başlangıç laktoz konsantrasyonunun ve sıcaklığın laktoz içeren sentetik besi ortamının fermentasyonu üzerine etkileri araştırılmıştır. Peyniraltı suyunun kesikli fermentasyonları gerçekleştirilmiş ve uçucu yan ürünlerin oluşumu araştırılmıştır. Yüksek alkollerin konsantrasyonu çok düşük düzeylerde bulunmuş, bu da ürün kalitesinin iyileşmesine yol açmıştır. Fermente peyniraltı suyu, fermente olmayan peyniraltı suyu ile kıyaslandığında daha düzgün karakteristik bir aroma ortaya koymuştur. Çalışma ile fermente peyniraltı suyunun yeni, düşük alkol içerikli içeceklerin üretiminde ham materyal olarak kullanım olanakları araştırılmıştır

(Kourkoutas vd 2002).

Papanikolaou ve Aggelis (2002) tek karbon kaynağı olarak endüstriyel gliserolün kullanıldığı besi ortamında *Yarrowia lipolytica* LGAM S(7)1'in kayda değer boyutlarda gelişme gösterdiğini belirtmişlerdir. Çalışmada kısıtlanmış azot içeren erlenlerde geliştirilen kültürlerde hücre dışı sitrik asit üretimi fazla olurken, rezerve lipitlerin sentezi sınırlı miktarlarda gerçekleşmiştir. Ters olarak, yüksek düzeylerde havalandırılmış sürekli kültürde ise fazla miktarlarda rezerve lipit birikimi (3.5 g/l'ye kadar, %43 w/w kuru biyokütlede lipit) meydana gelmiştir. Gelişme sürecinin tamamında yağsız biyokütle verimi artarken, düşük spesifik dilüsyon oranlarında lipit üretimi eğilimi daha fazla olmuştur. Elde edilen maksimum volumetrik üretkenlik 0.12 g lipit/L/h olarak tespit edilmiştir. Test edilen spesifik dilüsyon oranlarında lipit kompozisyonu büyük değişimler göstermemiş, oleat ve linoleat baskın yağ asitleri olarak belirlenmiştir.

Yapılan bir çalışmada yağlı bir suş olan *Yarrowia lipolytica*'nın doymuş yağ asitlerinden oluşan bir endüstriyel yağda (stearin) gelişimi araştırılmıştır. Primer anabolik gelişme süresince lipit birikimi pH ve inkübasyon sıcaklığından ciddi derecede etkilenmiştir. İşlem kültür ortamındaki azot konsantrasyonundan bağımsız olarak yürütülmüş; fakat yüksek karbon substrat düzeyi ve düşük havalandırma oranları tercih edilmiştir. pH 6'da ve 28-33°C sıcaklıklarda 9-12 g/L kuru biyokütle üretimi gerçekleşmiştir. Bu kuru biyokütlede de önemli düzeylerde lipit birikimi (0.44-0.54 g lipit/g biyokütle) meydana gelmiştir. Kültür ortamında, stearik asitçe zengin olan substrat yağı kullanılmadan kalmasına rağmen, kullanılan suşun kendi depo lipitlerini degrade etme eğilimi gösterdiği belirlenmiştir. *Y. lipolytica* kuvvetli bir yağ asidi spesifitesi göstermiştir. C12:0, C14:0 ve C16:0 yağ asitleri hızla mikroorganizma bünyesine dâhil edilip temel olarak gelişme gereksinimleri için kullanılırken, C18:0 daha düşük oranlarda mikroorganizma bünyesine dâhil edilmiş ve daha çok depo materyali olarak kullanılmıştır. Rezerve lipitler genel olarak triaçilgliserollerden (toplam yağların %55'i w/w) ve stearik asitçe zengin serbest yağ asitlerinden (%35 w/w) oluşmuş, ihmal edilebilir miktarlarda da doymamış yağ asitleri tespit edilmiştir. Endüstriyel gliserolün stearinle birlikte ko-substrat olarak kullanılması durumunda

rezerve lipitlerde doymamış yağ asitleri konsantrasyonu artmıştır (Papanikolaou vd 2002).

Yağların antibiyotik üretimi için gerçekleştirilen fermentasyonlarda hem ekonomik nedenlerden hem de sonuçta yüksek antibiyotik verimi sağlamalarından dolayı karbon kaynağı olarak kullanıldığı bildirilmektedir. Gerçekleştirilen bir araştırmada model mikroorganizma olarak kullanılan *Streptomyces lividans*'ın, glikoz ve triaçilgliserol trioleinin birarada olduğu substratlarda geliştirilmesi durumunda, bu substratların tek olarak kullanılmalarına göre daha yüksek hücre yoğunluğu vererek gelişme gösterdiği ve hızlı bir şekilde antibiyotik ve antinorhodin ürettiği belirlenmiştir. Triolein (oleik asitin trigliseridi) tek substrat olarak kullanıldığında, β -oksidasyon oranı maksimum düzeyde olmuş ve yeni baştan yağ asidi sentezlendiğine dair bir delil görülmemiştir. Glikozun tek substrat olarak kullanılması durumunda ise yağ asidi biyosentezi gerçekleşmiş ve β -oksidasyon meydana gelmemiştir. Karışık substratta ise ne β -oksidasyon ne de yağ asidi biyosentezi olmamış; bu da glikozun asetat seviyesine kadar bütün biyokimyasal ara ürünleri, trioleinin ise lipitler içindeki düz zincir yapısına sahip yağ açıl gruplarının çoğunu sağladığını göstermiştir. Böylece hücreler açık bir şekilde karşılıklı olarak özel mekanizmalarla her iki substratı da aynı anda kullanabilmiş, dolayısıyla yüksek gelişme ve üretkenliğe ulaşılmıştır (Peacock vd 2003).

ARA tek hücre yağına kaprik asit bağlanması ile ilgili olarak yapılan bir çalışmada 5 farklı ticari lipaz enzimi kullanılmış ve bu enzimler arasında *Pseudomonas sp.*'den elde edilen PS-30 lipaz enziminin en etkili enzim olduğu tespit edilmiştir. Çalışmada optimum koşullar; yağ/kaprik asit mol oranı 1/3, inkübasyon sıcaklığı 45 °C, inkübasyon süresi 24 saat, %4 *Pseudomonas sp.* lipazı ilavesi ve %2 (w/w) su içeriği olarak belirlenmiştir. Kaprik asit ile modifiye edilmiş ARA tek hücre yağının gliserol iskeleti üzerindeki yağ asidi pozisyonel dizilimine bakıldığında, kaprik asidin triaçilgliserol molekülünün sn-1,3 pozisyonlarında konsantre olduğu görülmüştür. ARA ise genel olarak sn-2 pozisyonunda yer almıştır. Enzimatik olarak modifiye edilmiş ARA tek hücre yağı modifiye olmamış benzeri ile kıyaslandığında, daha yüksek bir konjüge dien (CD) değeri vermiştir. TBARS değeri ise hem modifiye hem de modifiye

olmayan ARA-tek hücre yağında depolama periyodu boyunca kademeli olarak artmış; fakat her ikisi arasında TBARS değerleri bakımından belirgin bir farklılık görülmemiştir. Nitekim CD ve TBARS değerleri göz önüne alındığında enzim ile modifiye edilen yağın, modifiye olmayan benzerine göre oksidasyona daha duyarlı olduğu bulunmuştur. Modifikasyon sırasında doğal antioksidanların uzaklaştırılmasının, enzimatik modifiye yağın oksidatif bozulmasını hızlandırmada önemli rol oynayabileceği değerlendirilmiştir. Bu değerlendirme, başlangıç materyallerinin herhangi bir enzim olmadan aynı reaksiyona tabi tutulması durumunda, elde edilen yağın kontrol yağına göre önemli ölçüde daha az stabil olması ile doğrulanmıştır (Hamam ve Shahidi 2004).

Yapılan bir çalışmada Floresan prob ve Nil kırmızısı kullanılarak mikroorganizmaların hücre içi lipit içeriklerinin belirlenmesinde hızlı bir yöntem geliştirilmiştir. Yöntem Nil kırmızısı ile boyamanın optimizasyonu ve elde edilen verilerin işlenmesi ile geliştirilmiştir. Yöntem geniş bir mikroorganizma türüne ve kültür şartlarına uygulanabilir şekilde dizayn edilmiştir. Optimize edilen prosedürde hücreler tamponla seyreltilip 0.24-0.47 µg/ml Nil kırmızısı ile 5 dk süre muamele edilerek boyanmışlar ve Nil kırmızısı eklenmeden önceki ve eklendikten sonraki 400-700 nm dalga boyu aralığında flüoresan emisyon spektra değerleri alınmış, 488 nm'de en yüksek değeri verdiği saptanmıştır. Flüoresan yoğunluğu hücreiçi lipit miktarına bağlı olarak değişim göstermiş ve buna karşılık gelen pik değerleri hesaplanmıştır. Değişik yağlı fungi ve mayalarda geleneksel yöntemlerle ölçülen yağ içerikleri ile bu yöntemden elde edilen veriler lineer bir ilişki ortaya koymuştur. Bağlı flüoresan yoğunluk ile birim lipit miktarı arasındaki ilişki sadece bir maya hariç her zaman aynı olmuştur. Misel oluşturan pellet tipindeki değişik organizmalara uygulamada 5-10 dk cam boncuklarla çalkalanması gibi basit ve kolay bir ön işlem yönteme eklenmiştir. Oluşturulan bu metodun 2-5000 mg-lipit/ml-broth oranında lipit içeren geniş bir aralıkta mikroorganizma kültürleri için lipit içeriklerinin belirlenmesinde uygulanabilir olduğu bildirilmiştir (Kimura vd 2004).

Yapılan bir çalışmada, *Mortierella isabellina* azot içeriği kısıtlanmış besi ortamında geliştirilmiş ve sonuçta kayda değer miktarda (35.9 g/l'ye kadar) biyokütle artışı gözlenmiştir. Besi ortamının başlangıç şeker (glikoz) konsantrasyonunun yüksek

olması durumunda bile (örneğin 100 g/l) büyük oranda glikoz kullanımının gerçekleştiği belirlenmiştir. Ortamdaki azotun azalmasıyla birlikte fungal miseller içinde önemli düzeyde yağ birikiminin (%50-55, w/w kuru biyokütle) olduğu, önemli düzeylerde (18.1 g/l besi ortamı) tek hücre yağı üretildiği ifade edilmiştir. Toplam kuru biyokütle ve lipit verimlerinin oldukça yüksek değerler (sırasıyla 0.34 ve 0.17 g/tüketilen glikoz) olduğu belirtilmiştir. Üretilen mikrobiyel lipitte %3.5±1.0 (w/w) GLA düzeyine ulaşıldığı, bunun da kuru mikrobiyel kütle başına 16-19 mg GLA'ya karşılık geldiği belirtilmiştir. Maksimum konsantrasyon olarak kültür ortamının litresinde 0.801 g GLA üretiminin gerçekleştiği belirtilmiştir (Papanikolaou vd 2004).

Aidil vd (2005), 4 farklı yağlı fungus kullanarak (*Cunninghamella sp.* 2A1, *Absidia sp.* DR, *Bortrytis sp.* K3 ve *Geotrichum sp.* SK22), substrattaki C:N (karbon:azot) oranının ve üretim sıcaklığının lipit üretimi ve GLA içeriği üzerine etkilerini araştırmışlardır. Araştırmacılar bütün izolatlarda, besi ortamındaki C:N oranının artışıyla birlikte lipit düzeylerinin de iki kata kadar artış gösterdiğini belirtmişlerdir. Fakat lipit düzeylerindeki artışın GLA içeriğinde (% toplam yağ asitleri) azalma ile sonuçlandığı belirtilmiştir. *Absidia sp.* DR için GLA içeriği, besi ortamındaki C:N oranı 40:1 olduğunda %18 iken, C:N oranı 133:1 düzeyine çıkarıldığında %5'e düşmüş; fakat buna karşılık lipit oranında %17'den (g/g biyokütle) %32'ye artış olduğu belirtilmiştir. Araştırmacılar bu lipit ve GLA içeriklerindeki ters ilişkinin diğer üç fungusda da gözlemlendiğini belirtmişlerdir. Ayrıca çalışmada *Cunninghamella sp.* 2A1, *Absidia sp.* DR, *Bortrytis sp.* K3'ün farklı sıcaklıklarda (15°C, 20°C, 25°C ve 30°C) geliştirilmeleri durumunda, tüm yağlı fungusların 25°C ve 30°C'lerde maksimum lipit üretimi gerçekleştirdiği, bununla birlikte farklı sıcaklıklarda geliştirmenin GLA içeriklerinde önemli bir değişime sebep olmadığı ortaya konulmuştur.

Farklı bir çalışmada lokal olarak izole edilmiş (Perryvale, Alta., Kanada) bir fungus türü olan, *Mortierella ramanniana* var. *ramanniana*'nın endüstriyel olarak GLA üretim potansiyeli için araştırılmıştır. Üretim parametreleri (pH, sıcaklık, karbon kaynağı, azot kaynağı ve metal iyonları ile yağ ilavesi) sistematik olarak ayarlanmıştır. Çalışma sonuçları bu suş için %5 dekstroz ve %1 maya ekstraktı içeren temel gelişme ortamına, 5 mg/L Mn²⁺ ilave edilerek 20°C'de inkübasyon ile GLA üretiminin

maksimize edilebileceğini göstermiştir. Optimum gelişme koşullarında lipit veriminin toplam kuru biyokütlenin %54.2'si, elde edilen lipitteki doymamış yağ asitleri içeriğinin ise %84.3 olduğu belirlenmiştir. Gram biyokütle başına GLA verimi toplam lipit içeriğinin %13.3'ünü teşkil ettiği ve bu özelliği ile tipik çuha çiçeği yağının GLA içeriğinden biraz fazla olduğu tespit edilmiştir (Dyal vd 2005).

Hamam ve Shahidi'nin (2005) yaptıkları çalışmada ticari olarak OMEGA-GOLD yağı diye bilinen DHA ve DPA içerikleri bakımından zengin tek hücre yağının kaprik asitle (CA) lipaz destekli asidolizisi gerçekleştirilmiştir. Ticari olarak temin edilen 5 farklı lipaz enziminin; yağ-kaprik asit mol oranı 1:3, 45°C reaksiyon sıcaklığı, 24 saat reaksiyon süresi, %4 (w/w substrat) *Pseudomonas sp.*'den elde edilen PS-30 lipaz ve %2 (w/w substrat ve enzim) su içeriği şartlarında taraması gerçekleştirilmiştir. Stereospesifik analizler kaprik asitin genel olarak triaçilgliserol moeküllerinin sn-1,3 pozisyonlarında bulunduğunu, DHA ve DPA'nın ise çoğunlukla sn-2 pozisyona esterleştiklerini göstermiştir. Enzimatik olarak modifiye edilmiş bu yağ modifiye olmayan benzerinden daha yüksek (CD) ve 2-tiyobarbütirik asit (TBA) değerleri ortaya koymuştur. Bununla birlikte herhangi bir enzim uygulaması olmaksızın aynı reaksiyon aşamalarına maruz bırakılan yağın önemli bir düzeyde daha düşük oksidatif stabilite ortaya koyduğu belirlenmiştir. Bu yüzden işlem boyunca endojen antioksidanların uzaklaştırılmasının ya da değiştirilmesinin modifiye yağın stabilitesinin bozulmasının temel sebebi olabileceği ileri sürülmüştür.

Bir yağlı fungus olan *Mortierella alpina* 1 S-4, ARA üretiminde ticari olarak kullanılmaktadır. Oleik asidi (18:1n-9) linoleik asite (18:2n-6) desature eden Δ 12-desaturaz, ARA biyosentez yolunda kilit bir enzimdir. Yapılan bir çalışmada *Mortierella alpina* 1 S-4'te, çift sarmal RNA'dan RNA interferans'ın (RNAi) ortaya çıkıp çıkmadığının belirlenebilmesi için, Δ 12-desaturaz geni bastırılmıştır. Söz konusu genin bastırılmış olduğu suşda 18:2n-9, 20:2n-9 ve 20:3n-9 (mead asit) birikimi gözlenmiş; fakat bu yağ asitlerine ne kontrol suşunda ne de orjinal tip suş olan 1S-4'de rastlanmamıştır. Elde edilmiş olan bu stabil transformant küflerin yağ asidi kompozisyonlarının daha önceden tanımlanmış olan Δ 12-desaturaz-defektif mutant küfler ile benzerlik gösterdiği belirtilmiştir. Böylece, *Mortierella alpina*'da RNAi'nin

ortaya çıkmış olduğu belirlenmiş ve bu fungusların ticari suşlarıyla üretilen yağ asitleri tiplerinin ve bunların bağıl miktarlarının, genetik yapılarında herhangi bir mutagenesis ve kalıcı bir değişiklik olmadan elde edilen bu yeni suşlarla değiştirilmesinde kullanılabileceği belirtilmiştir (Takeno vd 2005).

Ward ve Singh (2005), çoklu doymamış yağ asitlerinin yüksek ökaryotların temel bileşeni olduğunu belirtmişlerdir. Tek hücre yağları marketlerde geniş ölçüde kabul görmekte; GLA, ARA, DHA ve EPA gibi çoklu doymamış yağ asitlerinin sağlığa yararları konusunda gittikçe gelişen bir bilgi birikimi oluşmaktadır. Dünyanın birçok bölgesinde ARA ve DHA, bebek mamalarının zenginleştirilmesinde takviye olarak kullanılmaktadır. Balık yağları DHA ve EPA açısından oldukça zengin kaynaklardır. Bunun yanında az sayıda bitkinin tohum yağları çoklu doymamış yağ asitlerinin önemli kaynaklarıdır. *Thraustochytrium*, *Schizochytrium* ve *Cryptocodinium*'un türleri gibi deniz protistleri ve ateşrengi algler (dinoflagellates) DHA açısından, *Phaeodactylum* ve *Monodus* gibi mikroalgler ise EPA içeriği bakımından zengindir. Alçak fungus türlerinden *Mortierella*, lipid fraksiyonlarında yüksek oranda ARA biriktirebilmektedir.

Yağlı bir fungus olan *Cunninghamella echinulata*, domates atıkları hidrolizatı içeren besi ortamında geliştirilmiş ve 7.8 g/l rezerve lipid birikimi sağlamıştır. Fakat gelişme ortamında karbon kaynağı tükenirken, söz konusu rezerve lipidlerin %44'lük bölümü kullanılmış ve 3.2 g/l yağsız biyokütle üretilmiştir. Çalışma verileri lipid fraksiyonlarının, her bir lipid sınıfının miktarları ve bağıl oranları ile yağ asidi profilinin bu dönüşüm sırasında değişiklik gösterdiğini ortaya koymuştur. Tercihen triaçilgliseroller kullanılmış ve yağsız biyokütleye karşı yüzdesel oranları %26.6'dan %6.9'a (w/w) düşmüştür. Fakat doymamış yağ asitlerini içeren triaçilgliseroller kısmen ayırt edilmiştir. Sonuç olarak triaçilgliserollerdeki GLA'nın bağıl oranı %9.2'den (lipojenik fazın sonunda) %15.3'e (w/w) yükselmiş oysa C16:0 oranı %22.7'den %15.6'ya (w/w) düşmüştür. Lipitlerin kullanımı sırasında membran polar lipid fraksiyonlarının sentezi bu duruma eşlik etmiştir. Bu geçiş aşamasında glikolipitler ve sifingolipitler fraksiyonu çoklu doymamış yağ asitlerince zenginleşmiş, bu artış özellikle GLA içeriğinde olmuştur. Bunun yanı sıra fosfolipitler fraksiyonu GLA bakımından zenginleşmiş ancak C18:2 bakımından zenginleşmemiştir (Fakas vd 2007).

Balık yağı ikamesi olarak DHA içeriği bakımından zengin deniz orijinli thraustochytrid olan tek hücre mikro-organizması *Schizochytrium* sp. L'nin Atlantik somon (*Salmo salar*) balıklarının beslenmelerindeki etkisinin araştırıldığı bir çalışma yapılmıştır. Deneme için %100 thraustochytrid tek hücre yağı (TO), %100 palm yağı (PO) ve 4:1 palm ve thraustochytrid tek hücre yağı karışımı (MX) ile balık yağından (FO) oluşan 4 farklı diyet hazırlanmış, 9 hafta boyunca ilk üç diyet FO ile kıyaslanmıştır. Diyet uygulamaları arasında yem tüketimi ya da ω -3 ya da ω -6 çoklu doymamış yağ asitlerinin sindirilebilirliği bakımından önemli bir farklılık belirlenmemiş, bu da diyetler arasında yağ asitlerinin sindirilebilirliği bakımından fark olmadığını göstermiştir. Balıkların gelişimi bakımından 4 diyet uygulaması arasında önemli düzeyde farklılık tespit edilmemiştir. Balıkların kas dokularındaki yağ asidi profilleri bakımından bütün diyet uygulamaları arasında önemli düzeyde farklılık belirlenmiştir. Diğer diyet uygulamaları ile kıyaslandığında TO diyeti uygulaması balıkların kas dokularında önemli düzeyde daha yüksek bir DHA oranı vermiştir. Yavru balıkların tuzlu deniz suyuna ilk defa göçüyle ters olarak ilgili olan kan ozmolaritesi TO ve FO diyetleri PO diyetinden önemli düzeyde daha düşük bulunmuştur. Bu çalışma Atlantik somon balıklarında denize göçten evvel tatlı sudaki yavruların gelişiminde herhangi bir olumsuz etki olmaksızın thraustochytrid yağının balık yağı yerine kullanılabileceğini göstermiştir. Balık diyetlerinde thraustochytrid yağının kullanımı Atlantik somonlarında kas dokusu içindeki DHA oranını önemli düzeyde artırmış ve somon diyetlerinde diğer yağlarla harmanlanarak kullanılabilmesi bildirilmiştir. Thraustochytrid yağı deniz canlılarının beslenmesinde özellikle DHA gibi temel yağ asitleri için yeni bir kaynak sağlayabileceği belirtilmiştir (Miller vd 2007).

Yapılan bir çalışma ile %39 (w/w) DHGLA içeren tek hücre yağında DHGLA'nın saflaştırılması denenmiştir. Prosesin içerdiği aşamalar: (i) serbest yağ asitlerini içeren bir karışım hazırlamak için yağın selektif olmayan hidrolizi; (ii) serbest yağ asitleri karışımından doymuş yağ asitlerinin uzaklaştırılması için üre yakınlaştırmalı fraksiyonlaştırma; ve (iii) iki tip lipaz ile elde edilen karışımın tekrarlanan selektif esterifikasyonlarıdır. İlk adımda *Candida rugosa* lipazının (Meito Sangyo Co. Ltd.'den Lipase-OF. Aichi, Japan) yağdan gelen yağ asitleri preparatının hazırlanmasında en etkili olduğu görülmüş; 40°C'de 72 saatte %99'luk bir hidrolizise

ulaşmıştır. Yağ asitlerinin üre yakınlaştırmalı fraksiyonlaştırılması behenik ve lignoserik asitlerin hemen hemen tamamını uzaklaştırmış, DHGLA içeriğini %39'dan (w/w) %55'e arttırmıştır. Yağ asitleri *C. rugosa* lipazı (Amano Enzyme Inc.'den Lipase-AY. Aichi, Japan) kullanılarak lauril (lauryl) alkol'ün (LauOH) 2 mol eşdeğeri ile esterleştirilmiştir. Sonuçta DHGLA esterleştirilmemiş yağ asitleri fraksiyonunda %86 (w/w) düzeyine kadar zenginleştirilmiştir. DHGLA içeriğinin daha da yükseltilmesinde aynı lipaz kullanılarak esterifikasyon tekrarlanmıştır. Bu nedenle DHGLA içeriği %91'e yükseltilmiş fakat preparasyon %3.5 (w/w) GLA ile kontamine olmuştur. Son olarak bu kontaminasyon *Pseudomonas aeruginosa* lipazı kullanılarak LauOH'un 2 mol eşdeğeri ile serbest yağ asitlerinin selektif esterifikasyonu ile uzaklaştırılmıştır. Bir seri prosedürle DHGLA %51'lik verimle tek hücre yağındaki başlangıç düzeyinden %95'e (w/w) kadar saflaştırılmıştır (Nagao vd 2007).

GLA üretimi ile ilgili olarak yapılan bir çalışmada, kanola materyali içeren işlenmiş kanola pulçukları (flake) ve kanola keklerinin (cake) hem karbon kaynağı hem de azot kaynağı olarak çoklu doymamış yağ asitlerini içeren yağ üretiminde substrat olarak kullanılabilirlikleri araştırılmıştır. *Mortierella alpina* küfü kullanılarak gerçekleştirilen fermentasyon ile kanola substratlarından gelen bitkisel yağın biyoçeşvrimi ile modifiye olan yeni yağın yağ asidi profili değişmiştir. Yağ profili çoklu doymamış yağ asitlerinden GLA (γ -C18:3n6), ARA (C20:4n6) ve EPA'nın (C20:5n3) katılımı ile genişlemiştir. Orijinal kanola yağı ile kıyaslandığında çoklu doymamış yağ asitlerinin doymuş yağ asitlerine oranı (P/S) %50 oranında artmıştır. Pulçukta geliştirilmiş kültürün ARA verimi (20.3 mg/g pulçuk), glikozda geliştirilen kültürün verim değeri (20.1 mg/g glikoz) benzerlik gösterirken; kekde gelişenden (12.5 mg/g kek) daha yüksek bulunmuştur. Pulçukda geliştirilenin EPA verimi (3.3 mg/g pulçuk); kekde geliştirilenden (2.7 mg/g kek) daha yüksek, glikozda geliştirilenden (0.3 mg/g glikoz) ise çok daha yüksek çıkmıştır. *Mortierella alpina* ve *Pythium irregulare* suşlarının karışım kültürlerinin kullanılmasında, her ikisinin de tekli kültürlerinin kullanılmasına göre daha yüksek ARA ve EPA verimleri elde edildiği ortaya konulmuştur. İki suşun karışık kültüründe ARA verimleri 26 mg/g pulçuk, 23 mg/g kek ve 38 mg/g glikoz değerlerine ulaşmıştır. Sırasıyla pulçuk ve kek için P/S değerleri tatminkar düzeylerde, 6.5 ve 8.7 olarak bulunmuştur. Buna ilaveten, sindirilen kanola

yağının fungal yağa biyo-dönüşüm oranının hesaplandığı bir metot geliştirilmiş, kanola pulçukları ve kanola kekinin substrat olarak kullanıldığı bu çalışmada yaklaşık %50 civarında bulunmuştur (Dong ve Walker 2008).

Mortierella alpina kullanılarak pirinç kepeği ile katı-hal (solid-state) reaktörü kurulmuş ve bu besi ortamında çoklu doymamış yağ asitlerinin üretilebilirlik potansiyeli araştırılmıştır. Bu amaçla pirinç kepeği ile çoklu doymamış yağ asitlerinin optimum üretim koşulları belirlenmeye çalışılmıştır. Yapılan denemeler sonucunda çoklu doymamış yağ asitlerinin üretimi için en iyi koşulların; %57 başlangıç nem içeriğinde %3.75 (w/w) azot kaynağı ilavesi, 6-7 başlangıç pH değeri, 20°C'de 5 gün ve 12°C'de 7 gün havalandırma inkübasyon olduğu belirlenmiştir. On iki gün sonunda kullanılan her 1 g karbon substrata karşılık verimler; 127 mg toplam çoklu doymamış yağ asitleri, 12 mg EPA, 6 mg ARA, 5 mg ALA ve 117 mg linoleik asit olarak bulunmuştur. Havalandırmanın ARA, EPA ve toplam çoklu doymamış yağ asitleri üretimlerini arttırdığı tespit edilmiştir. Dördüncü günde azot kaynağı ilavesi ve daha sonra beşinci günde ise daha düşük inkübasyon sıcaklığına kaydırmanın EPA üretimini arttırdığı belirtilmiştir (Jang ve Yang 2008).

Biyodizel üretim prosesinin yan ürünü olan ham gliserolün çeşitli biyoteknolojik uygulamalarda karbon substratı olarak kullanıldığı bildirilmektedir. Bu amaçla üç farklı mikroorganizmanın farklı fermentasyon işlemlerinde gliserolü kullanma durumunun araştırıldığı bir çalışma yapılmıştır. İlk olarak; *Clostridium butyricum* F2b kullanılarak anaerobik kesikli geliştirme şartlarında 47.1 gL⁻¹ düzeyinde 1,3-propandiol (1,3-propanediol) üretilmiştir. Üretim sırasında besi ortamındaki gliserol konsantrasyonunun artırılmasıyla birlikte substrat alım oranının da (r_s : gL⁻¹h⁻¹) arttığı belirlenmiştir. Sürekli geliştirmede 1,3-propandiol eklenmesinden sonraki geçici durumda mikrobiyel davranış incelenmiş, bütirik asit ve asetik asit konsantrasyonları artarken mikrobiyel gelişmenin yüksek 1,3-propandiol konsantrasyonundan etkilenmediği görülmüştür. İki aşamalı sürekli geliştirmede 43.5 gL⁻¹ 1,3-propandiol üretilmiş, toplam hacimsel üretkenliğin 1.33 gL⁻¹h⁻¹ olduğu belirlenmiştir. Çalışmada ikinci mikroorganizma olarak kullanılan *Yarrowia lipolytica* ACA-DC 50109 sınırlı azot içeren aerobik geliştirme koşullarında ham gliserol içerisinde gelişme göstermiş ve büyük oranlarda biyokütle üretimi

sağlamıştır. Bu gelişmenin yüksek gliserol konsantrasyonlarında bile gerçekleşebildiği belirlenmiş; fakat gliserol konsantrasyonundaki artışla birlikte r_s değerinde azalma görüldüğü saptanmıştır. Ortamda azotun azalmasıyla birlikte yüksek düzeylerde (62.5 gL⁻¹) sitrik asit üretilmiştir. Gliserol tüketimine karşı verim 0.56 gg⁻¹ olarak tespit edilmiştir. Ayrıca gelişme ortamında gliserol konsantrasyonunun artırılması ile hücresel lipitlerin doymamış yağ asitleri içeriğinin yükseldiği belirlenmiştir. Çalışmada kullanılan son mikroorganizma *Mortierella isabellina* ATHUM 2935, sınırlı azot içeren aerobik geliştirme koşullarında tek karbon kaynağı olarak ham gliserol içerisinde tatminkâr düzeylerde gelişme göstermiştir. Yüksek düzeyde başlangıç gliserol içeriğinde çalışıldığında (100 gL⁻¹) kuru biyokütlerde %50 oranına denk gelen (wt/wt) 4.4 gL⁻¹ lipit birikimi oluşturmuştur. Besi ortamında gliserol konsantrasyonunun artmasıyla birlikte r_s değerinde sabit bir azalma olduğu gözlenmiştir. Her durumda besi ortamında dikkate değer miktarlarda gliserolün kullanılmadan kaldığı belirlenmiştir. (Papanikolaou vd 2008)

Peng ve Chen (2008a) yaptıkları bir çalışmada, yakın-kızılaltı yansımali spektroskopisi (near-infrared reflectance spectroscopy- NIRS) kullanarak katı-hal fermente kütledeki tek hücre yağı içeriğini belirlemek için bir kalibrasyon modeli kurmuşlardır. Çalışma sonucunda NIRS kalibrasyon modelinin, katı-hal fermente kütlelerin tek hücre yağı içeriklerinin belirlenmesinde kullanılabileceği ve söz konusu modelin katı-hal fermentasyonlarında tek hücre yağı üretiminin araştırılmasında kolaylık sağlayacağı ortaya konulmuştur.

Microsphaeropsis sp. kullanılarak buharla muamele edilmiş buğday samanı (SEWS) ve buğday kepeğinden (WB) oluşan substrattan katı-hal fermentasyonu (SSF) ile tek hücre yağı üretimi gerçekleştirilmiştir. Sellülaz ilave edilmeden tek hücre yağı verimi 42 mg/g kuru substrat (gks) olarak bulunmuştur. Yüksek tek hücre yağı verimine ulaşmak için katı-hal besi ortamına sellülaz ilave edilmiş ve böylece verimin, 10 FPU/gks sellülaz yüklemesi ile 42'den 74 mg/gks değerine yükseldiği belirlenmiştir. Çalışmada 10 FPU/gks sellülaz yüklenmiş şartlarda diğer katı-hal fermentasyon parametrelerinden kuru substratta SEWS'in WB'ye oranı, başlangıç nem içeriği ve inkübasyon sıcaklığı değerleri optimize edilmiştir. Böylece optimize edilmiş bu

şartlarda tek hücre yağı verimi 80 mg/gks ve kuru fermente kütlede tek hücre yağı içeriği ise %10.2 olarak tespit edilmiştir. Bu çalışma ile bol ve ucuz bulunan tarımsal atıklar içinde yer alan buğday samanı ve buğday kepeğinden tek hücre yağı üretiminde yeni bir metot ortaya konulmuştur (Peng ve Chen 2008b).

Zhang ve Ratledge (2008), malik enzimin (ME) yağlı mikroorganizmalarda yağ asidi biyosentezinde NADPH sağlayabilen tek enzim olduğunu bildirmişlerdir. Bununla birlikte bu enzimin diğer fonksiyonlarını da eşzamanlı olarak yerine getirebildiği; bu nedenle değişik formlarda, muhtemelen değişik genler için kodlanmış olarak bulunabileceği belirtilmiştir. *Mortierella alpina* yağlı fungusunda farklı koşullar altında geliştirilmiş hücrelerin ekstraktlarının bir spesifik tesirli boyama (specific activity stain) ve bunu takiben denature edici olmayan poliakrilamid jel elektroforezi (non-denaturing polyacrylamide gel electrophoresis) (PAGE) kullanılarak en az yedi ME izoformu (A-G) belirlenmiştir. Bunlardan sadece D izoformundan türeyen E izoformu lipit birikimi ile bağdaştırılmıştır. Lipit birikimi aşırı olarak besli ortamında azotun tükenmesinden sonra, belirli koşullarda gerçekleşmektedir. A, B, C, F ve G izoformlarının oksijen-limitli üremeye ilişkili olduğu belirlenmiştir. D ve E izoformlarının hem aerobik hem de anaerobik gelişme şartlarında ortaya çıktığı tespit edilmiştir. Hücrelerin -20°C'de depolanmaları süresince E izoformu kademeli olarak G izoformuna çevrilmiş, bu durumun da proteinlerin devam eden post-transkripsiyonal modifikasyonlarından dolayı olabileceği ileri sürülmüştür.

Besi ortamı bileşenlerinin ve geliştirme koşullarının *Trichosporon fermentans*'ın biyokütle ve lipit üretimi üzerine etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada; bu mikroorganizma için en iyi azot kaynağının pepton, en iyi karbon kaynağının glikoz ve optimum C/N oranının ise 163 olduğu belirlenmiştir. Besi ortamının en iyi başlangıç pH değerinin 6.5, en iyi inkübasyon sıcaklık derecesinin ise 25°C olduğu saptanmıştır. Optimize edilmiş bu şartlarda 7 günlük geliştirmeden sonra 28.1 g/L biyokütle üretimi ve %62.4 lipit içeriğine ulaşılmıştır. Bu değerler diğer araştırmacıların bu mikroorganizma için verdiği orijinal değerlerden (19.4 g/L biyokütle üretimi ve %50.8 lipit içeriği) daha yüksektir. *T. fermentans* ön işlem görmüş atık melasda iyi bir gelişme gösterebilmiştir. %15 toplam şeker (w/v) içeren atık melasda pH 6.0 değerinde %12.8 g/L yağ verimine

ulaşmıştır. Tarımsal-endüstriyel atıklarda yağlı mikroorganizmaların geliştirilmeleri ile ilgili olarak bu değerlerin en iyi değerler olduğu belirtilmiştir. Ön işlem görmüş melasa değişik şekerlerin eklenmesi, lipit birikimini etkili bir şekilde arttırmış, bu sayede %50 oranlarına kadar yükselmiştir. Bitkisel yağlara benzer şekilde elde edilen lipit temel olarak palmitik asit, stearik asit, oleik asit ve linoleik asit içermekte, doymamış yağ asitleri miktarı toplam yağ asitlerinin %64'ünü teşkil etmektedir. 5.6 mg KOH/g asit sayısına sahip mikrobiyel yağ baz katalizörlüğünde serbest yağ asitlerinin uzaklaştırılmasından sonra transesterifikasyonla biyodizele dönüştürülmüş ve %92 gibi bir oranda yüksek metil ester verimi elde edilmiştir (Zhu vd 2008).

Beopoulos vd (2009) *Yarrowia lipolytica* mayası ile ilgili olarak yaptıkları geniş kapsamlı literatür araştırması ile mayaya ait özellikleri ortaya koymuşlardır. Araştırmacıların bildirdiğine göre *Yarrowia lipolytica*, hidrofobik substratların yıkımı ve kullanımı için gelişmiş çok etkili bir mekanizmaya sahiptir. Söz konusu mayanın genom sıralanışının tamamlanması ve genetik manipülasyon için uygun araçların varoluşu, bu türün biyoteknolojik uygulamalarda metabolik fonksiyonlarının kullanımını olanaklı hale getirdiği bildirilmektedir. Yapılan incelemelerde lipit metabolizmasının yolları, depolanması ve maya içindeki akışkanlığı, bu proseslerde fonksiyonları ve rolleri olan belirli enzim ve organeller üzerine dikkati çekmektedir. *Y. lipolytica*'nın hidrofobik substratlara karşı fizyolojik tepkileri, biyosümfaktanların üretimi, sitoplazmik membranın hidrofobizasyonu mekanizması ve bunun yanında yağ birikimini artıran ve değişik biyolojik prosesler arasındaki ilişkiyi belirleyen kültür şartları irdelenmiştir. *Y. lipolytica*'nın yağ asitleri biyoçevriminde kullanımı, tek hücre yağı üretimi ile substrat değerinin artırılması, son olarak hidroskobik bileşiklerin hücre içerisindeki metabolizmasının açıklanması ile ilgili son ilerlemeler, bunların oksidasyonu, ilerleyen degradasyonu, hücreiçi lipit cisimciklerinin oluşumu açıklanmıştır.

Tıbbi kuruluşların bebek mamalarının bilhassa uzun zincirli çoklu doymamış yağ asitleri (LC-PUFA) bakımından insan sütüne olabildiğince benzetilmesi gerektiğini vurguladıkları bildirilmektedir. Bunlardan ARA ve DHA, yeni doğan bebeklere biyokimyasal ve fonksiyonel faydalar sağlamaktadır. Bununla birlikte LC-PUFA'lar oksidasyona karşı çok duyarlı olduğundan bebek mamalarının bileşiminin dikkatli bir

şekilde kontrol edilmesi gerekmektedir. Yapılan bir çalışma ile süt esaslı toz formdaki bebek mamalarına katılan iki tip LC-PUFA supplementinin 25°C ve 40°C’de 18 ay süresince stabiliteleri araştırılmıştır. Bu supplementlerden birisi yumurta sarısı fosfolipitlerini (IF-EPL) ve diğeri ise tek hücre yağı (IF-SCO) tarafından sentezlenen triaçilgliseridleri (DHA ve ARA) içermektedir. Depolama boyunca peroksit değeri, uçucu bileşikler (propanal, pentanal ve hekzanal), yağ asitleri profili ile potansiyel ve serbest furfural içeriği (5-hidroksimetil-2-furaldehid ve 2-furaldehid) gibi parametreler gözlenmiştir. Buna ilaveten bu bebek mamaları eğitimli panel tarafından duyuşal değerdendirmeye tabi tutulmuştur. Çalışılan parametreler, iki bebek maması formülünde de lipit stabilitesinin kabul edilebilir düzeyde olduğunu, en iyi sonuçların IF-EPL içeren bebek maması formulasyonundan alındığını ortaya koymuştur. Çalışma periyodu sonunda her iki förmül için de linoleik asitte bozulma gözlenmiştir. Bununla birlikte ARA ve DHA’yı da içeren diğerd yağ asitlerinde belirlenen azalmanın önemli düzeyde olmadığı saptanmıştır. Furfural içeriği dikkate alındığında her iki formül de benzer bir artış göstermiştir. Ayrıca uzun süreli depolama boyunca tipik Maillard reaksiyonu karakteristiğindeki belirteç ürünler artış göstermiştir (Chávez-Servín vd 2009).

Fakas vd (2009a) yaptıkları çalışmada, misel yaşının yağ asidi biyosentezi üzerine etkilerini araştırmışlardır. Yağ asitleri ile misel yaşı arasındaki korelasyon, GLA yağ üreten yağlı fungus *Mortierella isabellina* misellerinin yağ asidi kompozisyonu analiz edilerek belirlenmiştir. Genç misellerin polar lipitler (glikolipitler ayrıca sifingolipitler ve fosfolipitler) bakımından zengin olduğu, yaşlı misellerin ise nötral lipit içeriğinin yüksek olduğu tespit edilmiştir. Genç misellerde her bir polar lipit fraksiyonunun neredeyse %40 (w/w) düzeylerinde çoklu doymamış yağ asitlerini içerdiği; fakat yaşlı misellerde bu içeriğin %30’dan (w/w) daha düşük olduğu saptanmıştır. Diğerd taraftan nötral lipitlerdeki çoklu doymamış yağ düzeyinin yaşla birlikte hafif dalgalanma gösterdiği tespit edilmiştir. Sonuç olarak çoklu doymamış yağ asitleri biyosentezinin hızlı gelişme gösteren genç misellerde daha fazla olduğu, yaşlı misellerde önemli düzeyde azalma gösterdiği belirlenmiştir. Benzer durum tarımsal-endüstriyel artık olan armut ezmesinde *Mortierella isabellina*’nın geliştirilmesinde de gözlenmiştir. Armut ezmesinde geliştirilen *Mortierella isabellina*, önemli düzeylerde lipit verimi sağlamış; verim, kuru biyokütlerde %12 (w/w) düzeylerine kadar çıkmıştır.

Üretilen lipidin GLA içeriği bakımından oldukça zengin olduğu saptanmıştır. GLA içeriğinin ulaştığı maksimum değer, kuru biyokütlerde 2.9 mg/g olarak belirlenmiştir.

Mortierella isabellina ve *Cunninghamella echinulata*'nın biyokimyasal davranışlarını (biyokütle üretimi, toplam yağ birikimi, substrat kullanımı, fungal yağın yağ asidi kompozisyonu) belirlemek üzere yapılan bir çalışmada, iki Mucorales suşu *Mortierella isabellina* ATHUM 2935 ve *Cunninghamella echinulata* ATHUM 4411 kullanılmıştır. Söz konusu mikroorganizmalar sınırlanmış azot şartlarında ksiloz, ham gliserol ve glikoz içeren besi ortamlarında geliştirilmiş ve her iki mikroorganizmada da kullanılan karbon kaynağına bağlı olarak lipid birikim proseslerinde önemli farklılıklar gözlenmiştir. Bahsi geçen farklılıklar, kullanılan substratların sindirimi ile ilgili metabolik yolların farklılıklarına bağlanmıştır. Bu yüzden değişik karbon kaynakları farklı kapsamlarda depo lipidleri ve lipid olmayan biyokütle oluşumuna sebep olabilmektedir. Glikoz içeren besi ortamları misel biyokütlesi üretiminde avantajlı olmasına rağmen (*C. echinulata* olması durumunda 15 gL⁻¹ toplam biyokütle ve *M. isabellina* olması durumunda 27 gL⁻¹ toplam biyokütle), *C. echinulata* için kurumaddede lipid birikimi %46.0 ve *M. isabellina* için ise %44.6 düzeyindedir. Lipid birikimi ksiloz içeren besi ortamında indüklenmiştir (*M. isabellina* kuru misel kütlesinde %65.5 wt/wt, *C. echinulata* ise %57.7 wt/wt lipid birikimi göstermiştir). Bu şartlarda *C. echinulata* lipidleri, yüksek düzeylerde GLA içermektedir. *C. echinulata* ksilozda geliştirildiğinde 6.7 gL⁻¹ Tek Hücre Yağı ve 1119 mgL⁻¹ GLA üretmiştir. Son olarak her iki fungusun ham gliserolde geliştirilmesi ile ksilozda geliştirilmesi kıyaslandığında, hem biyokütle hem de yağ üretimi bakımından ham gliserolde geliştirme daha düşük verimler ile sonuçlanmıştır (Fakas vd 2009b).

Yapılan bir çalışma ile sülfürik asitle muamele edilmiş pirinç samanı hidrolizatından (SAPSH) *Trichosporon fermentans* kullanılarak mikrobiyel yağ üretimi denenmiştir. Detoksifikasyon işlemi yapılmadan SAPSH ile gerçekleştirilen fermantasyonda 1.7 g/L gibi nispeten düşük yağ verimi elde edilmiştir. Bu değer tek karbon kaynağı olarak glikoz ya da ksilozun kullanıldığı fermentasyonlardan elde edilen yağ verimlerine (13.6 g/L ya da 9.9 g/L) göre oldukça düşük olduğu belirlenmiştir. Detoksifikasyon ön işlemleri, kireçleme, konsantrasyon ve Amberlite XAD-4 vasıtasıyla

adsorbsiyon işlemlerini içermekte ve SAPSH içerisindeki inhibitör etkileri uzaklaştırarak SAPSH'yi fermente edilebilir duruma getirmektedir. Detoksifiye SAPSH üzerinde *T. fermentans*'un 8 gün geliştirilmesinden sonra %40.1 lipit içeriğine sahip (11.5 g/l lipit verimine denk gelen) toplam 28.6 g/L biyokütle üretimi sağlanmıştır. Ayrıca *T. fermentans* SAPSH dışında aynı zamanda mannoz, galaktoz ya da sellobiyozu kullanabilmekte, tek karbon kaynağı olarak diğer doğal lignosellülozik maddelerin hidrolizatlarında gelişebilmekte ve yüksek lipit verimi (en az 10.4 g/L) gösterebilmektedir. Bu nedenle bu mikroorganizmanın özellikle lignosellülozik maddeler gibi zirai-endüstriyel atıklardan mikrobiyel yağ üretimi ve böylece biyodizel hazırlanmasında potansiyele sahip olabileceği belirtilmiştir (Huang vd 2009).

Yapılan araştırmalar ile geniş bir tarama sonucunda, ARA gibi C20 çoklu doymamış yağ asitlerini içeren triaçilgliserollerin potansiyel üreticisi olarak ipliksi bir fungus olan *Mortierella alpina* 1S-4 suşu elde edilmiştir. Bu bilgi, kültürlerin kontrol edilmesi ve yeni mutant suşların geliştirilmesi konusunda metabolik, mühendislik ve moleküler biyoloji metodlarının kullanılmasına rehberlik etmiştir. Günümüzde orijinal ve mutant suşların değişik çoklu doymamış yağ asitlerinin büyük ölçekli üretimlerinde kullanıldığı belirtilmektedir (Sakuradani ve Shimizu 2009).

Farklı bir çalışmada ipliksi bir fungus olan *Mucor circinelloides*'in biyodizel üretiminde kullanımı araştırılmıştır. Bu mikrobiyel lipitlerin yüksek oranda sabunlaşabilen madde içeriğine (%85<) sahip olduğu ve biyodizel üretimi için uygun yağ asidi profili gösterdiği belirtilmiştir. Çalışmada üç farklı solvent sistemi için (kloroform:metanol, kloroform:metanol:su ve *n*-hexane) lipit ekstraksiyon proseslerinin etkinliği belirlenmiştir. Biyodizel, asit-katalize transesterifikasyon/esterifikasyondan sonra takip eden iki farklı yaklaşımla; ekstrakte mikrobiyel lipitlerin transformasyonu ve kuru mikrobiyel biyokütlenin direk transformasyonu ile üretilmiştir. Asit katalizörü olarak BF₃, H₂SO₄ ya da HCl varlığında 8 saat 65°C'de reaksiyon sonunda, direk prosesin yağ asidi metil esterlerini iki aşamalı prosesle olanlardan (%91.4-98.0 saflıkta) daha yüksek saflıkta (bütün katalizörlerde %99<) ürettiği belirlenmiştir. İlave olarak asit katalizörü bulunduğu lipit ekstraksiyonu daha etkili olduğundan direk transformasyonda verim önemli düzeyde yüksek çıkmıştır (Vicente vd 2009).

André vd (2010) yaptıkları çalışmada, biyodizel üretiminde yan ürün olarak açığa çıkan artık gliserolün yüksek funguslar tarafından karbon kaynağı olarak kullanılma durumunu araştırmışlardır. İki *Lentinula edodes* suşu sınırlanmış karbon şartlarında erlenlerde geliştirilmiş ve düşük hızda karıştırma, pH 4.0 ve 25°C fermentasyon sıcaklığı şartlarında tatminkar bir gelişme göstermiştir. Maksimum biyokütle üretimi 5.2 g/L olarak bulunmuştur. Temel yağ asidi olarak linoleik asit üretilmiş ve üretim düzeyi g biyokütle başına 0.1 g yağ olarak saptanmıştır. İki *Aspergillus niger* suşu sınırlanmış azot içeren beherlerde ve sabit başlangıç azot içeriği ve iki farklı başlangıç gliserol konsantrasyonlarındaki besi ortamında geliştirilmiştir. Çalışmada 250 ml'lik erlenlerde geliştirilen suşların 2 litrelik erlenlerde geliştirilenlere göre daha büyük boyutlu pelletler oluşturduğu belirlenmiştir. Sınırlanmış azot şartları, okzalik asit salgılanmasına sebep olmuş ve hücre içi lipit birikimi gözlenmiştir. Her durumda ardışık olarak lipit ve okzalik asit üretimi olduğu belirlenmiştir. Başlangıçta azotun sınırlanması lipit birikimine yol açtığı; sonrasında, biriktirilen lipitin tekrar tüketildiği ve besi ortamına önemli miktarlarda okzalik asit salgılandığı saptanmıştır. Büyük boyutlu pelletlerdeki hücre içi lipit birikiminin fazla, okzalik asit üretiminin ise az olduğu tespit edilmiştir. Küçük boyutlu pelletlerde ise durum tam tersi bir şekilde gerçekleşmiştir. Okzalik asitin maksimum üretimi 20.5-21.5 g/L ve lipitin maksimum üretimi ise 3.1-3.5 g/L (g biyokütlede 0.41-0.57 g yağ) düzeylerine kadar yükselmiştir. Üretilen lipit genel olarak oleik asit ve linoleik asitten oluşmuştur.

Tatlı sorgumdan biyodizel üretimi için yarı-katı fermentasyon (semi-solid fermentation) prosesi üzerine bir çalışma yapılmış; fermentasyon mikroorganizması olarak bir yağlı fungus olan, şekeri depo lipitlerine etkili biçimde dönüştürebilen *Mortierella isabellina* kullanılmıştır. Çalışmada, farklı su içeriği yüzdelerinde kinetik parametre denemeleri yapılmıştır. Fungus sorgumda bulunan şekeri ve azotu eş zamanlı olarak tüketmiş, azotun azalmasıyla biyokütle gelişimi durmuş ve yağ birikimi başlamıştır. Substrattaki %92 su içeriğinin en yüksek yağ verimini (11 g / 100 g kuru substrat ağırlığı) sağladığı belirlenmiştir. Sonuç olarak yarı-katı fermentasyon prosesinin sıvı kültürler ya da katı-hal fermentasyonları ile kıyaslandığında belirli avantajlar sağladığı ve daha kaliteli yağ içeriği sunduğu ortaya konulmuştur (Economou vd 2010).

Bir çeşit deniz balığı derisinin yüzeyinden izole edilen *Rhodotorula mucilaginosa* TJY15a, manyok (cassava) nişastası hidrolizatından büyük miktarlarda yağ üretebilmektedir. Kesikli yöntem ile hücrelerin geliştirilmesi sırasında %47.9 (w/w) düzeyinde yağ birikimi gözlenirken, beslemeli kesikli yöntemle geliştirmede ise %52.9 (w/w) yağ üretimi olduğu saptanmıştır. Beslemeli kesikli fermentasyonun sonunda nişastanın tamamı indirgen şekere dönüştürülmüş ve sadece 0.34 g dm⁻³ düzeyinde indirgen şeker, fermentasyon ortamında kullanılmadan kalmıştır. Bu nedenle deniz kaynaklı *Rhodotorula mucilaginosa* TJY15a mayası, Tek Hücre Yağı üretiminde bir başka potansiyel mikroorganizma olarak görünmektedir. *Rhodotorula mucilaginosa* TJY15a mayasından elde edilen yağın yağ asitleri kompozisyonu, temel olarak palmitik asit, palmitoleik asit, stearik asit, oleik asit ve linolenik asit şeklinde sıralanmakta ve biyodizel üretiminde hammadde olarak kullanılabilmesi belirtilmektedir (Li vd 2010).

Farklı bir çalışmada *Yarrowia lipolytica*'nın gliseroldeki gelişimi araştırılmıştır. Üretim süresince üç farklı gelişim fazı, yani biyokütle üretim fazı, lipojenik faz ve sitrik asit üretim fazları belirlenmiştir. Her fazda maya hücreleri morfolojik ve biyokimyasal özelliklerine göre karakterize edilmiştir. Biyokütle üretim fazı süresince yüksek NAD⁺ bağımlı izo-sitrik dehidrogenaz (NAD⁺-ICDH) aktivitesi belirlenmiş olsa da, bu aktivite lipogenezin indüklenmesinden sonra önemli düzeyde azalmıştır. Sitrik asit üretim fazı boyunca NAD⁺-ICDH aktivitesinde minimal düzeylere kadar gerçekleşen daha fazla düşme ve gliserol kinaz aktivitesinde azalma gözlenmiştir. Şaşırtıcı bir şekilde sitrik asit üretimi depo lipitlerinin (nötral) kullanımı ile beraber, dikkat çekici biçimde glikolipitlerin, sifingolipitlerin ve fosfolipitlerin biyosentezleri ile birlikte gerçekleşmektedir. Oleik asit bütün lipit fraksiyonlarında en çok bulunan yağ asidi, fosfatidilkolin ise ana fosfolipittir. Bu çalışma ile *Y. lipolytica*'nın gliserolü fosforilasyon yolu üzerinden tek hücre yağı ve sitrik asit gibi değerli biyoteknolojik ürünlere başarılı bir şekilde çevirebildiği bildirilmiştir (Makri vd 2010).

Peng ve Chen (2010) yaptıkları çalışmada, mikrobiyel yağdan biyodizel üretimi konusunu araştırmışlardır. Araştırmacılar önceki çalışmalarında buharla muamele edilmiş buğday samanından katı-hal fermentasyon yöntemi ile mikrobiyel yağ ürettiklerini ve bu mikrobiyel yağın biyodizel üretiminde kullanım potansiyelini araştırdıklarını

bildirmişlerdir. Katı-hal fermentasyon prosesi sonrasında fermente kuru biyokütlede yağ oranını %10.2 olarak tespit etmişlerdir. Araştırmacılar yaptıkları bu yeni çalışmada; mikrobiyel yağı biyodizele çevirmek maksadıyla elde ettikleri bu fermente kuru biyokütleyi, sabitlenmiş yataklı reaktörde (fixed-bed reaktör) prolize (yüksek sıcaklıklarda dekompozisyon) etmişlerdir. Maksimum sıvı ürün verimi, 40°C/dk ısıtma düzeyinde, 500°C son sıcaklıkta ve minimum 40 cm³ sürükleyici gaz (N₂) akışı şartlarında %43.2 olarak tespit edilmiştir. Sıvı ürün, n-hekzan ile ekstrakte edilmiş olup n-hekzanda çözünebilir ve n-hekzanda çözünemez fraksiyon olmak üzere ikiye ayrılmıştır. n-hekzanda çözünemeyen fraksiyonun temel bileşenleri su, metanol, 1-hidroksi-2-propanon, furfural ve asetik asit olarak belirlenmiştir. n-hekzanda çözünebilir fraksiyonun temel bileşenlerinin ise n-hekzadekanoik asit, hegzadekanoik asit metil esteri, 9-oktadekanoik asit metil esteri, fenol ve 4-metil-fenol olduğu tespit edilmiştir. Hekzadekanoik asit metil ester ve 9-oktadekanoik asit metil ester çevrim oranları permutit (yapay zeolit) katalizörlüğünde prolizis ile arttırılabilmektedir. Bunlardan ilki, %20 (w/w) katalizör varlığında %6.3'den %30.0'a, ikincisi ise %4.2'den %10.3'e düzeyine çıkmıştır. Prolizis süresince fermente kütlede diğer bir prolizis ürünü olan metanol ile mikrobiyel yağın transesterifikasyonu ile yağ asidi metil esterlerinin oluştuğu düşünülmektedir. Bu çalışma ile yağlı materyallerin prolizisiyle biyodizel üretiminde kullanılacak yağ asitlerinin üretilebileceği ilk kez ortaya konulmuş, böylelikle yağ ekstraksiyonu ve transesterifikasyonu içeren geleneksel prosesin yerine prolizis ile biyodizel üretiminin kullanılabilirliği belirtilmiştir.

Zhao vd (2010) tarafından yapılan bir çalışmada *Rhodotorula mucilaginosa* TJY15a kullanılarak inülin hidrolizatında kesikli olarak gerçekleştirilen geliştirmede %48.8 (w/w) oranında yağ birikimine ve 14.8 g/L kuru biyokütle ağırlığına ulaşılırken, yer elması yumrusu ekstraktı hidrolizatında kesikli geliştirmede %48.6 (w/w) yağ ve 14.4 g/L kuru biyokütle; beslemeli kesikli geliştirmede ise %52.2 yağ ve 19.5 g/L kuru biyokütle miktarına ulaşılmıştır. Beslemeli kesikli fermentasyon işlemi sonunda fermentasyon ortamında sadece %0.04 indirgen şeker ve %0.08 toplam şeker kaldığı belirlenmiştir. Yer elması yumrularının ekstraktının hidrolizatında geliştirilen *Rhodotorula mucilaginosa* TJY15a'nın yağ asitlerinin %87.6'sından fazlasını palmitik asit, oleik asit and linolenik asit (özellikle de %54.7 oranında oleik asit) oluşturmuştur.

Sonuç olarak hem inülin hidrolizatının hemde yer elması yumrularının ekstraktının hidrolizatının tek hücre yağı üretiminde verimli substrat materyalleri olarak kullanılabilereği bulunmuştur.

3. MATERYAL ve METOT

3.1. Materyal

Araştırmada kullanılan tatlı peyniraltı suyu tozu İzi Süt Gıda Mamülleri Sanayi ve Tic. A.Ş.'den (Konya) satın alınmıştır. Aşılama da kullanılan *Mortirella isabellina* (DSM 1414) ve *Mortierella ramanniana* (DSM 62752) küf kültürleri Alman Mikroorganizma ve Hücre Kültür Koleksiyon Enstitüsü'nden (Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH) temin edilmiştir.

3.2. Araştırmada Kullanılan Deneme Deseni

Tez çalışmasında substrat kaynağı olarak peyniraltı suyu kullanılmıştır. Peyniraltı suyunun kurumadde miktarının ve laktaz enzimi uygulaması ile laktozun kısmen parçalanarak monosakkaritlerine ayrılmasının biyokütle üretimi, biyokütlerde yağ verimi ve elde edilen yağdaki yağ asidi kompozisyonu üzerine etkileri araştırılmıştır. Çalışmada kullanılan tüm peyniraltı suları, fermentasyon işlemini etkileyebilecek diğer faktörleri en aza indirilebilmek için yağsız peyniraltı suyu tozundan (rekonstüte) elde edilmiştir.

Bu araştırmada herhangi bir uygulamaya maruz bırakılmamış normal bileşime sahip peyniraltı suyunun yanında üç farklı düzeyde kurumadde içeren peyniraltı suları ile birlikte kurumadde içerikleri birbirinden farklı toplam 4 peyniraltı suyu elde edilmiş ve bu peyniraltı suları iki gruba ayrılmıştır. Gruplardan birine laktaz enzimi ilavesi yapılarak laktozu kısmen parçalanmıştır. Diğer gruba ise herhangi bir enzim uygulaması yapılmamıştır. Böylelikle çalışmada substrat kaynağı olarak kullanılmak üzere 8 farklı peyniraltı suyu elde edilmiştir. Elde edilen farklı bileşimlere sahip peyniraltı sularının kurumadde oranları yerine, fermentasyon işleminde kullanılan substrat olması nedeniyle laktoz oranları (%4.5, %8, %12 ve %16) temel alınmıştır. Bundan sonraki bölümlerde geçen “farklı laktoz oranları” kavramı, aynı zamanda “farklı kurumadde oranları” kavramını ifade etmektedir.

Farklı laktoz oranlarına sahip laktaz enzimi uygulanmış ya da uygulanmamış toplam 8 farklı peyniraltı suyu, *Mortierella isabellina* veya *Mortierella ramanniana* küfleri ile aşılansarak fermentasyon işlemine tabi tutulmuştur. Ayrıca her bir küf ile kontrol besi ortamına da ayrı ayrı aşılamlar yapılmıştır. Çalışmada, toplam 18 fermentasyon işlemi sonunda 18 farklı mikrobiyel yağ üretimi gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmada uygulanan deneme planı Çizelge 3.1’de gösterilmiştir.

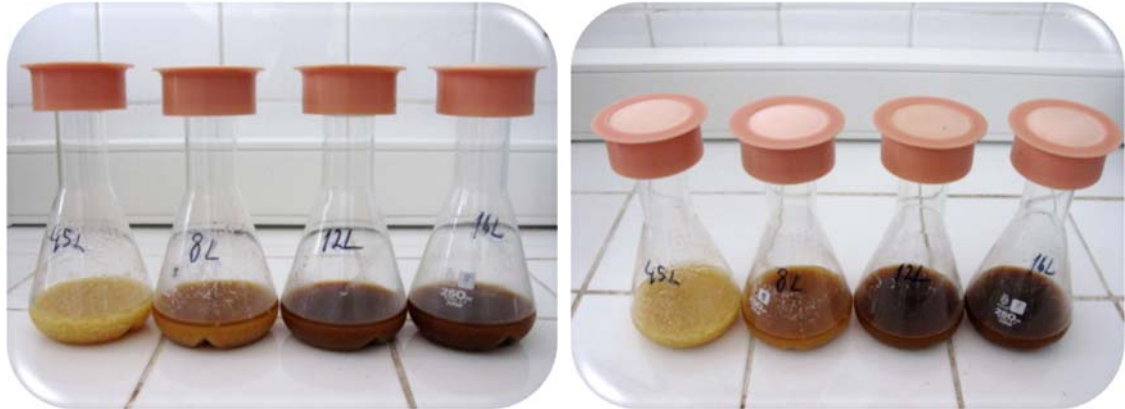
Çizelge 3.1. Çalışmada uygulanan deneme planı

Fermentasyonda kullanılan küfler	Substrattaki şeker oranı	Substrata laktaz enzimi uygulaması	Örnek kodları
<i>Mortierella isabellina</i> (DSM 1414)	%4.5 laktoz (Normal PAS*)	Yok	4.5İ
		Var	4.5İL
	%8 laktoz	Yok	8İ
		Var	8İL
	%12 laktoz	Yok	12İ
		Var	12İL
	%16 laktoz	Yok	16İ
		Var	16İL
	% 3 glikoz (Kontrol Besi Ortamı)	-----**	Kİ
	<i>Mortierella ramanniana</i> (DSM 62752)	%4.5 laktoz (Normal PAS*)	Yok
Var			4.5RL
%8 laktoz		Yok	8R
		Var	8RL
%12 laktoz		Yok	12R
		Var	12RL
%16 laktoz		Yok	16R
		Var	16RL
% 3 glikoz (Kontrol Besi Ortamı)		-----**	KR

PAS* : Peyniraltı suyu

-----** : Enzim muamelesi yok

Fermentasyon süresince her bir substratta gelişen biyokütle miktarı, biyokütlede yağ miktarı ve elde edilen yağlarda yağ asidi kompozisyonlarındaki değişimlerin ve kullanılmış substratta kalan şeker düzeylerinin izlenebilmesi için günde bir (24 saat) substratlardan örnek alınmıştır. Bu amaçla her bir substrattan 250 ml'lik 10 adet dalgakıranlı (baffled) erlenlere (Sigma-Aldrich / CLS4444250 Pyrex baffled shaker flask) 95'er ml'lik eşit kısımlar aktararak (95 ml substrata 5 ml ön kültür aşılmasıyla toplam 100 ml'ye tamamlanmıştır) ağızları, gaz geçirip rutubet geçirmeyen özel silikon süngerlerle (SIGMA-ALDRICH / C1046-10EA Silicone Sponge Closures, Size: 38mm) kapatılmıştır (Şekil 3.1). Sterilizasyon işlemi ve uygun sıcaklıkta aseptik koşullarda yapılan aşılamalardan sonra eş zamanlı olarak fermentasyonlar başlatılmıştır. 10 gün süren fermentasyon süresince her bir substrata ait 10 adet erlenden her gün biri alınmış (100 ml'lik örnek) ve bu örneklerde oluşan kuru biyokütle miktarı, kuru biyokütlede yağ miktarı ve elde edilen mikrobiyel yağlarda yağ asidi kompozisyonları ile geriye kalan substratlardaki laktoz, glikoz ve galaktoz miktarları belirlenmiştir.

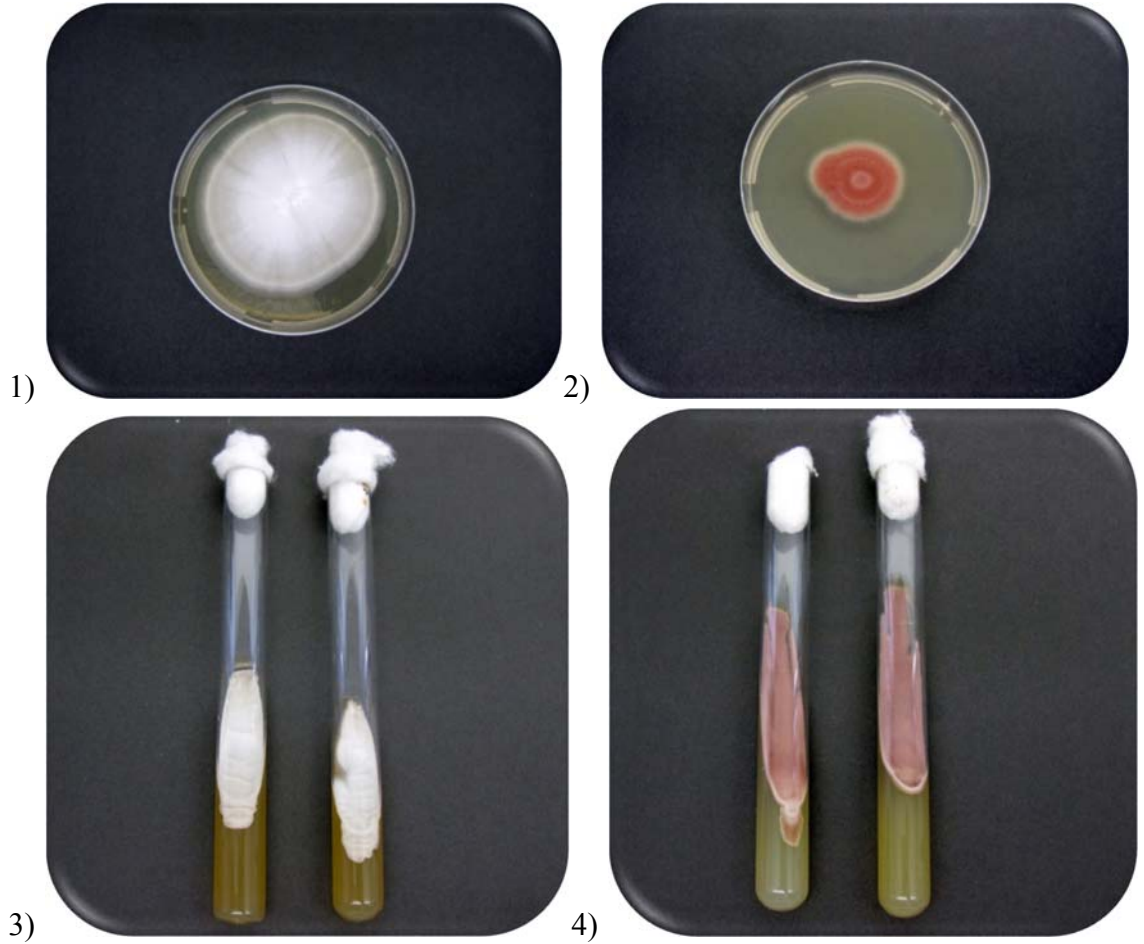


Şekil 3.1. Fermentasyonlarda kullanılan dalgakıranlı erlenler ve silikon sünger kapaklar

Ayrıca her bir substratın fermentasyonu sonunda elde edilen toplam yağda, fiziksel ve kimyasal özelliklerin tespit edilebilmesi için yeterli miktarda yağ üretimi sağlamak amacıyla 1 litrelik çalışma hacmi olan erlenlerde fermentasyon işlemleri gerçekleştirilmiştir. On günlük fermentasyon işlemi sonunda 1'er litrelik örnekler tamamen alınıp gerekli işlemler yapıldıktan sonra elde edilen her bir yağ örneğinde öz ağırlık, kırılma indisi, sabunlaşma sayısı, asitlik, peroksit sayısı ve iyot sayısı belirlenmiştir.

3.3. Küflerin Geliştirilmeleri ve Muhafazaları

Orijinal ampülü içindeki liyofilize küf kültürleri, geliştirme talimatında tarif edildiği şekilde aseptik koşullarda hazırlandıktan sonra *Mortirella isabellina*, Łukowska ve Pleniewicz'nin (2007) belirttiği şekilde, malt ekstrakt pepton agar besiyerinde (30 g malt ekstrakt, 3 g soya peptonu ve 15 g agar 1 L distile suda çözündürülür, pH 5.6'ya ayarlanır ve 120°C'de 15 dk otoklavda sterilize edilip soğutulularak katı besiyeri elde edilir); *Mortierella ramanniana* ise Kavadia vd'in (2001) önerdiği şekilde patates dekstroz agar besiyerinde (Merck, Darmstadt, Germany) petri kaplarında ve tüpler içindeki yatık besiyerlerinde ikişer paralelli olarak 27°C'de 3 gün (Łukowska ve Pleniewicz 2007) spor oluşturma kadar inkübe edilmiştir. Şekil 3.2'deki 1 ve 3 no'lu resimler *Mortirella isabellina*'nın, 2 ve 4 no'lu resimler ise *Mortierella ramanniana*'nın petri ve yatık agardaki geliştirilmiş formlarını göstermektedir.



Şekil 3.2. Petrilere ve yatık agarlarda geliştirilmiş mikroorganizma kültürleri

Malt ekstrakt pepton agarda geliştirilen *Mortirella isabellina* ve PDA'da geliştirilen *Mortierella ramanniana* küfleri kullanılmaya kadar tüpler içindeki yatık agarlarda (slant agar), +4°C'de muhafaza edilmiştir (Papanikolaou vd 2004). Her 10 günde bir +4°C'de muhafaza edilen küflerin (stok kültür) petriden petriye veya tüpten tüpe aktarılıp aşılınması ile tazeliği korunmuştur (Şekil 3.2).

Yapılan ön denemelerde; gerek stok kültürlerin taze yeni besiyerine aşılınarak yenilenmesinde, gerekse geliştirme ortamlarına (substratlara) aşılama yatık agar besiyeri kullanımının petriden aşılama göre daha güvenli olduğu görülmüş ve bütün aşılama işlemlerinde yatık agarlardaki stok kültürlerin kullanımı tercih edilmiştir.

Bütün aşılama işlemleri steril kabin (ESCO-Class II BSC) içerisinde aseptik koşullara uyularak gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.3). Tüpten tüpe aktarma işlemi için aseptik koşullarda stok kültüre 5 ml steril saf su ilave edilmiş ve 5 dakika süreyle dakikada 2000 devirle vortekslenmiştir (VELP SCIENTIFICA-Vortex Mixer). Vortekslenmiş tüpler içindeki misel süspansiyonundan yeni steril yatık agarlara aşılama yapılmış (1-2 damla ilave edilerek) ve 3 gün süre ile 27°C'de küf miselleri spor oluşturmaya kadar geliştirilerek yeni taze stok kültürler elde edilmiştir. Şekil 3.3'de Beyaz renkli olanlar *Mortirella isabellina*, kahverengi olanlar ise *Mortierella ramanniana* stok kültürlerini göstermektedir.



Şekil 3.3. Yatık agarlardaki stok kültürler

3.4. Peyniraltı Suyunun Hazırlanması

Yapılan ön denemelerde yağsız peyniraltı suyu tozu kullanılarak deiyonize su ile %7, %12, %18 ve %24 oranlarında kurumadde içeren peyniraltı suları hazırlanmış ve bunlara ısıtma işlemi uygulanarak proteinleri denature edilmiştir. Söz konusu ısıtma işlemi, Sienkiewicz ve Riedel'in (1990) uyguladığı "121°C'de 10 dakika" sıcaklık ve süre normu kullanılmıştır. Denature proteinleri peyniraltı suyundan ayırmak için iki farklı yöntem uygulanmıştır. Bu amaçla ısıtma işlemi sonrası peyniraltı suları iki gruba ayrılmış, bir grup önce kaba filtre kâğıdından sonra Rimada ve Abraham'ın (2001) belirttiği gibi filtre kâğıdından (Whatman no:1) geçirilmiştir. Diğer grup ise 22000 g devirde +4°C'de santrifüj edilerek (sıvı besi ortamlarından küf biyokütlesinin ayrılmasında kullanılan devir ve sıcaklık) denature proteinler çöktürülüp, daha sonra kaba filtre kağıdı ve arkasından filtre kâğıdından (Whatman no:1) geçirilmiştir. Her iki yöntem uygulaması sonucunda elde edilen deproteinize peyniraltı suyu permeatlarında (DP-PSP) suda çözünür kurumadde (°Bx) değerleri ve şeker içerikleri belirlenmiştir. Santrifüj işlemi uygulanmış grup ile sadece filtrasyon işlemleri uygulanmış grup arasında hem °Bx değerleri hem de şeker içerikleri bakımından önemli düzeyde bir farklılık görülmemiştir (santrifüj işlemi uygulanmış grupta °Bx değerleri sırayla %7 kurumaddeli peyniraltı suyu için 6.05, %12 için 10.53, %18 için 15.87 ve %24 için 21.25, sadece filtrasyon işlemleri uygulanmış grupta bu değerler sırayla %7 için 6.5, %12 için 11.04, %18 için 16.52 ve %24 için 21.90 olarak belirlenmiş; % şeker miktarına ilişkin değerler ise santrifüj işlemi uygulanmış grupta sırayla %7 için 4.81, %12 için 8.28, %18 için 12.78 ve %24 için 17.56, sadece filtrasyon işlemleri uygulanmış grupta bu değerler sırayla %7 için 4.80, %12 için 8.40, %18 için 12.96 ve %24 için 17.96 olarak tespit edilmiştir). Bunun yanında kurumadde oranı arttıkça deproteinizasyon işleminin daha etkili olduğu görülmüştür. Bütün bu koşullar göz önüne alındığında en yüksek kurumadde oranında (%24) peyniraltı suyu hazırlanıp, ısıtma işlemiyle proteinlerinin denaturasyonundan sonra, önce kaba filtre kağıdı sonrasında filtre kâğıdından (Whatman no:1) süzülerek DP-PSP'lerin hazırlanmasının, en uygun yöntem olduğu belirlenmiştir. Filtrasyon işlemleri 85-90°C'lerde yapılmıştır. Filtrasyon sıcaklığının düşmesi ile birlikte laktoz kristalizasyonu görülmekte, bu da filtrasyon işleminin yavaşlamasına ve etkinliğinin azalmasına sebep olmakta ve sonuçta elde edilen permeatta laktoz oranının göreceli

olarak düşmesine neden olmaktadır. Tüm bu işlemler neticesinde elde edilen yüksek kurumaddeli DP-PSP'nin uygun oranlarda seyreltilmesiyle çalışmada kullanılan farklı laktoz düzeylerine sahip DP-PSP'ler hazırlanmıştır. Bu amaçla yüksek kurumaddeli DP-PSP distile su ile seyreltilerek, içerdikleri laktoz oranlarının baz alınmasıyla, normal bileşime sahip (%4.5 laktoz içerikli) DP-PSP ve laktoz oranları %8, %12 ve %16 olacak şekilde 3 farklı oranda kurumadde içeriğine sahip toplam 4 farklı DP-PSP elde edilmiştir.

Elde edilen permeatlara herhangi bir azot ya da mineral takviyesinin yapılmasının gerekmediği, kültür gelişimi için gerekli miktarın bulunduğu bildirilmiştir (Hsiao vd 1994).

3.4.1. DP-PSP'lerin sterilizasyonu

DP-PSP'lerin sterilizasyonunda Kavadia vd (2001) ve Papanikolaou vd'nin (2004) bildirdikleri şekilde tüm DP-PSP'ler 121°C'de 20 dakika otoklavda (REVERBERI-Pratika, İtalya) sterilize edilmiş, pH'ları sterilizasyon sonunda 6.0±0.1 olarak ayarlanmıştır. Sterilizasyon sonrası örneklerin pH ayarlaması işlemi, yapılan ön denemelerle sağlanmıştır.

3.4.2. DP-PSP'lere laktaz enzimi uygulaması

DP-PSP'lerde laktozun enzimatik hidrolizi için *Kluyveromyces lactis*'den elde edilmiş olan β-Galaktosidaz enzimi (≥3000 unit/ml kuvvetinde, Sigma G3665) kullanılmıştır.

Enzim uygulaması ile ilgili literatürlerde önerilen değişik yöntemlere göre yapılan ön denemelerde farklı pH değerleri, reaksiyon sıcaklıkları, enzim / substrat oranları ve reaksiyon süreleri denenmiştir: Yapılan ön denemeler aşağıda açıklanmıştır.

- 21 °Bx çözünür kurumadde içerikli, pH değeri 6'ya ayarlanmış steril konsantre DP-PSP'ye aseptik koşullarda %0.5 oranında enzim ilave edilmiş ve çalkalamalı

inkübatörde (ZHICHENG-ZHWY-200B incubator shaker) 30°C'de 180 rpm'de 12 saat bekletilmiştir.

- 21 °Bx çözünür kurumadde içerikli, pH değeri ayarlanmamış (pH 5.66) steril konsantre DP-PSP'ye aseptik koşullarda %0.25 oranında enzim ilave edilmiş ve çalkalamalı inkübatörde 30°C'de 180 rpm'de 12 saat bekletilmiştir.
- 21 °Bx çözünür kurumadde içerikli, pH değeri ayarlanmamış (pH 5.66) steril konsantre DP-PSP'ye aseptik koşullarda %0.25 oranında enzim ilave edilmiş ve çalkalamalı inkübatörde 28°C'de 180 rpm'de 12 saat bekletilmiştir.
- Sienkiewicz ve Riedel'in (1990) bildirdiğine göre bu enzim için (*K. marxianus* var. *lactis* laktazı) için optimum çalışma pH'sı 6.0, optimum sıcaklık ise 37°C olarak verilmiştir. Araştırmacıların önerdiği doğrultuda yapılan ön denemede laktoz içerikleri ve enzim kuvveti de dikkate alınıp orantısal olarak hesaplamalar yapılmış ve buna göre enzim miktarları belirlenmiştir. pH değerleri 6.0'a ayarlanmış olan steril %16 laktoz içeren konsantre DP-PSP'ye 0.260 mL/L, %12 laktoz içeren permeata 0.195 mL/L, %8 laktoz içeren permeata 0.130 mL/L ve %4.5 laktoz içeren permeata ise 0.073 mL/L miktarlarında enzim ilaveleri yapılarak çalkalamalı inkübatörde 37°C'de 180 rpm'de 12 saat bekletilmiştir.

Yukarıda açıklanan ön denemelerden ilk üçünde laktozun hidrolizi, muhtemelen yüksek laktoz konsantrasyonundan dolayı etkili biçimde gerçekleşmemiştir. Son denemede ise eş süreler geçmesine rağmen yine laktoz hidrolizi farklı oranlarda ve etkili olmayan biçimde gerçekleşmiştir. Belirtilen enzim kuvvetine göre yapılan hesaplarla makul sürede etkili hidrolizin gerçekleşmeyeceği anlaşılmış ve yeni enzim oranları denenmiştir.

Yeni denemede, pH değerleri 6.0'a ayarlanmış olan steril %4.5 laktoz içerikli DP-PSP ve laktoz oranları %8, %12 ve %16 olan konsantre DP-PSP'lere aseptik koşullar altında %0.25 oranında laktaz enzimi ilave edilmiş ve 37°C'de 180 rpm'de 12 saat süre ile çalkalamalı inkübatörde tutulmuştur. Süre sonunda HPLC ile şeker

düzeyleri tespit edilmiştir. Bu denemeye göre bütün DP-PSP'lerde laktozun etkili biçimde ve aynı oranlarda hidroliz olduğu görülmüş ve bu şartların enzimatik hidrolizde uygulanması kararlaştırılmıştır.

3.5. Kontrol Besi Ortamının Hazırlanması

Kontrol besi ortamının hazırlanmasında Kavadia vd'in (2001) belirttiği yöntem kullanılmıştır. Kontrol besi ortamı için 30 g/L glikoz, 1 g/L (NH₄)₂SO₄, 7 g/L KH₂PO₄, 2 g/L Na₂HPO₄, 1.5 g/L MgSO₄.7H₂O, 0.1 g/L CaCl₂.2H₂O, 0.008 g/L FeCl₃.6H₂O, 0.001 g/L ZnSO₄.7H₂O, 0.0001 g/L CuSO₄.5H₂O, 0.0001 g/L Co(NO₃)₂.H₂O, 0.0001 g/L MnSO₄.5H₂O ve 0.5 g/L maya ekstraktı tartılıp saf su ile 1 litreye tamamlanmış, pH değeri 6.0'a ayarlanarak (besi ortamı hazırlandığında pH değeri 6.09 olarak belirlenmiş, sterilizasyon sonunda soğutulduktan sonra bu değer 6.01'e düşmüştür), 121°C'de 20 dakika süre ile sterilize edilmiş ve 28°C'ye soğutulularak kullanıma hazır hale getirilmiştir.

3.6. Ön Kültürün (Preculture) Hazırlanması

Ön kültürün hazırlanmasından önce yatık agarlarda muhafaza edilen stok kültürler kullanılarak misel süspansiyonları hazırlanmıştır.

3.6.1. Misel süspansiyonu hazırlanması

Misel süspansiyonları, Wynn ve Ratledge'nin (2000) önerdiği metot modifiye edilerek hazırlanmıştır. Buna göre +4°C'de muhafaza edilen tüpler içindeki stok kültürlerden alınıp üzerine aseptik koşullar altında steril 10 adet cam boncuk (3 mm çapında) ile beraber 5 ml steril saf su ilave edilmiştir. Sonra bu tüpler 2000 rpm de 5 dakika vorteksenerek misel süspansiyonu elde edilmiştir.

3.6.2. Ön kültür besi ortamının hazırlanması

Ön kültür hazırlanmasında kullanılan besi ortamı Kavadia vd'in (2001) belirttiği

yöntem ile şu şekilde hazırlanmıştır; 5 g/L glikoz, 1 g/L (NH₄)₂SO₄, 7 g/L KH₂PO₄, 2 g/L Na₂HPO₄, 1.5 g/L MgSO₄.7H₂O, 0.1 g/L CaCl₂.2H₂O, 0.008 g/L FeCl₃.6H₂O, 0.001 g/L ZnSO₄.7H₂O, 0.0001 g/L CuSO₄.5H₂O, 0.0001 g/L Co(NO₃)₂.H₂O, 0.0001 g/L MnSO₄.5H₂O ve 0.5 g/L maya ekstraktı tartılıp saf su ile 1 litreye tamamlandıktan sonra besi sıvısının pH'sı 6.0'a ayarlanmış ve 121°C'de 20 dakika tutularak sterilize edilmiştir.

3.6.3. Misel süspansiyonunun ön kültür besi ortamına aşılması

Misel süspansiyonunun ön kültür besi ortamına aşılması işlemi Hsiao vd (1994), Hiruta vd (1996a), Papanikolaou vd (2004) ile Dong ve Walker (2008) tarafından uygulanan yöntemler modifiye edilerek yapılmıştır. Buna göre 100 mL steril besi ortamına aseptik koşullar altında 1 mL misel süspansiyonu ile aşılama yapılmıştır. Aşılama ön kültür besi ortamı çalkalamalı inkübatörde 28±1 °C'de, 180 rpm'de, 2 gün süreyle ön fermentasyona tabi tutulmuştur.

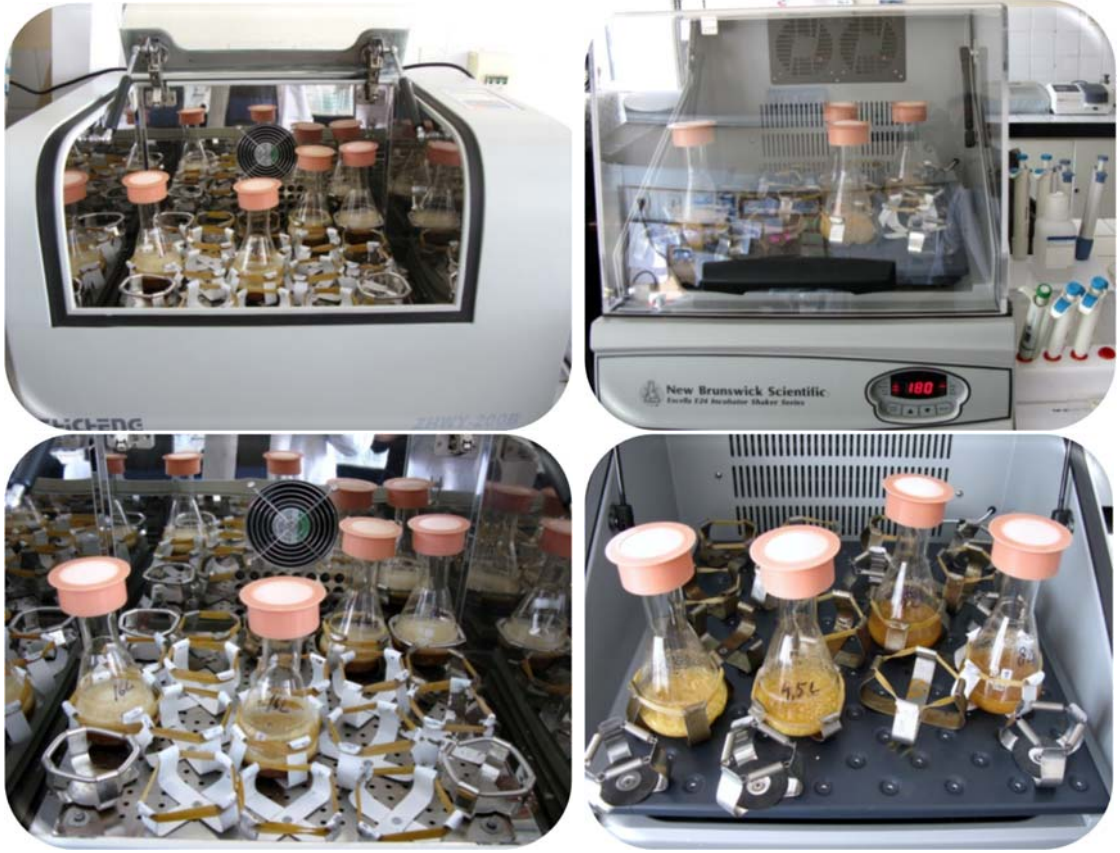
3.7. Hazırlanan Ön Kültürden DP-PSP'lere ve Kontrol Besi Ortamına Aşılama

Ön kültürden DP-PSP'lere ve kontrol besi ortamına aşılama işleminde Hsiao vd (1994), Chartrain vd (1995) ile Dong ve Walker'in (2008) belirttiği yöntemler kullanılmıştır. Bu amaçla hazırlanmış olan DP-PSP'lerden ve kontrol besi ortamından 95 ml'lik kısımlar ayrılıp 250 ml'lik özel fermentasyon erlenleri içerisine aktarılmış, ağzıları özel silikon sünger kapaklar ile kapatıldıktan sonra sterilize edilmiş ve ardından 28°C'ye soğutulmuştur. Daha önceden 2 gün süre ile ön fermentasyona bırakılarak elde edilen ön kültürden 5'er mL (%5) aşılama yapılarak 100'er mL'lik DP-PSP'ler ve kontrol besi ortamı elde edilmiştir.

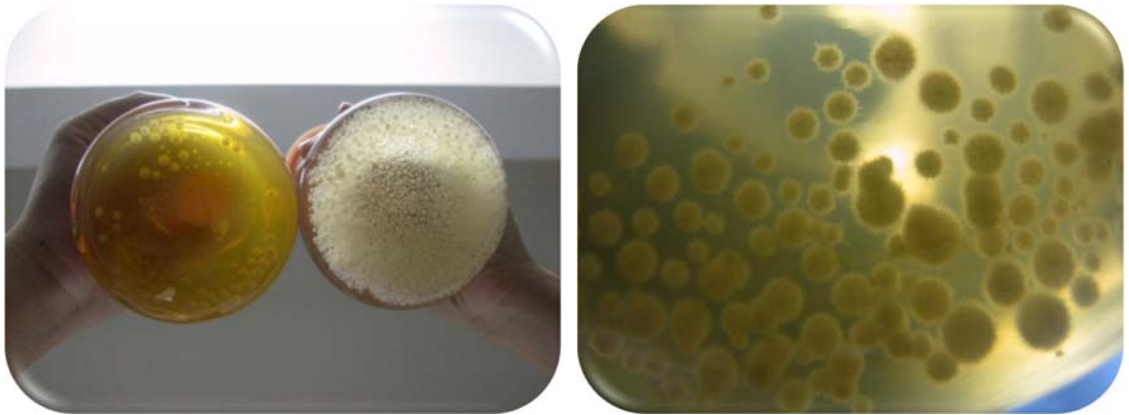
3.8. Gelişme Şartları

Aşılama tüm besi ortamları (DP-PSP'ler ve kontrol besi ortamları) Kavadia vd (2001) ile Papanikolaou vd'nin (2004) kullandıkları yönteme göre 28±1°C'de, 170-180 rpm'de çalkalamalı inkübatörde (Şekil 3.4) fermentasyona bırakılmıştır. Şekil 3.5'de

erlenlerde gelişme sırasında topak (pellet) oluşumu görülmektedir.



Şekil 3.4. Çalkalamalı inkübatörlerde küflerin geliştirilmesi



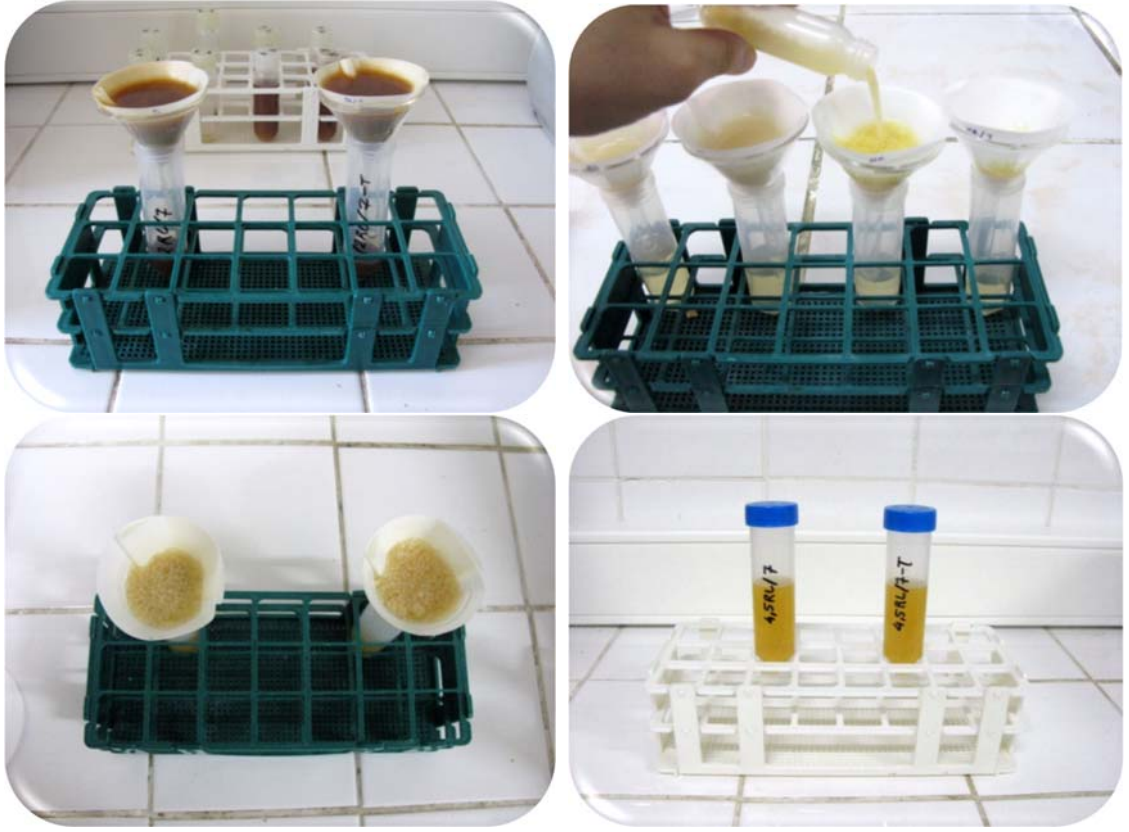
Şekil 3.5. Erlenlerde geliştirilen biyokütlelerde topak (pellet) oluşumu

3.9. Biyokütlenin Besi Ortamlarından (DP-PSP ve Kontrol Besi Ortamı) Ayrılması

Günlük periyodik olarak inkübatörden alınan 100 mL'lik örnekler (besi ortamı + yaş biyokütle) Papanikolaou vd'nin (2004) belirttiği şekilde santrifüj tüplerine alınıp (Şekil 3.6) 22000 g'de, 4°C'de, 20 dakika süreyle santrifüj (SIGMA-3K30) edildikten sonra Wynn ve Ratledge'nin (2000) önerdiği gibi filtre kağıdından (whatman no:1) süzlmüştür. Filtreden geçirilen berrak süzüntü (kullanılmış besi ortamı) saklama tüplerine alınarak daha sonra HPLC'de şeker analizleri yapılmak üzere -20°C'de depolanmıştır (Şekil 3.7).

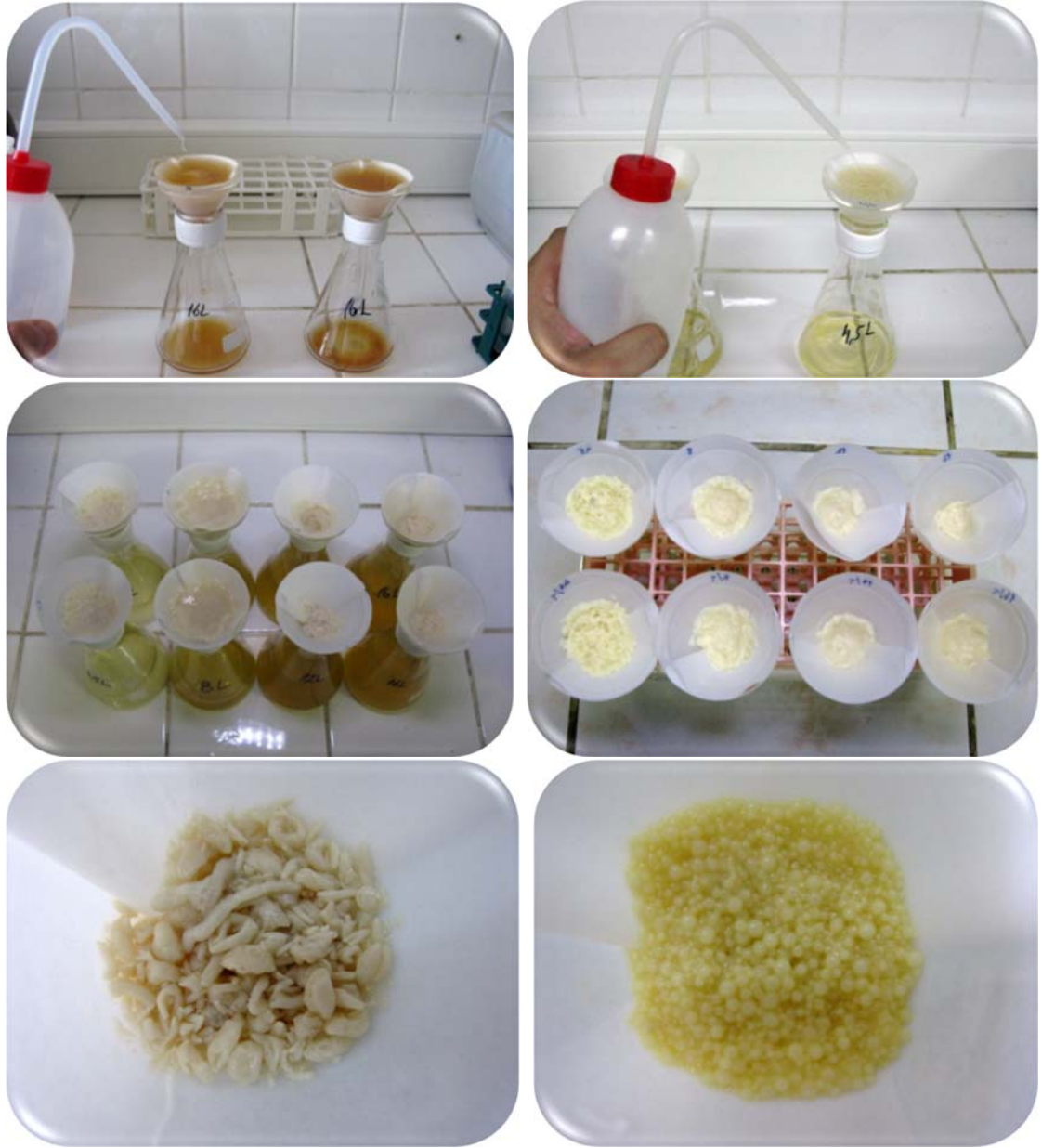


Şekil 3.6. Biyokütlenin santrifüj tüplerine alınarak santrifüj edilmesi



Şekil 3.7. Kalan besi ortamının süzülerek saklama tüplerine alınması

Filtre kağıdının üstünde kalan yaş biyokütle ise bir kaç kez (tamamen kullanılmış besi ortamından temizlenene kadar) bol distile su ile yıkanıp (Şekil 3.8) filtrasyonda kullanılan ve daha önceden kurutularak darası alınmış olan filtre kağıdı ile birlikte kurutma işlemi için ayrılmıştır (Wynn ve Ratledge 2000, Kavadia vd 2001, Papanikolaou vd 2004).

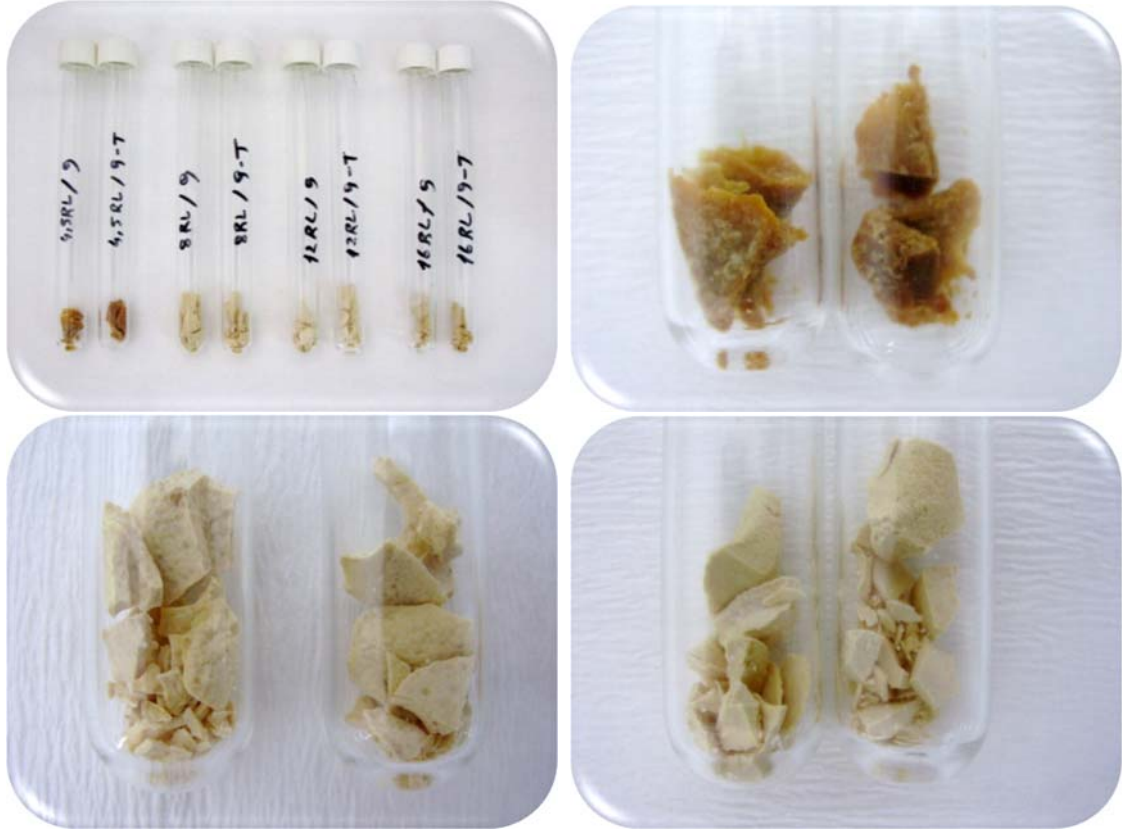


Şekil 3.8. Süzülen biyokütlenin distile su ile yıkanması

3.10. Biyokütlenin Kurutulması

Filtre kâğıdında kalan yaş biyokütle Dong ve Walker'in (2008) belirttiği yöntem ile 70°C'lik etüvde 1 gece bekletilerek kurutulmuştur. Kurutulan biyoküteller filtre kâğıdı ile birlikte tartılıp önceden kaydedilmiş olan kuru filtre kâğıdı ağırlığı çıkarılarak kuru biyokütle miktarı hesaplanmıştır. Kuru biyoküteller, kuru ve temiz tüpler içine alınıp üzerlerine azot gazı basılarak kapakları sıkıca kapatılmış ve yağ analizlerinin yapılacağı zamana kadar -35°C'de muhafaza edilmiştir. Şekil 3.9'da tüplere alınmış

kuru biyoküteller ile aynı küfün farklı kurumadde içeriklerine sahip DP-PSP'lerde geliştirilmesi durumunda elde edilen kuru biyokütlenin rengi, yapısı, yağ içeriği v.s. değişiklikler görünmektedir.

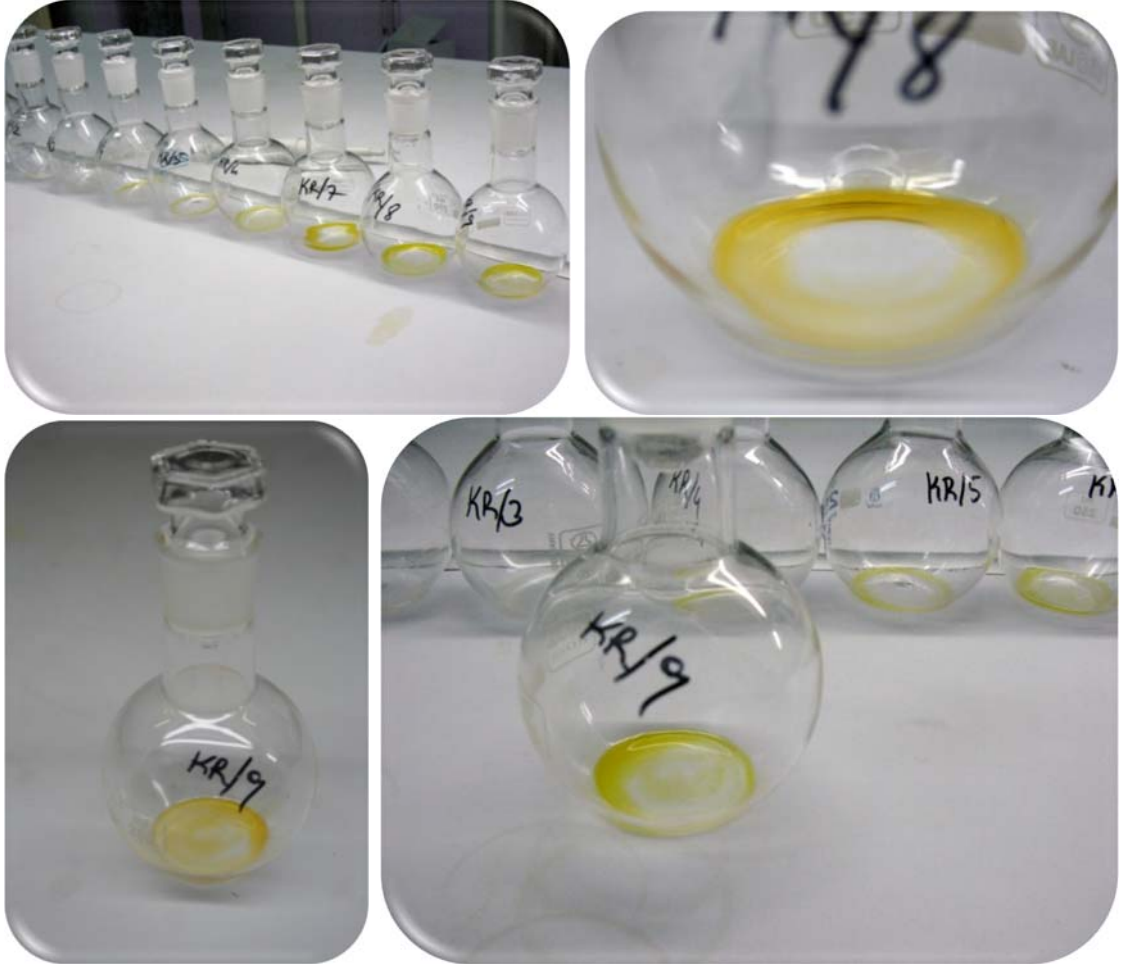


Şekil 3.9. Kurutularak tüplere alınmış kuru biyoküteller

3.11. Biyokütleden Yağ Ekstraksiyonu

Biyokütleden yağ ekstraksiyonu, Dong ve Walker'ın (2008) önerdiği metot geliştirilerek yapılmıştır. Kurutulmuş biyoküteller santrifüj tüplerine alınıp, üzerine 20 mL hekzan ilave edilmiş, homojenizer (IKA LABORTECHNIK-T25 Basic Ultra Turrax) ile 5 dakika homojenize edildikten sonra (24000 devir/dakika) sıcak su banyosunda 55°C'de 10 dakika tutulmuştur. Daha sonra 3000 rpm'de oda sıcaklığında 10 dakika santrifüj edilerek çöktürülen çöktürülmüş, süzüntü (supernatant) filtre kağıdından süzülerek (whatman no:1) ayrılmıştır. Kalan çöktürüde 10'ar mL hekzan kullanılarak 2 kere daha ekstraksiyon işlemi gerçekleştirilmiştir. Süzüntüler birleştirilip kullanılan filtre kâğıdı (whatman no:1) hekzan ile iyice yıkanarak filtre

kâğıdında kalabilecek lipidlerin tamamen süzüntüye aktarılması sağlanmıştır. Daha sonra birleştirilen bütün süzüntüler, önceden iyice temizlenip kurutulmuş ve darası alınmış ağız şilifli cam balonlara aktarılmış ve süzüntülerdeki çözgen vakum altında 45°C’de evaporatörde uzaklaştırılarak lipidler elde edilmiştir. Çözgeni uzaklaştırılan cam balon içindeki lipidler sabit tartım ağırlığına gelinceye kadar 105°C’de etüvde bekletilip tartıma alınmış ve önceden kaydedilen cam balon ağırlıkları çıkarılarak lipid miktarı belirlenmiştir (Şekil 3.10).



Şekil 3.10. Ekstrakte edilen mikrobiyel yağlar

3.12. Yağ Asidi Kompozisyonu Analizi

Yağ asidi kompozisyonunun belirlenebilmesi için elde edilen lipidler önce metil esterlerine dönüştürme reaksiyonuna tabi tutulmuştur. Yağ asitlerinin metil esterlerine dönüştürülmesinde Kimura vd’nin (2004) önerdiği yöntem kullanılmıştır. Bunun için

iyice yıkanıp kurutulmuş deney tüpü içerisine yaklaşık 0.01 g ekstrakte edilen lipitten tartılmış, üzerine 2 ml %10'luk metanolik HCl (10 ml HCl, metanol ile 100 ml'ye tamamlanır) ve 1 ml metilen klorit eklenmiştir. Tüplerin ağzları (vidalı kapaklar ile) sıkıca kapatılarak 60°C sıcak su banyosunda 3 saat bekletilmiştir. Daha sonra hızlıca soğutulan tüplerin üzerine 4 ml doymuş NaCl ve 2 ml hekzan eklenerek reaksiyon sonlandırılmıştır. Tüplerin ağzları kapatılıp 2 dakika süreyle 2000 rpm de vortekslenmiş ve bir süre bekletilerek faz ayrılması sağlanmıştır. Üstte biriken yağ asidi metil esterlerini içeren hekzan fazı viallere doldurularak GC-MS'de (GCMS-QP2010S, Shimadzu, Japan) analiz edilmiştir. Kromatogram üzerinde yağ asitleri metil esterlerine ait olan piklerin tanımlanması NIST ve WILEY kütüphaneleri kullanılarak yapılmış ve ayrıca aynı analiz koşullarında GC-MS'e enjekte edilen FAME C8-C24 karışım standardı kullanılarak da doğrulanmıştır. Ayrıca yağ örneklerine esterleşme öncesi internal standard olarak C17 (margarik asit) eklenmiştir. GC-MS'de analiz koşulları aşağıdaki gibi yürütülmüştür:

Kolon	: 30m x 0.25mm x 0.25µm (TRB-5MS)
Fırın sıcaklık programı	: 150°C (2 dk), sonrasında 4°C/dk artışla 230°C'ye yükselme ve bu sıcaklıkta 3dk bekleme
Dedektör sıcaklığı (Interface)	: 250°C
Taşıyıcı gaz	: He, $V_{lineer} = 34.0\text{cm/s}$
Enjeksiyon bloğu sıcaklığı	: 250°C
Split oranı	: 25
Enjeksiyon modu	: split; Split ratio= 25
İyonlaştırıcı kaynak	: EI, uyarılma (excitation) enerjisi 70 eV
Kütle aralığı	: m/z= 40-400
Tarama hızı	: 714 kütle/s

Yağ örneklerinin yağ asidi kompozisyonu GC-MS'de elde edilen kromatogramlar üzerindeki eşdeğer piklerinin % alan dağılımı şeklinde verilmiştir.



Şekil 3.11. Vortekslenen tüplerde yağ asidi metil esterlerini içeren hekzan fazının (üst faz) ayrılması

3.13. DP-PSP’lerde Yapılan Analizler

Araştırmada substrat kaynağı olarak kullanılan DP-PSP’lerin bazı fiziksel ve kimyasal özellikler belirlenmiştir.

3.13.1. Kurumadde miktarı

DP-PSP’lerin kurumadde miktarı AOAC Official Method 990.20’de verilen gravimetrik yöntemle belirlenmiştir (Anonymous 2000).

3.13.2. Süt yağı miktarı

DP-PSP’lerin süt yağı miktarı Gerber yöntemi ile tespit edilmiştir (Marshall 1992).

3.13.3. Azotlu madde miktarı

DP-PSP’lerin azot miktarı AOAC Official Method 991.20’de verilen Kjeldahl yöntemine göre belirlenmiştir (Anonymous 2000).

3.13.4. Laktoz miktarı

DP-PSP'lerdeki laktoz miktarı, HPLC ile bölüm 3.14'te açıklandığı şekilde yapılmıştır.

3.13.5. Mineral maddeler

DP-PSP'lerde mineral madde içeriği, yaş yakma yöntemi ile yakılan örneklerin atomik absorpsiyon spektrofotometresinde uygun lambda ve dalga boylarında absorpsiyonunun okunması ile belirlenmiştir (Kacar 1972, Kacar ve Kovancı 1982).

3.13.6. Kül miktarı

DP-PSP'lerde kül miktarının belirlenmesi gravimetrik olarak AOAC Official Method 945.46'ya göre yapılmıştır (Anonymous 2000).

3.14. Fermentasyon Süresince DP-PSP'lerde ve Kontrol Besi Ortamlarında Yapılan Analizler

Fermentasyon süresince günde bir periyodik olarak alınan örneklerden hücrelerin ayrılmasıyla geriye kalan kullanılmış besi ortamlarında laktoz, glikoz ve galaktoz miktarları HPLC cihazında gerçekleştirilmiştir.

1 ml örnek alınıp balon joje içerisine aktarılmış ve saf su ile 20°C'de 100 ml'ye tamamlanmıştır. İyice çalkalanan balondan yeterli miktarda şırınga ile çekilen seyreltilmiş örnek 0.45 µm ayırma sınırındaki membran filtreden süzülükten sonra viallere doldulup HPLC cihazına (SHIMADZU, LC 20A Serisi) analiz edilmek üzere verilmiştir. Standart şeker çözeltileri (SIGMA-CAR 10 Carbohydrates Kit) hazırlanıp elde edilen piklerden örneklerdeki şeker düzeyleri belirlenmiştir. HPLC'de analiz koşulları aşağıdaki gibi yürütülmüştür:

Hareketli faz : Milli-Q su, 0.6 mL/dakika

Analitik ve koruyucu kolon	: Nucleogel 87P (300x7.8 mm ID, 20x4.0 mm ID)
Enjeksiyon hacmi	: 20 µL (örneklerdeki şeker düzeylerine göre 40, 80 ve 120 µL olarak değiştirilmiştir)
Kolon fırını sıcaklığı	: 85°C
Dedektör	: RID
Hücre sıcaklığı	: 60°C

3.15. Üretilen Mikrobiyel Yağlarda Yapılan Analizler

Fermentasyon sonunda elde edilen en son ürün olan mikrobiyel yağ örneklerinde aşağıda belirtilen analizler yapılmıştır

3.15.1. Öz ağırlık değerlerinin belirlenmesi

20°C’de mikropipetle belirli hacimde alınan örneklerin hassas terazide tartılıp elde edilen ağırlık değerlerinin hacim değerlerine bölünmesiyle bulunmuştur.

3.15.2. Kırılma indisi

Yağ örneklerinin kırılma indisi 20°C’de (20°C’de sıvı halde bulunan yağlarda bu sıcaklıkta, daha üzeri sıcaklık değerlerinde sıvı halde bulunan yağlar için ise erime derecesine göre 40, 60 ve 80°C’lerde tayin edilebilir. Bu sıcaklık derecelerinden biri belirlendikten sonra, azami 2°C tolerans dâhilinde bulunan t₁ sıcaklığında değerler okunabilir. Ancak bu takdirde deney sonuçlarının aşağıda verilen denklemlere göre düzeltilmesi gerekir) Abbe refraktometresi (ATAGO Model: NAR-1T, Japonya) kullanılarak belirlenmiştir. Önceden 20°C’de saf su kullanılarak kalibre edilmiş olan refraktometreye bağlı termostatlı su banyosu çalıştırılarak sıcaklığı ayarlanmıştır. Refraktometrenin iki prizması arasına örnek konmuş ve sıcaklığın en az 5 dakika değişmemesi sağlanmıştır. Sonra kırılma indisi virgülden sonra dördüncü haneye kadar okunarak kaydı alınmıştır. Okumanın yapıldığı sıcaklığın, standart sıcaklıktan değişik olması durumunda aşağıdaki denklemlere göre düzeltmeler yapılmıştır.

$$n^t = n^{t_1} + (t_1 - t) \cdot F \quad (I)$$

$$n^t = n^{t_1} + (t - t_1) \cdot F \quad (II)$$

Eğer t_1 değeri t 'den büyük ise (I) numaralı formül, aksi halde (II) numaralı formül düzeltmede kullanılmıştır. Bu formüllerdeki;

t =Standart sıcaklık (20°C),

t_1 =Okumanın yapıldığı sıcaklık (°C),

n^t =Standart sıcaklıktaki kırılma indisi,

n^{t_1} =Okunan kırılma indisini ifade etmektedir,

F = 20°C için 0.00035, 40°C için ise 0.00036 olarak alınmıştır (Nas vd 2001).

3.15.3. Sabunlaşma sayısı

Yaklaşık 2 g yağ örneği 250-300 ml'lik balon içerisine 0.001 g duyarlılıkta tartılıp üzerine 25 ml 0.5 N etanolü KOH konulmuştur. Balon geri soğutucuya bağlanıp zaman zaman karıştırılarak yavaş bir şekilde 60 dakika süreyle kaynatılmıştır. Bu süre sonunda, geri soğutucunun üstünden bir pipet yardımıyla geri soğutucunun içi balona doğru yıkanmıştır. 4-5 damla fenolftalein (%1'lik olarak %96'luk alkolde hazırlanmış) ilave edilip, 0.5 N HCl çözeltisi ile renksiz nokta yakalanıncaya kadar titre edilmiştir. Aynı işlemler, bir de şahit deneme için de gerçekleştirilmiştir. Hesaplama sonucunda, sabunlaşma sayısı belirlenmiştir. Hesaplama aşağıdaki formül kullanılarak yapılmıştır (Nas vd 2001).

$$\text{Sabunlaşma Sayısı} = (V_2 - V_1) \cdot 28.05/m \text{ (mg KOH/g yağ)}$$

V_1 =Örnek için harcanan 0.5 N HCl çözeltisi (ml)

V_2 =Şahit için harcanan 0.5 N HCl çözeltisi (ml)

m =Alınan örnek miktarı (g).

3.15.4. Serbest yağ asitleri miktarı

5 g yağ örneği 0.01 g duyarlılıkla erlenmayer içine tartılıp üzerine 50 ml etil alkol-dietil eter karışımı (hacimsel olarak 1'e 1 oranında karıştırılmış, her ikisi de karıştırılmadan önce fenolftalein varlığında nötrlenmiş) eklenmiştir. Birkaç damla fenolftalein (%1'lik olarak %96'lık alkolde hazırlanmış) ilave edilip, 0.1 N etanollü KOH ile renk hafif pembe oluncaya kadar titre edilmiştir (15 saniye renk değişmeden). Harcanan 0.1 N KOH miktarı ml cinsinden kaydedilip aşağıdaki denklemde yerine konularak %asitlik, oleik asit cinsinden bulunmuştur (Nas vd 2001).

$$\text{Serbest Yağ asitleri} = V \cdot 2.8 / m \text{ (\% oleik asit olarak)}$$

$$V = \text{Harcanan 0.1 N etanollü KOH çözeltisi (ml)}$$

$$m = \text{Yağ miktarı (g)}$$

3.15.5. Peroksit sayısı

Beklenen peroksit sayısına göre (yöntemde verilen cetvele göre) belirli miktar örnek 0.001 g duyarlılıkla erlenmayer içerisine tartılıp, üzerine 10 ml kloroform ilave edilerek hızla çalkalamak suretiyle yağ çözüldürülmüştür. Sıra ile 15 ml asetik asit (glasiyel) ve 1 ml potasyum iyodür (doygun) ilave edilerek ağzı kapatılmış ve 1 dakika süre ile çalkalanmıştır. 5-10 dakika karanlık bir ortamda bekletilip süre sonunda 75 ml saf su, 1 ml nişasta çözeltisi (%1'lik) ilave edilmiştir. Yağ örneğinin beklenen peroksit sayısı 12.5'den az ise 0.002 N, 12.5 veya daha yüksek ise 0.01 N sodyum tiyosülfat çözeltisi ile titre edilmiştir. Örnek konmaksızın yapılan şahit deney sonucunda, serbest iyot eseri bulunmamalıdır. Hesaplama aşağıdaki formüllerle yapılır.

$$\text{Peroksit Sayısı} = V \cdot 2.8 / m \text{ (meqg O}_2\text{/kg yağ)} \quad (\text{I})$$

$$\text{Peroksit Sayısı} = V \cdot 10 / m \text{ (meqg O}_2\text{/kg yağ)} \quad (\text{II})$$

$$V = \text{Harcanan sodyum tiyosülfat miktarı (ml)}$$

$$m = \text{Örnek miktarı (g)}$$

(I) Numaralı eşitlik 0.002 N, (II) numaralı eşitlik 0.01 N sodyum tiyosülfat kullanılması durumunda geçerlidir (Nas vd 2001).

3.15.6. İyot sayısı

Beklenen iyot sayısına göre (yöntemde verilen cetvele göre) uygun miktarda örnek erlenmayer içerisine 0.001 g duyarlılıkla tartılıp yağın çözünmesi için 15 ml karbontetraklorür konulup ve iyice çalkalanmıştır. Üzerine Wijs çözeltisi ilave edilip erlenmayerin cam kapağı kapatılarak yavaşça çalkalanmıştır. Daha sonra 1 saat (Eğer iyot sayısı 150'nin altında ise 1 saat, iyot sayısı 150'nin üzerinde ve polimerize veya okside yağlarda ise 2 saat) karanlık bir ortamda bekletilmiştir. Bu süre sonunda 20 ml potasyum iyodür çözeltisi (%10'luk) ve 150 ml saf su konulmuştur. 1 ml nişasta çözeltisi (%1'lik taze hazırlanmış) ilave edilerek 0.1 N sodyum tiyosülfat çözeltisi ile titre edilmiştir. Titrasyon işelmine sıvı, renksiz hale gelinceye kadar devam edilmiştir. Aynı işlemler bir de şahit deneme için gerçekleştirilmiştir. Hesaplama aşağıdaki formüle göre yapılmıştır (Nas vd 2001).

$$\text{İyot Sayısı}=(V_2-V_1) \cdot 1.269/m$$

V_2 =Şahit için harcanan 0.1 N sodyum tiyosülfat çözeltisi (ml)

V_1 =Örnek için harcanan 0.1 N sodyum tiyosülfat çözeltisi (ml)

m =Örnek ağırlığı (g)

3.16. Kinetik Parametrelerin Belirlenmesi

Mikroorganizmaların gelişme kurvelerinden yararlanılarak kinetik parametreler hesaplanmıştır. Erlenlerden alınan örneklerde şeker, biyokütle, yağ miktarları belirlendikten sonra elde edilen veriler doğrultusunda;

- Şeker tüketimi (g/L)
- Yağ üretimi (g/L)
- Verim (%)

- Maksimum tüketim oranı (g/L/gün)
- Maksimum üretim oranı (g/L/gün)
- Spesifik gelişim oranı (1/gün)
- Canlı hücrelerin iki katına çıkma süresi (Doubling time) (gün) belirlenmiştir.

Statik bir kültürde belli bir miktarda substrat (S) kullanılarak inokülasyon ile besiyerine dahil olan X_0 hücre kütlesi gelişmenin sonunda (durma fazında) en yüksek değer olan X_{max} hücre kütlesine, bununda yanında başlangıçtaki substrat miktarı en düşük değere ve mikroorganizma faaliyeti ile üretilen ürün (product) en yüksek seviyeye ulaşmaktadır. Bunun sonucunda,

Gelişmenin sonunda popülasyonun artan kütlesi;

$x = x_{max} - x_0$ olup gram kuru ağırlık olarak ifade edilmiştir.

Şeker tüketimi, gelişmenin sonunda;

$S = S_1 - S_0$ olup g/L olarak ifade edilmiştir.

Ürün miktarı, gelişmenin sonunda;

$P = P_1 - P_0$ olup g/L olarak hesaplanmıştır.

Bunun yanında mikroorganizma kütle verimi ve ürün verimi;

Verim ($Y_{P/S}$) (%) = [Yağ miktarı (g/L) / Toplam şeker tüketimi (g/L)]*100

Verim ($Y_{X/S}$) (%) = [Biyokütle miktarı (g/L) / Toplam şeker tüketimi (g/L)]*100
eşitliklerinden faydalanılarak saptanmıştır.

Ayrıca maksimum üretim, maksimum tüketim, spesifik gelişme ve gelişme oranı da;

Gelişme oranı (g/L/gün) = Biyokütle kurvesinin en dik kısmının eğimi,

Üretme oranı (g/L/gün) = Yağ kurvesinin en dik kısmının eğimi,

Tüketme oranı (g/L/gün) = Şeker kurvesinin en dik kısmının eğimi,

Spesifik gelişme oranı (gün⁻¹) = ln x'e karşı zaman grafiğinin eğimi
kullanılarak hesaplanmıştır.

Bir mikroorganizma popülasyonda sabit zaman aralıklarıyla bölünür veya sabit bir bölünme hızıyla çoğalır. Mikroorganizma kütesinin (x) gelişme hızı da gelişme katsayısına (μ) bağlı olarak artar. Gelişme kinetiği çalışmalarında mikroorganizma kütesi denilince hücre sayısı ile absorbe edilen besinlerle sağlanan hücre materyali toplamı anlaşılır. x büyüklüğündeki değişim hızı, x'in her anındaki büyüklüğü ile orantılıdır.

$$\frac{dx}{dt} = \mu x$$

μ : gelişme hızı katsayısı

x : hücre kütesi olarak ifade edilmektedir.

Burada;

$$x = x_0 e^{\mu t}, \text{ yani } x \text{'in iki katına ulaşması için,}$$

$$2x_0 = x_0 e^{\mu t_d} \text{ olur, eşitlik sadeleştirildiğinde;}$$

$$2 = e^{\mu t_d}$$

$$\ln 2 = \mu t_d \text{ elde edilmektedir.}$$

Buradan kütenin **iki katına çıkma süresi (t_d)** hesaplanmıştır.

Buradan kütlenin **iki katına çıkma süresi (t_d)** hesaplanmıştır.

Besiyeri ortamındaki mikroorganizma miktarına ait değerlerin (X) doğal logaritması alındıktan sonra zamana karşı grafik oluşturulduğunda elde edilen denklemin eğimi mikroorganizmanın spesifik gelişme hızının hesaplanmasını sağlamaktadır (Shuler ve Kargi 2008).

3.17. İstatistiksel Analizler

Deneme “faktöriyel düzende üç faktörlü (laktoz oranı x laktaz enzimi uygulaması x mikroorganizma çeşidi) tesadüf parselleri deneme planı”na göre kurulmuştur. Bütün örneklerde analizler iki paralelli yapılmı ve denemeler üç tekerrürlü yürütülmüştür. Denemede elde edilen sonuçlara varyans analizi uygulanmış, farklı çıkan uygulamalar Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi ile karşılaştırılmışlardır (Düzgüneş vd 1987).

4. BULGULAR ve TARTIŞMA

4.1. DP-PSP'lerin Kompozisyonu

Tez çalışmasında substrat kaynağı olarak kullanılan DP-PSP'lerin kompozisyonu Çizelge 4.1'de verilmiştir. Laktaz enzimi uygulaması yapılmış DP-PSP'ler de şeker bileşimleri hariç aynı kompozisyona sahiptir.

Çizelge 4.1. Çalışmada kullanılan DP-PSP'lerin kompozisyonu

	%4.5 laktoz içeren	%8 laktoz içeren	%12 laktoz içeren	%16 laktoz içeren
Kurumadde (%)	5.59	9.80	14.70	19.47
Kül (%)	0.46	0.82	1.22	1.63
Yağ (%)	0	0	0	0
Azot (mg/100ml)	42.00	74.54	112.33	149.74
Ca (mg/100ml)	25.59	45.25	67.96	90.42
Na (mg/100ml)	35.18	62.65	94.38	125.18
K (mg/100ml)	109.17	193.33	290.78	386.89
Mg (mg/100ml)	8.52	15.23	22.65	30.68
P (mg/100ml)	42.62	75.32	113.94	151.33

4.2. *Mortierella isabellina* Küf Kültürü Kullanılarak Gerçekleştirilen Fermentasyonlarda Biyokütle ve Yağ Üretimi

Mikrobiyel yağ üretimi amacıyla *Mortierella isabellina* küfü ile gerçekleştirilen fermentasyonlarda substrat kaynağı olarak kullanılan DP-PSP'lerin farklı kurumadde içeriğinin (%4.5, %8, %12 ve %16 başlangıç laktoz düzeylerinin) ve laktaz enzimi uygulamasının fermentasyon süresince üretilen biyokütle miktarı ve yağ miktarı ile DP-PSP'lerde kalan laktoz, glikoz ve galaktoz miktarları üzerine etkileri belirlenmiştir. Ayrıca *Mortierella isabellina* küfü ile kontrol besi ortamında da gerçekleştirilen üretimde, fermentasyon süresince üretilen biyokütle miktarı ve yağ miktarı ile kontrol besi ortamında kalan glikoz miktarı belirlenmiştir.

4.2.1. Laktoz içeriği %4.5 olan DP-PSP'nin fermentasyonu süresince üretilen biyokütle ve yağ miktarları ile DP-PSP'de kalan laktoz miktarı

Laktoz içeriği %4.5 olan DP-PSP kullanılarak *Mortierella isabellina* ile gerçekleştirilen üretimde fermentasyon süresinin üretilen biyokütle ve yağ miktarları ile DP-PSP'de kalan laktoz miktarı ortalamalarına ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları Çizelge 4.2'de verilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, biyokütle miktarı fermentasyon işleminin 9. gününde en yüksek düzeye (10.45 g/kg), fermentasyon sonucunda elde edilen yağ da yine 9. günde en yüksek seviyeye (4.16 g/kg) ulaşmıştır. Fermentasyon işlemi sonucunda DP-PSP'de bir miktar laktoz (% 1.07) küf hücreleri tarafından tüketilmeden kalmıştır. Bunun da küfün üreme eğrisinde durağan faza girmiş olmasından kaynaklandığı düşünölmektedir. Başlangıçta %4.5 olan laktoz oranı fermentasyon sonunda %1.07'ye düşmüş olup fermentasyon boyunca %3.43 oranında laktoz tüketilmiştir. Bu da toplam laktozun yaklaşık %76'sına denk gelmektedir. Bir başka deyişle fermentasyon sonunda laktozun yaklaşık %24'lük kısmı tüketilmeden DP-PSP'de kalmıştır. Fermentasyon süresince kuru biyokütlerde yağ oranı artış göstermiş; fakat 6, 7, 8 ve 9. günlerde birbirine yakın değerler verirken en yüksek düzeye 8. günde (%39.28) ulaşmıştır. Biyokütleye karşı üretilen yağ 9. günde daha düşük bulunmuştur.

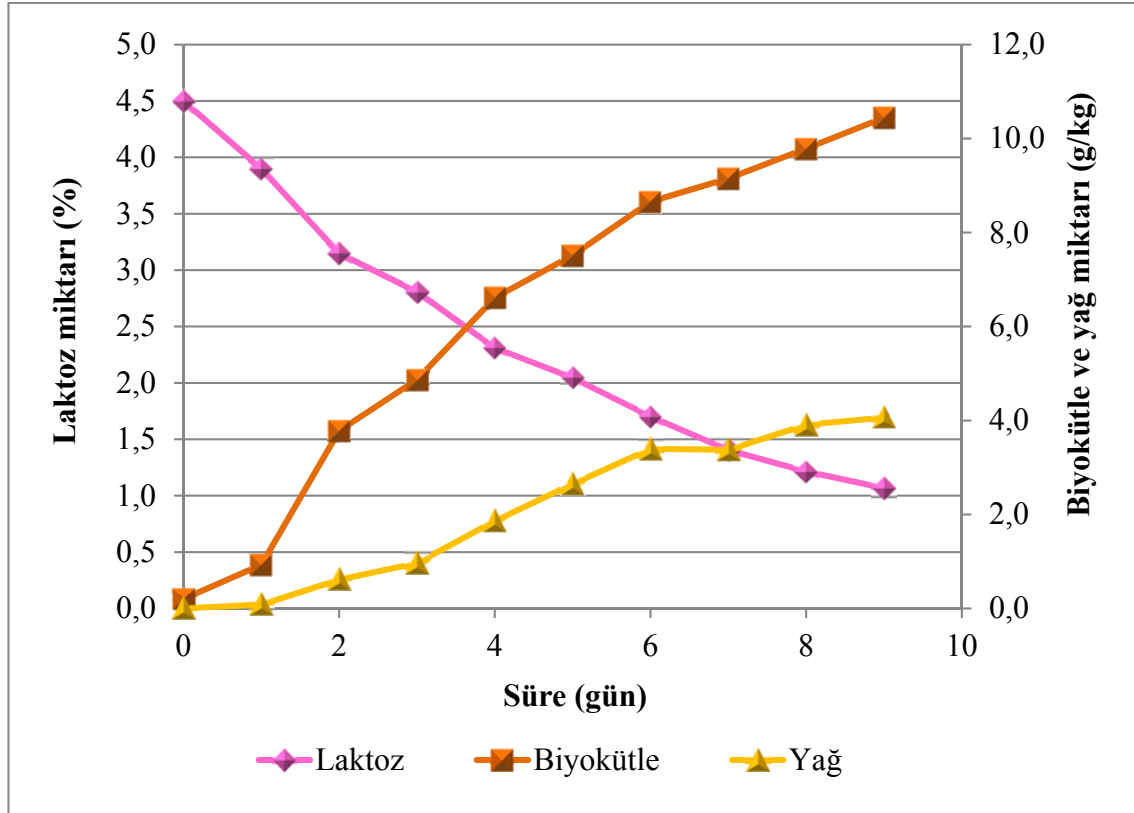
%4.5 oranında laktoz içeren DP-PSP'nin fermentasyonu süresince, DP-PSP'de kalan ortalama laktoz miktarının azaldığı ve %4.50 ile %1.07 arasında değiştığı tespit edilmiştir. Ancak laktoz miktarındaki bu azalmanın fermentasyonun 2. ile 3., 6. ile 7., 7. ile 8. ve 8. ile 9. günleri arasında önemli olmadığı ($P>0.05$) belirlenmiştir. %4.5 oranında laktoz içeren DP-PSP'nin fermentasyonu süresince oluşan ortalama biyokütle miktarının arttığı ve 0.21-10.45 g/kg arasında değiştığı saptanmıştır. Oluşan biyokütle miktarındaki artışın fermentasyonun sadece 1. ile 2. ve 5. ile 6. günleri arasında önemli düzeyde olduğu ($P<0.05$) tespit edilmiştir. %4.5 oranında laktoz içeren DP-PSP'nin fermentasyonu süresince oluşan ortalama yağ miktarı 0.00-4.16 g/kg arasında değişmiştir. Fermentasyon işlemi süresince oluşan yağ miktarının arttığı; ancak bu artışın fermentasyonun 0. ile 1., 2. ile 3. ve 6. ile 7. günleri arasında önemli olmadığı ($P>0.05$) bulunmuştur.

Çizelge 4.2. Laktoz içeriği %4.5 olan DP-PSP’de *Mortierella isabellina* ile gerçekleştirilen fermentasyonda üretilen ortalama biyokütle ve yağ miktarları ile DP-PSP’de kalan laktoz değerleri (X±SD) ve bu değerlere ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları

Süre (gün)	Laktoz (%)	Biyokütle (g/kg)	Yağ (g/kg)
0	4.50 ^a ±0.00	0.21 ^g ±0.07	0.00 ^g ±0.00
1	3.90 ^b ±0.07	0.93 ^g ±0.55	0.08 ^g ±0.04
2	3.15 ^c ±0.48	3.78 ^f ±1.83	0.61 ^f ±0.37
3	2.81 ^c ±0.46	4.87 ^{ef} ±1.88	0.97 ^f ±0.46
4	2.31 ^d ±0.65	6.62 ^{ed} ±2.42	1.86 ^e ±0.84
5	2.05 ^e ±0.56	7.52 ^d ±1.92	2.65 ^d ±0.72
6	1.70 ^f ±0.71	8.66 ^c ±2.33	3.40 ^c ±1.10
7	1.41 ^{fg} ±0.62	9.15 ^{bc} ±2.68	3.38 ^c ±1.15
8	1.22 ^{gh} ±0.57	9.79 ^{ba} ±2.87	3.91 ^b ±1.35
9	1.07 ^h ±0.55	10.45 ^a ±2.85	4.16 ^a ±1.16

Aynı sütunda farklı harfleri taşıyan değerler arasındaki fark önemlidir ($P<0.05$)
X±SD: ortalama±standart sapma

Şekil 4.1’de %4.5 laktozlu DP-PSP’de *Mortierella isabellina* ile gerçekleştirilen fermentasyon sonucunda fermentasyon süresine bağlı olarak biyokütle ve yağ miktarları ile laktoz oranlarındaki değişim görülmektedir. Şekil incelendiğinde fermentasyon süresince biyokütle gelişimi ve yağ oluşumuna ait değerlerin paralellik arzettiği görülmektedir. Bu paralellik mikroorganizmanın, gelişimini sürdürürken bir yandan da yağ üretimini gerçekleştirdiğini ortaya koymaktadır. Örneklerde fermentasyonun ilk gününden itibaren yağ oluşumunun meydana geldiği görülmektedir. Fermentasyonun 6. gününe kadar geçen sürede kuru biyokütlerde yağ oranının artış düzeyinin fermentasyonun sonraki dönemlerindeki artış düzeyine göre yüksek olduğu belirlenmiştir. Bunun, küf hücrelerinin toplam 10 günlük fermentasyon işleminin sonlarına doğru durağan faza girmeye başlamış olmasından kaynaklanabileceği değerlendirilmektedir. Ayrıca şekildeki laktoz tüketimine ait değerler incelendiğinde laktozun biyokütle ve yağ oluşumuna karşı hızlı bir şekilde tüketildiği görülmektedir.



Şekil 4.1. Laktoz içeriği %4.5 olan DP-PSP’de *Mortierella isabellina* ile gerçekleştirilen fermentasyon süresince üretilen biyokütle ve yağ miktarları ile DP-PSP’de kalan laktoz miktarındaki değişim

4.2.2. Laktoz içeriği %4.5 olan laktaz enzimi uygulanmış DP-PSP’nin fermentasyonu süresince üretilen biyokütle ve yağ miktarları ile DP-PSP’de kalan laktoz, glikoz ve galaktoz miktarları

Laktoz içeriği %4.5 olan laktaz enzimi uygulanmış DP-PSP kullanılarak *Mortierella isabellina* ile gerçekleştirilen üretimde fermentasyon süresinin üretilen ortalama biyokütle ve yağ miktarları ile DP-PSP’de kalan laktoz, glikoz ve galaktoz miktarlarına ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları Çizelge 4.3’de verilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, biyokütle miktarının fermentasyon işleminin 7. gününde en yüksek düzeye (14.97 g/kg) ulaştığı; fermentasyon süresince elde edilen yağ miktarının ise 6. günde en yüksek seviyede (9.39 g/kg) olduğu belirlenmiştir. Fermentasyon işlemi sonucunda DP-PSP’de bir miktar laktoz (%0.68) ve galaktoz (%0.17) kullanılmadan kalırken, glikoz ise 5. günde küf hücreleri tarafından tamamen tüketilmiştir. Laktoz ve galaktozun kullanılmadan kalmasının küfün gelişme eğrisinde durağan faza girmiş

olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Küf hücrelerinin gelişme eğrisinde durağan faza girmeden önce glikozu tamamen tükettiği, laktoz ve galaktozu ise tamamen tüketemediği için bu şekerlerin ortamda kullanılmadan kalmış olduğu değerlendirilmektedir. Başlangıçta %0.99 olan laktoz oranı fermentasyon sonunda %0.68'e düşmüş olup, fermentasyon boyunca küf hücreleri tarafından toplam %0.31 oranında laktoz tüketilmiştir. Bu da toplam laktozun yaklaşık %31'ine denk gelmektedir. Farklı bir ifade ile fermentasyon sonunda laktozun yaklaşık %69'luk kısmı tüketilmeden DP-PSP'de kalmıştır. Başlangıçta %1.99 olan glikozun ise fermentasyon işlemi sonucunda tamamen tüketildiği tespit edilmiştir. Başlangıçta %1.85 olan galaktoz oranı fermentasyon sonunda %0.17'ye düşmüş olup, fermentasyon boyunca küf hücreleri tarafından toplam %1.68 oranında galaktoz tüketilmiştir. Bunun da toplam galaktozun yaklaşık %91'ini oluşturduğu, fermentasyon sonunda galaktozun yaklaşık %9.2'lik kısmının tüketilmeden DP-PSP'de kaldığı belirlenmiştir. Her üç şekerin de bulunduğu DP-PSP ortamında şeker tüketim tercihi ele alındığında, ilk sırada glikoz, sonra galaktoz en son olarak da laktozun geldiği görülmektedir. Fermentasyon süresince kuru biyokütlede yağ oranı artış göstermiş ve fermentasyonun 6. gününde en yüksek düzeye (%64.36) ulaşmış olmakla birlikte, 7, 8 ve 9. günlerde giderek azalmıştır.

%4.5 oranında laktoz içeren laktaz enzimi uygulanmış DP-PSP'nin fermentasyonu sonucunda, DP-PSP'de kalan ortalama laktoz miktarının %0.99 ile %0.68 arasında değiştiği ve fermentasyon süresince azaldığı belirlenmiştir. Ayrıca laktoz miktarındaki bu azalmanın fermentasyonun 7. ile 8. ve 8. ile 9. günleri arasında önemli düzeyde olduğu ($P<0.05$) tespit edilmiştir. DP-PSP'de kalan ortalama glikoz miktarının %1.99 ile %0.00 arasında değiştiği, fermentasyon süresince azaldığı ve fermentasyonun 5. gününde tamamen tükendiği belirlenmiştir. Glikoz miktarındaki azalmanın fermentasyonun yalnızca 0. ile 1. günlerinde önemli düzeyde olmadığı ($P>0.05$) saptanmıştır. DP-PSP'de kalan ortalama galaktoz miktarlarına bakıldığında, fermentasyon süresince %1.85 ile % 0.17 arasında değiştiği ve giderek azaldığı tespit edilmiştir. Ayrıca bu azalmanın fermentasyonun 4. ile 5. ve 5. ile 6. günleri arasında önemli düzeyde olduğu ($P<0.05$) belirlenmiştir. %4.5 oranında laktoz içeren laktaz enzimi uygulanmış DP-PSP'nin fermentasyonu sonucunda oluşan ortalama biyokütle miktarının 0.14-14.79 g/kg arasında değiştiği ve fermentasyonun 7. gününe kadar

arttığı; ancak bu artışın fermentasyonun 0. ile 1. günlerinde önemli düzeyde olmadığı ($P>0.05$) tespit edilmiştir. Biyokütle miktarında fermentasyonun 8. gününde azalma olduğu 9. gününde tekrar artış gösterdiği; ancak fermentasyonun 8. ile 9. günleri arasındaki farkın da önemli düzeyde olmadığı ($P>0.05$) belirlenmiştir. %4.5 oranında laktoz içeren laktaz enzimi uygulanmış DP-PSP'nin fermentasyonu sonucunda oluşan ortalama yağ miktarı 0.00-7.57 g/kg arasında değişmiştir. Oluşan yağ miktarının fermentasyon işleminin 6. gününe kadar artış gösterdiği ancak daha sonra giderek azaldığı saptanmıştır. Bununla birlikte söz konusu azalmanın fermentasyonun 7. ile 8. günleri arasında önemli düzeyde olmadığı ($P>0.05$) bulunmuştur.

Çizelge 4.3. Laktoz içeriği %4.5 olan laktaz enzimi uygulanmış DP-PSP'de *Mortierella isabellina* ile gerçekleştirilen fermentasyonda üretilen ortalama biyokütle ve yağ miktarları ile DP-PSP'de kalan laktoz, glikoz ve galaktoz değerleri ($X\pm SD$) ve bu değerlere ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları

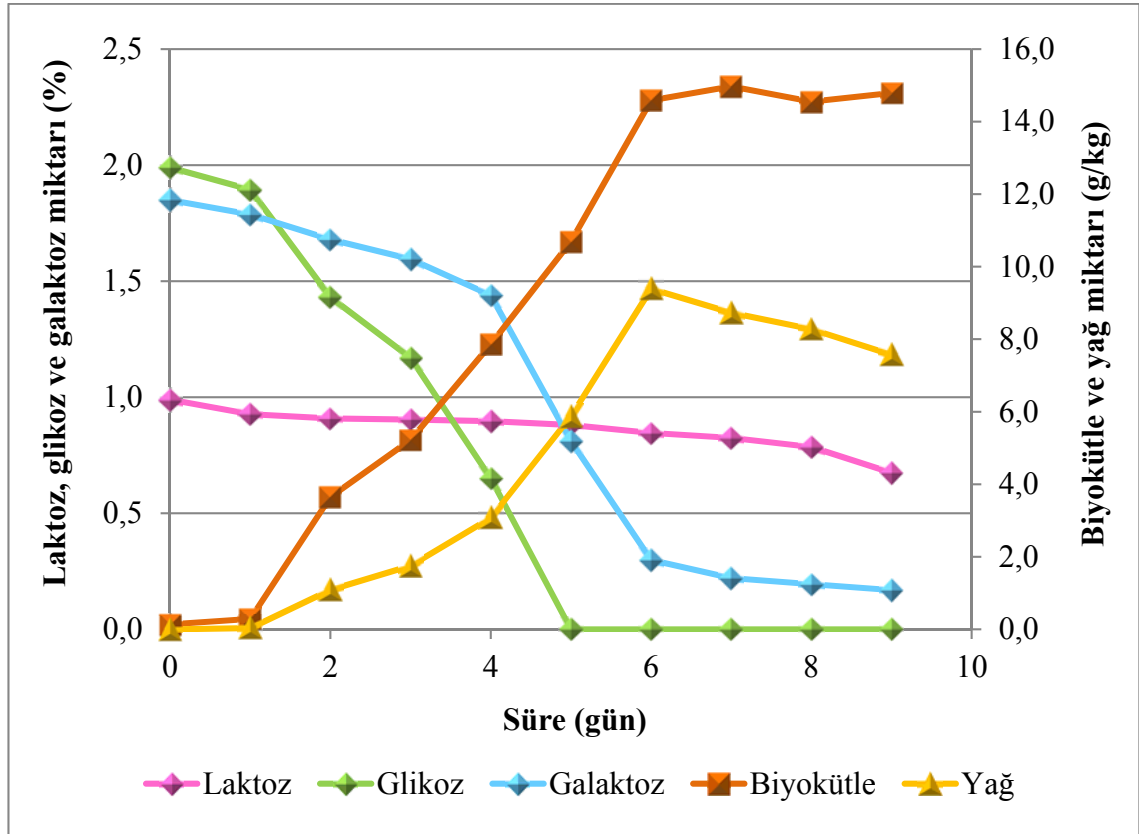
Süre (gün)	Laktoz (%)	Glikoz (%)	Galaktoz (%)	Biyokütle (g/kg)	Yağ (g/kg)
0	0.99 ^a ±0.01	1.99 ^a ±0.02	1.85 ^a ±0.01	0.14 ^e ±0.01	0.00±0.00
1	0.93 ^a ±0.03	1.90 ^a ±0.01	1.79 ^{ab} ±0.01	0.29 ^e ±0.06	0.03 ^b ±0.00
2	0.91 ^{ab} ±0.03	1.43 ^b ±0.10	1.68 ^b ±0.02	3.65 ^f ±0.22	1.09 ^e ±0.13
3	0.90 ^{ab} ±0.02	1.17 ^c ±0.05	1.60 ^{bc} ±0.06	5.23 ^e ±0.37	1.76 ^f ±0.31
4	0.90 ^b ±0.02	0.65 ^d ±0.08	1.44 ^c ±0.11	7.86 ^d ±0.58	3.07 ^e ±0.32
5	0.88 ^b ±0.01	0.00 ^e ±0.00	0.81 ^d ±0.06	10.69 ^c ±0.24	5.88 ^d ±0.08
6	0.85 ^b ±0.03	0.00 ^e ±0.00	0.30 ^e ±0.08	14.59 ^b ±0.16	9.39 ^a ±0.40
7	0.83 ^b ±0.04	0.00 ^e ±0.00	0.22 ^e ±0.02	14.97 ^a ±0.05	8.73 ^b ±0.25
8	0.79 ^c ±0.04	0.00 ^e ±0.00	0.20 ^{ef} ±0.03	14.55 ^b ±0.70	8.29 ^b ±0.37
9	0.68 ^d ±0.11	0.00 ^e ±0.00	0.17 ^f ±0.02	14.79 ^{ab} ±0.65	7.57 ^c ±0.390

Aynı sütunda farklı harfleri taşıyan değerler arasındaki fark önemlidir ($P<0.05$)

$X\pm SD$: ortalama±standart sapma

Şekil 4.2'de %4.5 laktozlu laktaz enzimi uygulanmış DP-PSP'de *Mortierella isabellina* ile gerçekleştirilen fermentasyon sonucunda fermentasyon süresine bağlı olarak biyokütle ve yağ miktarları ile laktoz, glikoz ve galaktoz oranlarındaki değişim görülmektedir. Şekil incelendiğinde fermentasyon süresince biyokütle gelişimi ve yağ oluşumuna ait değerlerin paralellik gösterdiği anlaşılmaktadır. Bu durum mikroorganizmanın, gelişimini sürdürürken bir yandan da yağ üretimini

gerçekleştirdiğini ortaya koymaktadır. Örneklerde fermentasyonun ilk gününden itibaren yağ oluşumunun meydana geldiği görülmektedir. Fermentasyonun 6. gününde yağ miktarının en yüksek düzeye eriştiği görülmektedir. Fakat daha sonra yağ miktarı azalma göstermektedir. Aynı şekilde kuru biyokütlede yağ miktarına ait değerlerde de benzer sonuç mevcuttur. Şekil incelendiğinde küf hücrelerinin gelişme eğrisinde 6. günde durağan faza girdiği, glikozun durağan faza girmeden önceki gün tükendiği ve durağan faza giren hücrelerin ortamda karbon kaynağı olarak galaktoz ve laktoz olmasına rağmen rezerve lipitlerini tüketmeye başladığı görülmektedir. Yine de durağan faza girilmeden önceki döneme bakıldığında şeker tüketiminde birinci sırada glikozu, daha sonra galaktozu ve en son olarak laktozu tercih ettiği görülmektedir.



Şekil 4.2. Laktoz içeriği %4.5 olan laktaz enzimi uygulanmış DP-PSP'de *Mortierella isabellina* ile gerçekleştirilen fermentasyon süresince üretilen biyokütle ve yağ miktarları ile DP-PSP'de kalan laktoz, glikoz ve galaktoz miktarlarındaki değişim

4.2.3. Laktoz içeriği %8 olan DP-PSP'nin fermentasyonu süresince üretilen biyokütle ve yağ miktarları ile DP-PSP'de kalan laktoz miktarı

Laktoz içeriği %8 olan DP-PSP kullanılarak *Mortierella isabellina* ile gerçekleştirilen üretimde fermentasyon süresinin üretilen biyokütle ve yağ miktarları ile DP-PSP'de kalan laktoz miktarı ortalamalarına ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları Çizelge 4.4'de verilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, biyokütle miktarı fermentasyon işleminin 9. gününde en yüksek düzeye (9.33 g/kg), fermentasyon sonucunda elde edilen yağ ise 8. günde en yüksek seviyeye (3.31 g/kg) ulaşmıştır. Fermentasyon işlemi sonucunda laktozun bir kısmı (% 4.75) DP-PSP'de küf hücreleri tarafından tüketilmeden kalmıştır. Bunun da fermentasyon süresinin henüz tamamlanmamış olmasından, fakat aynı zamanda küfün üreme eğrisinde durağan faza girmiş olmasından da kaynaklanabileceği düşünölmektedir. Başlangıçta %8 olan laktoz oranı fermentasyon sonunda % 4.75'ye düşmüş olup fermentasyon boyunca %3.25 oranında laktoz tüketilmiştir. Bu da toplam laktozun yaklaşık %41'ine denk gelmektedir. Bir başka deyişle fermentasyon sonunda laktozun yaklaşık %59'luk kısmı tüketilmeden DP-PSP'de kalmıştır. Fermentasyon süresince kuru biyokütleye yağ oranı artış göstermiş; en yüksek düzeye 8. günde (%36.13) ulaşmıştır. Biyokütleye karşı üretilen yağ 9. günde daha düşük bulunmuştur.

%8 oranında laktoz içeren DP-PSP'nin fermentasyonu süresince, DP-PSP'de kalan ortalama laktoz miktarının azaldığı ve %8 ile %4.75 arasında değiştığı tespit edilmiştir. Laktoz miktarındaki bu azalmanın fermentasyonun 0. ile 1., 4. ile 5. ve 5. ile 6. günleri arasında önemli düzeyde olduğu ($P<0.05$) belirlenmiştir. %8 oranında laktoz içeren DP-PSP'nin fermentasyonu süresince oluşan ortalama biyokütle miktarının arttığı ve 0.23-9.33 g/kg arasında değiştığı saptanmıştır. Oluşan biyokütle miktarındaki artışın fermentasyonun sadece 8. ile 9. günleri arasında önemli düzeyde olmadığı ($P>0.05$) tespit edilmiştir. %8 oranında laktoz içeren DP-PSP'nin fermentasyonu süresince oluşan ortalama yağ miktarı 0.00-3.26 g/kg arasında değişmiştir. Fermentasyon işlemi süresince oluşan yağ miktarının arttığı; ancak bu artışın da biyokütle miktarındaki artışta olduğu gibi fermentasyonun sadece 8. ile 9. günleri arasında önemli düzeyde olmadığı ($P>0.05$) belirlenmiştir.

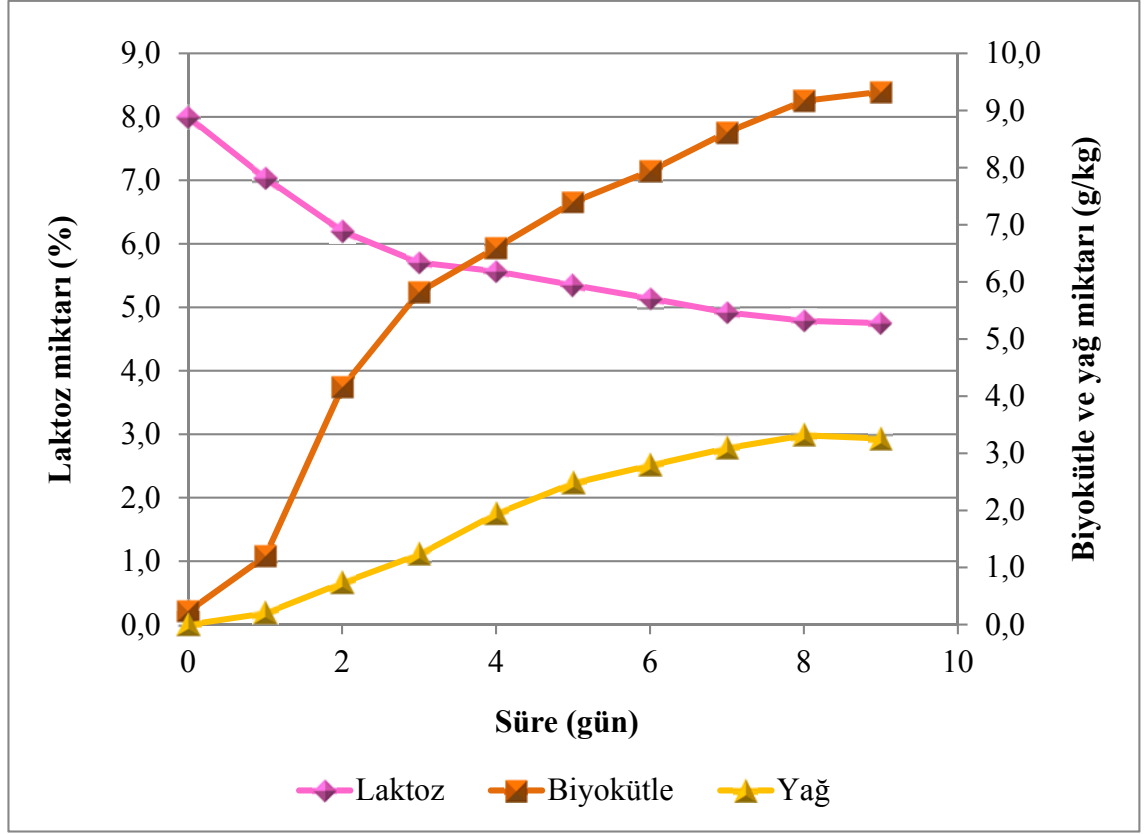
Çizelge 4.4. Laktoz içeriği %8 olan DP-PSP’de *Mortierella isabellina* ile gerçekleştirilen fermentasyonda üretilen ortalama biyokütle ve yağ miktarları ile DP-PSP’de kalan laktoz değerleri (X±SD) ve bu değerlere ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları

Süre (gün)	Laktoz (%)	Biyokütle (g/kg)	Yağ (g/kg)
0	8.00 ^a ±0.00	0.23 ^h ±0.04	0.00±0.00
1	7.04 ^b ±0.07	1.20 ^h ±0.05	0.20 ^h ±0.05
2	6.20 ^{bc} ±0.13	4.16 ^e ±0.46	0.73 ^e ±0.17
3	5.71 ^{cd} ±0.16	5.82 ^f ±0.28	1.23 ^f ±0.21
4	5.57 ^d ±0.23	6.60 ^e ±0.12	1.94 ^e ±0.04
5	5.35 ^e ±0.20	7.40 ^d ±0.14	2.48 ^d ±0.08
6	5.14 ^f ±0.07	7.94 ^c ±0.20	2.79 ^c ±0.09
7	4.92 ^{ef} ±0.01	8.62 ^b ±0.11	3.09 ^b ±0.10
8	4.79 ^e ±0.05	9.17 ^a ±0.38	3.31 ^a ±0.15
9	4.75 ^e ±0.03	9.33 ^a ±0.48	3.26 ^a ±0.05

Aynı sütunda farklı harfleri taşıyan değerler arasındaki fark önemlidir ($P<0.05$)

X±SD: ortalama±standart sapma

Şekil 4.3’de %8 laktozlu DP-PSP’de *Mortierella isabellina* ile gerçekleştirilen fermentasyon sonucunda fermentasyon süresine bağlı olarak biyokütle ve yağ miktarları ile laktoz oranlarındaki değişim görülmektedir. Şekil incelendiğinde fermentasyon süresince biyokütle gelişimi ve yağ oluşumuna ait değerlerin paralellik ortaya koyduğu görülmektedir. Bu paralellik mikroorganizmanın, gelişimini sürdürürken bir yandan da yağ üretimini gerçekleştirdiğini ortaya koymaktadır. Örneklerde fermentasyonun ilk gününden itibaren yağ oluşumunun meydana geldiği görülmektedir. Fakat 9. günde biyokütle artışı devam etmesine karşın üretilen yağ miktarında azalma görülmektedir. Fermentasyon süresince kuru biyokütlerde yağ oranının da artış gösterdiği fakat 9. günde azalma gözlenmiştir. Bunun, küf hücrelerinin toplam 9 günlük fermentasyon işleminin sonlarına doğru durağan faza girmeye başlamış olmasından kaynaklanabileceği değerlendirilmektedir. Fakat bu azalmanın sadece 9. günde olması rezerve lipidlerin tüketilmeye başladığını göstermeyeceği düşünülmektedir. Ayrıca şekildeki laktoz tüketimine ait değerler incelendiğinde laktozun biyokütle ve yağ oluşumuna karşı hızlı bir şekilde tüketildiği görülmektedir. Ancak 3. güne kadar hızlı olan tüketim yavaşlamış ve 8. ile 9. günler arasında önemsiz hale gelmiştir.



Şekil 4.3. Laktoz içeriği %8 olan DP-PSP’de *Mortierella isabellina* ile gerçekleştirilen fermentasyon süresince üretilen biyokütle ve yağ miktarları ile DP-PSP’de kalan laktoz miktarındaki değişim

4.2.4. Laktoz içeriği %8 olan laktaz enzimi uygulanmış DP-PSP’nin fermentasyonu süresince üretilen biyokütle ve yağ miktarları ile DP-PSP’de kalan laktoz, glikoz ve galaktoz miktarları

Laktoz içeriği %8 olan laktaz enzimi uygulanmış DP-PSP kullanılarak *Mortierella isabellina* ile gerçekleştirilen üretimde fermentasyon süresinin üretilen ortalama biyokütle ve yağ miktarları ile DP-PSP’de kalan laktoz, glikoz ve galaktoz miktarlarına ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları Çizelge 4.5’de verilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, biyokütle miktarının fermentasyon işleminin 9. gününde en yüksek düzeye (22.46 g/kg) ulaştığı; fermentasyon süresince elde edilen yağ miktarının ise 8. günde en yüksek seviyede (11.93 g/kg) olduğu belirlenmiştir. Fermentasyon işlemi sonucunda DP-PSP’de laktoz (%1.16) ve bir miktar galaktoz (%0.18) kullanılmadan kalırken, glikoz ise 8. günde küf hücreleri tarafından tamamen

tüketilmiştir. Laktoz ve galaktozun kullanılmadan kalmasının küfün gelişme eğrisinde durağan faza girmiş olmasından kaynaklandığı değerlendirilmektedir. Küf hücrelerinin gelişme eğrisinde durağan faza girmeden önce glikozu tamamen tükettiği, laktoz ve galaktozu ise tamamen tüketemediği için bu şekerlerin ortamda kullanılmadan kalmış olduğu düşünülmektedir. Başlangıçta %1.74 olan laktoz oranı fermentasyon sonunda %1.16'ya düşmüş olup, fermentasyon boyunca küf hücreleri tarafından toplam %0.58 oranında laktoz tüketilmiştir. Bu da toplam laktozun yaklaşık %33'üne denk gelmektedir. Farklı bir ifade ile fermentasyon sonunda laktozun yaklaşık %67'lik kısmı tüketilmeden DP-PSP'de kalmıştır. Başlangıçta %3.20 olan glikozun ise fermentasyon işlemi sırasında tamamen tüketildiği tespit edilmiştir. Başlangıçta %2.82 olan galaktoz oranı fermentasyon sonunda %0.18'e düşmüş olup, fermentasyon boyunca küf hücreleri tarafından toplam %2.64 oranında galaktoz tüketilmiştir. Bunun da toplam galaktozun yaklaşık %94'ünü oluşturduğu, fermentasyon sonunda galaktozun yaklaşık %6'luk kısmının tüketilmeden DP-PSP'de kaldığı belirlenmiştir. Her üç şekerin de bulunduğu DP-PSP ortamında şeker tüketim tercihi ele alındığında, ilk sırada glikoz, sonra galaktoz en son olarak da laktozun geldiği görülmektedir. Fermentasyon süresince kuru biyokütlede yağ oranı artış göstermiş ve fermentasyonun 7. gününde en yüksek düzeye (%57.72) ulaşmış olmakla birlikte, 8 ve 9. günlerde giderek azalmıştır.

%8 oranında laktoz içeren laktaz enzimi uygulanmış DP-PSP'nin fermentasyonu sonucunda, DP-PSP'de kalan ortalama laktoz miktarının %1.74 ile %1.16 arasında değiştiği ve fermentasyon süresince azaldığı belirlenmiştir. Ancak laktoz miktarındaki bu azalmanın fermentasyonun 5. ile 6. ve 7. ile 8. günleri arasında önemli düzeyde olduğu ($P<0.05$) tespit edilmiştir. DP-PSP'de kalan ortalama glikoz miktarının %3.20 ile %0.00 arasında değiştiği, fermentasyon süresince azaldığı ve fermentasyonun 8. gününde tamamen tükendiği belirlenmiştir. Glikoz miktarındaki azalmanın fermentasyonun sadece 0. ile 1. ve 2. ile 3. günlerinde önemli düzeyde olmadığı ($P>0.05$) saptanmıştır. DP-PSP'de kalan ortalama galaktoz miktarlarına bakıldığında, fermentasyon süresince %2.82 ile % 0.18 arasında değiştiği ve giderek azaldığı tespit edilmiştir. Ayrıca bu azalmanın fermentasyonun 5. ile 6., 6. ile 7., 7. ile 8. ve 8. ile 9. günleri arasında önemli düzeyde olduğu ($P<0.05$) belirlenmiştir. %8 oranında laktoz içeren laktaz enzimi uygulanmış DP-PSP'nin fermentasyonu sonucunda oluşan

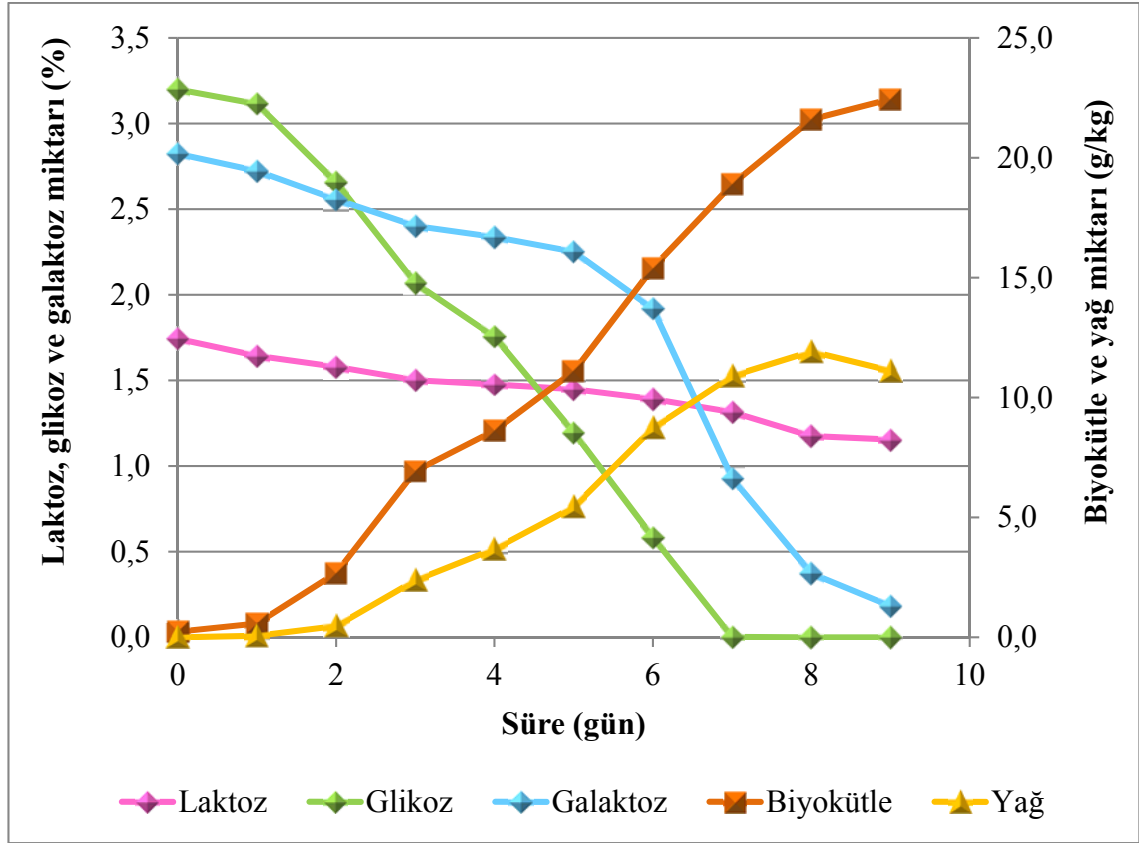
ortalama biyokütle miktarının 0.24-22.46 g/kg arasında değiştiği ve fermentasyon süresince arttığı; bu artışın fermentasyonun bütün günleri arasında önemli düzeyde olduğu ($P<0.05$) tespit edilmiştir. %8 oranında laktöz içeren laktaz enzimi uygulanmış DP-PSP'nin fermentasyonu süresince oluşan ortalama yağ miktarı 0.00-11.12 g/kg arasında değişmiştir. Oluşan yağ miktarının fermentasyon işleminin 8. gününe kadar artış gösterdiği, bu artışın bütün günler arasında önemli düzeyde olduğu ($P<0.05$), ancak daha sonra 9. günde azalma gösterdiği saptanmıştır. Bununla birlikte fermentasyonun 8. ile 9. günleri arasındaki söz konusu azalmanın önemli düzeyde olmadığı ($P>0.05$) belirlenmiştir.

Çizelge 4.5. Laktöz içeriği %8 olan laktaz enzimi uygulanmış DP-PSP'de *Mortierella isabellina* ile gerçekleştirilen fermentasyonda üretilen ortalama biyokütle ve yağ miktarları ile DP-PSP'de kalan laktöz, glikoz ve galaktoz değerleri ($X\pm SD$) ve bu değerlere ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları

Süre (gün)	Laktöz (%)	Glikoz (%)	Galaktoz (%)	Biyokütle (g/kg)	Yağ (g/kg)
0	1.74 ^a ±0.00	3.20 ^a ±0.00	2.82 ^a ±0.00	0.24 ⁱ ±0.01	0.00 ⁱ ±0.00
1	1.64 ^a ±0.12	3.12 ^a ±0.05	2.72 ^a ±0.03	0.58 ^h ±0.11	0.07 ^h ±0.01
2	1.58 ^{ab} ±0.13	2.66 ^b ±0.05	2.56 ^{ab} ±0.05	2.68 ^h ±0.18	0.47 ^g ±0.03
3	1.50 ^{ab} ±0.07	2.07 ^b ±0.05	2.40 ^{ab} ±0.02	6.94 ^g ±0.53	2.38 ^f ±0.09
4	1.48 ^b ±0.05	1.76 ^c ±0.03	2.34 ^{ab} ±0.06	8.63 ^f ±0.53	3.69 ^e ±0.11
5	1.45 ^b ±0.05	1.20 ^d ±0.01	2.25 ^b ±0.07	11.10 ^e ±0.06	5.45 ^d ±0.09
6	1.39 ^c ±0.02	0.59 ^e ±0.02	1.92 ^c ±0.05	15.42 ^d ±0.55	8.73 ^c ±0.46
7	1.32 ^c ±0.01	0.01 ^f ±0.01	0.93 ^d ±0.09	18.89 ^c ±0.08	10.91 ^b ±0.36
8	1.18 ^d ±0.10	0.00 ^g ±0.00	0.37 ^e ±0.04	21.61 ^b ±0.86	11.93 ^a ±0.47
9	1.16 ^d ±0.09	0.00 ^g ±0.00	0.18 ^f ±0.11	22.46 ^a ±3.56	11.12 ^{ab} ±1.76

Aynı sütunda farklı harfleri taşıyan değerler arasındaki fark önemlidir ($P<0.05$)

$X\pm SD$: ortalama±standart sapma



Şekil 4.4. Laktoz içeriği %8 olan laktaz enzimi uygulanmış DP-PSP’de *Mortierella isabellina* ile gerçekleştirilen fermentasyon süresince üretilen biyokütle ve yağ miktarları ile DP-PSP’de kalan laktoz, glikoz ve galaktoz miktarlarındaki değişim

Şekil 4.4’te %8 laktozlu laktaz enzimi uygulanmış DP-PSP’de *Mortierella isabellina* ile gerçekleştirilen fermentasyon sonucunda fermentasyon süresine bağlı olarak biyokütle ve yağ miktarları ile laktoz, glikoz ve galaktoz oranlarındaki değişim görülmektedir. Şekil incelendiğinde fermentasyon süresince biyokütle gelişimi ve yağ oluşumuna ait değerlerin paralellik ortaya koyduğu görülmektedir. Bu durum mikroorganizmanın, gelişimini sürdürürken bir yandan da yağ üretimini gerçekleştirdiğini göstermektedir. Örneklerde fermentasyonun ilk gününden itibaren yağ oluşumunun meydana geldiği görülmektedir. Fermentasyonun 8. gününde yağ miktarının en yüksek düzeye eriştiği görülmektedir. Fakat daha sonra yağ miktarı 9. günde azalma göstermektedir. Yine kuru biyokütlede yağ miktarına ait değerlerin de fermentasyonun 7. gününde en yüksek düzeye ulaştığı ancak 8. ve 9. günlerde azalma gösterdiği belirlenmiştir. Şekil incelendiğinde küf hücrelerinin gelişme eğrisinde 9. günde durağan faza girdiği, glikozun durağan faza girmeden önceki gün tükendiği ve

durağan faza giren hücrelerin ortamda karbon kaynağı olarak galaktoz ve laktoz olmasına rağmen rezerve lipitlerini tüketmeye başladığı görülmektedir. Glikozun tükenmesinden sonraki günlerde galaktoz tüketiminin devam ettiği ancak bu tüketimde bir azalmanın ortaya çıktığı, aynı durumun laktoz için de geçerli olduğu görülmektedir. Fakat galaktoz ve laktoz için bu durumun küfün üreme eğrisinde durağan faza girmesiyle ilgili olduğu düşünülmektedir. Fermentasyon sürecinin geneline bakıldığında şeker tüketiminde birinci sırada glikozun, daha sonra galaktoz ve son olarak laktozun tercih edildiği açıkça görülmektedir.

4.2.5. Laktoz içeriği %12 olan DP-PSP'nin fermentasyonu süresince üretilen biyokütle ve yağ miktarları ile DP-PSP'de kalan laktoz miktarı

Laktoz içeriği %12 olan DP-PSP kullanılarak *Mortierella isabellina* ile gerçekleştirilen üretimde fermentasyon süresinin üretilen biyokütle ve yağ miktarları ile DP-PSP'de kalan laktoz miktarı ortalamalarına ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları Çizelge 4.6'da verilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, biyokütle miktarı fermentasyon işleminin 9. gününde en yüksek düzeye (13.27 g/kg), fermentasyon sonucunda elde edilen yağ da yine 9. günde en yüksek seviyeye (3.84 g/kg) ulaşmıştır. Fermentasyon işlemi sonucunda DP-PSP'de büyük miktarda laktoz (% 8.00) küf hücreleri tarafından tüketilmeden kalmıştır. Bunun sebebinin de küfün gelişme eğrisinde logaritmik üreme döneminde (log fazı) bulunmasından ve henüz durağan faza girilmeden fermentasyonun sonlandırılmış olmasından kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Başlangıçta %12.00 olan laktoz oranı fermentasyon sonunda %8.00'a düşmüş olup fermentasyon boyunca %4.00 oranında laktoz tüketilmiştir. Bu da toplam laktozun yaklaşık %33'üne denk gelmektedir. Yani fermentasyon sonunda laktozun yaklaşık %67'ye tekabül eden büyük bir kısmı tüketilmeden DP-PSP'de kalmıştır. Fermentasyon süresince kuru biyokütlerde yağ oranı artış göstermiş; en yüksek düzeye 8. günde (%29.77) ulaşılmıştır. Kuru biyokütlerde yağ oranı 9. günde azalma göstermiştir.

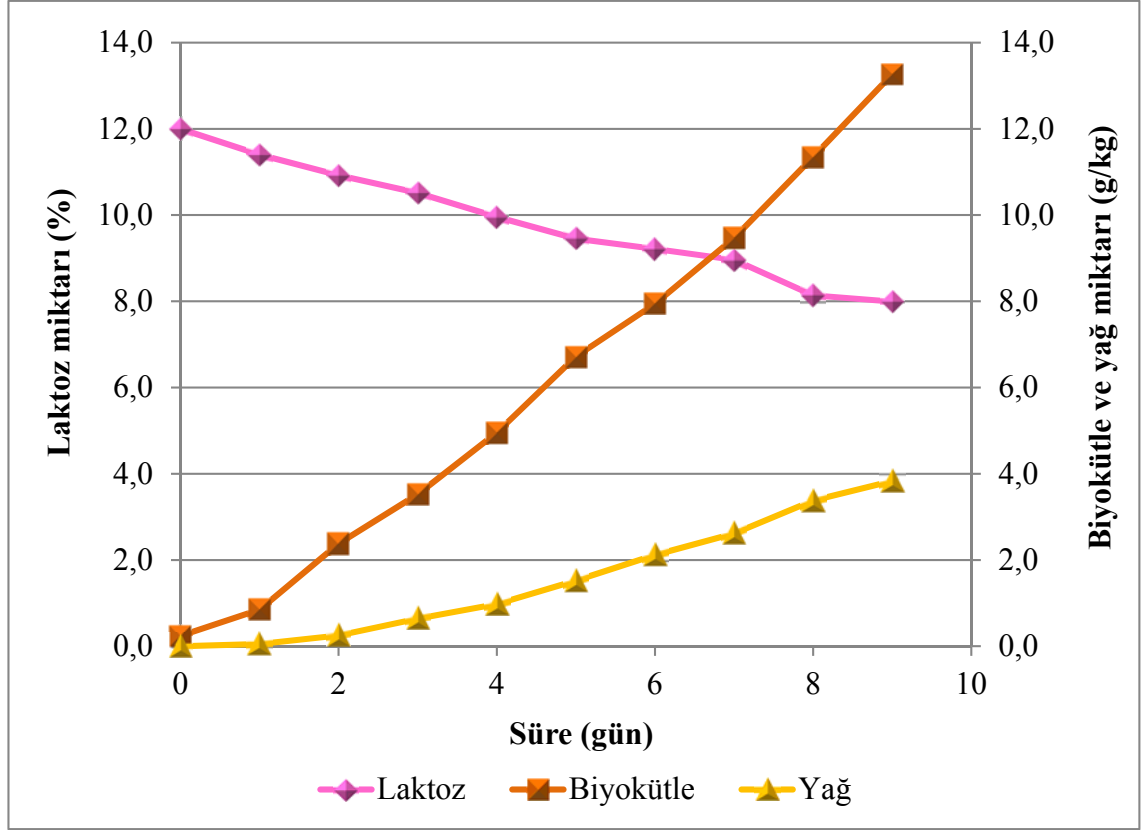
Çizelge 4.6. Laktoz içeriği %12 olan DP-PSP’de *Mortierella isabellina* ile gerçekleştirilen fermentasyonda üretilen ortalama biyokütle ve yağ miktarları ile DP-PSP’de kalan laktoz değerleri (X±SD) ve bu değerlere ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları

Süre (gün)	Laktoz (%)	Biyokütle (g/kg)	Yağ (g/kg)
0	12.00 ^a ±0.00	0.24 ⁱ ±0.03	0.00±0.00
1	11.40 ^b ±0.31	0.85±0.06	0.05±0.02
2	10.92 ^c ±0.19	2.38 ^h ±0.79	0.25 ^h ±0.06
3	10.51 ^d ±0.53	3.52 ^g ±1.12	0.64 ^g ±0.17
4	9.96 ^e ±0.35	4.96 ^f ±0.68	0.98 ^f ±0.11
5	9.46 ^f ±0.03	6.72 ^e ±0.21	1.53 ^e ±0.10
6	9.22 ^g ±0.08	7.94 ^d ±0.26	2.12 ^d ±0.09
7	8.96 ^h ±0.21	9.47 ^c ±0.46	2.62 ^c ±0.18
8	8.14 ⁱ ±0.14	11.35 ^b ±0.62	3.38 ^b ±0.20
9	8.00 ⁱ ±0.05	13.27 ^a ±0.81	3.84 ^a ±0.23

Aynı sütunda farklı harfleri taşıyan değerler arasındaki fark önemlidir ($P<0.05$)

X±SD: ortalama±standart sapma

%12 oranında laktoz içeren DP-PSP’nin fermentasyonu süresince, DP-PSP’de kalan ortalama laktoz miktarının azaldığı ve %12.00 ile %8.00 arasında değiştiği, laktoz miktarındaki bu azalmanın fermentasyonun sadece 8. ile 9. günleri arasında önemli düzeyde olmadığı ($P>0.05$) diğer günler arasında önemli düzeyde olduğu ($P<0.05$) saptanmıştır. %12 oranında laktoz içeren DP-PSP’nin fermentasyonu süresince oluşan ortalama biyokütle miktarının arttığı ve 0.24-13.27 g/kg arasında değiştiği saptanmıştır. Oluşan biyokütle miktarındaki artışın fermentasyonun bütün günleri arasında önemli düzeyde olduğu ($P<0.05$) tespit edilmiştir. %12 oranında laktoz içeren DP-PSP’nin fermentasyonu süresince oluşan ortalama yağ miktarı 0.00-3.84 g/kg arasında değişmiştir. Fermentasyon işlemi süresince oluşan yağ miktarının arttığı; bu artışın fermentasyonun sadece 0. ile 1. günleri arasında önemli olmadığı ($P>0.05$) bulunmuştur. Bu durumun DP-PSP’nin başlangıç kurumaddesinin içerdiği azotun henüz tükenmediğinden kaynaklanabileceği değerlendirilmektedir. Bilindiği üzere yağlı mikroorganizmalar ortamda azotun kısıtlanmaya başlamasıyla yağ üretimine yönelmektedir.



Şekil 4.5. Laktoz içeriği %12 olan DP-PSP’de *Mortierella isabellina* ile gerçekleştirilen fermentasyon süresince üretilen biyokütle ve yağ miktarları ile DP-PSP’de kalan laktoz miktarındaki değişim

Şekil 4.5’de %12 laktozlu DP-PSP’de *Mortierella isabellina* ile gerçekleştirilen fermentasyon sonucunda fermentasyon süresine bağlı olarak biyokütle ve yağ miktarları ile laktoz oranlarındaki değişim görülmektedir. Şekil incelendiğinde fermentasyon süresince biyokütle gelişimi ve yağ oluşumuna ait değerlerin paralellik arzettiği görülmektedir. Bu paralellik mikroorganizmanın, gelişimini sürdürürken bir yandan da yağ üretimini gerçekleştirdiğini ortaya koymaktadır. Ancak önceki fermentasyonlara göre üretilen yağ miktarı düşük seyretmektedir. Örneklerde fermentasyonun ilk gününden itibaren yağ oluşumunun meydana geldiği görülmektedir. Fermentasyonun 8. gününe kadar geçen sürede kuru biyokütlerde yağ oranının sürekli artış gösterdiği ancak 9. günde azalma ortaya koyduğu saptanmıştır. Ayrıca şekildeki laktoz tüketimine ait değerler incelendiğinde laktozun biyokütle ve yağ oluşumuna karşı hızlı bir şekilde tüketildiği görülmektedir. Laktozun büyük oranlarda tüketilmeden kalması, tüketim hızında bir değişiklik olmaması ve biyokütle ve yağ miktarlarında da artışın devam etmesi küfün gelişme eğrisinde log fazda bulunduğunu ve durağan faza

geçmediğini göstermektedir. DP-PSP'nin bu yüksek kurumadde düzeyinde bile küf hücrelerinin gelişmeye devam edebildiği, herhangi bir inhibitör unsurun oluşmadığı anlaşılmaktadır. Dolayısıyla bu fermentasyon işleminde substrat kullanımı ve yağ üretimi baz alındığında fermentasyon süresinin yeterli olmadığı, işlemin devam ettirilmesi gerektiği görülmektedir.

4.2.6. Laktoz içeriği %12 olan laktaz enzimi uygulanmış DP-PSP'nin fermentasyonu süresince üretilen biyokütle ve yağ miktarları ile DP-PSP'de kalan laktoz, glikoz ve galaktoz miktarları

Laktoz içeriği %12 olan laktaz enzimi uygulanmış DP-PSP kullanılarak *Mortierella isabellina* ile gerçekleştirilen üretimde fermentasyon süresinin üretilen ortalama biyokütle ve yağ miktarları ile DP-PSP'de kalan laktoz, glikoz ve galaktoz miktarlarına ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları Çizelge 4.7'de verilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, biyokütle miktarının fermentasyon işleminin 9. gününde en yüksek düzeye (23.83 g/kg) ulaştığı; fermentasyon süresince elde edilen yağ miktarının ise 8. günde en yüksek seviyede (13.91 g/kg) olduğu belirlenmiştir. Fermentasyon işleminin sonunda DP-PSP'de bir miktar laktoz (%2.05) kullanılmadan kalmıştır. Glikoz ise çok düşük miktarlara (%0.01) kadar kullanılırken galaktoz fermentasyonun 8. gününde tamamen tüketilmiştir. Üretilen biyokütle ve yağ miktarlarının fermentasyonun 8. ve 9. günlerinde azalmış olması ve bu günler arasında istatistiksel olarak fark bulunmaması küf hücrelerinin durağan faza girdiğini göstermektedir. Bu nedenle laktoz ve hatta glikozun kullanılmadan kalmasının küfün gelişme eğrisinde durağan faza girmiş olmasından kaynaklanabileceğini ortaya koymaktadır. Küf hücrelerinin gelişme eğrisinde durağan faza girmeden önce galaktozu ve glikozu tükettiği, ancak laktozu tüketemediği için ortamda kullanılmadan kalmış olduğu değerlendirilmektedir. Başlangıçta %3.00 olan laktoz oranı fermentasyon sonunda %2.05'e düşmüş olup, fermentasyon boyunca küf hücreleri tarafından toplam %0.95 oranında laktoz tüketilmiştir. Bu da toplam laktozun yaklaşık %32'sine denk gelmektedir. Farklı bir ifade ile fermentasyon sonunda laktozun yaklaşık %68'lik kısmı tüketilmeden DP-PSP'de kalmıştır. Başlangıçta %4.89 olan glikoz oranı fermentasyon sonunda %0.01'e düşmüş olup, fermentasyon boyunca küf hücreleri tarafından toplam

%4.88 oranında glikoz tüketilmiştir. Bunun da toplam glikozun yaklaşık %99.8'ini oluşturduğu, fermentasyon sonunda glikozun yaklaşık %0.2'lik kısmının tüketilmeden DP-PSP'de kaldığı belirlenmiştir. Başlangıçta %4.08 olan galaktozun ise fermentasyon işlemi sonucunda tamamen tüketildiği tespit edilmiştir. Her üç şekerin de bulunduğu DP-PSP ortamında şeker tüketim tercihi ele alındığında, galaktoz ve glikozun öncelikli olarak tercih edildiği, laktozun ise çok fazla tercih edilmediği görülmektedir. Fermentasyon süresince kuru biyokütlede yağ oranı artış göstermiş ve fermentasyonun 8. gününde en yüksek düzeye (%59.48) ulaşmış, 9. günde azalma göstermiştir.

%12 oranında laktoz içeren laktaz enzimi uygulanmış DP-PSP'nin fermentasyonu sonucunda, DP-PSP'de kalan ortalama laktoz miktarının %3.00 ile %2.05 arasında değiştiği ve fermentasyon süresince azaldığı belirlenmiştir. Ancak laktoz miktarındaki bu azalmanın fermentasyonun sadece 7. ile 8. ve 8. ile 9. günleri arasında önemli düzeyde olduğu ($P<0.05$) saptanmıştır. DP-PSP'de kalan ortalama glikoz miktarının %4.89 ile %0.01 arasında değiştiği, fermentasyon süresince azaldığı ve bu azalmanın fermentasyonun başında 0. ile 1., 1. ile 2., ve 2. ile 3. günleri arasında önemli düzeyde olmadığı ($P>0.05$) belirlenmiştir. DP-PSP'de kalan ortalama galaktoz miktarlarına bakıldığında, fermentasyon süresince %4.08 ile % 0.00 arasında değiştiği ve giderek azaldığı tespit edilmiştir. Bu azalmanın fermentasyonun 5. ile 6., 6. ile 7. ve 7. ile 8. günleri arasında önemli düzeyde olduğu ($P<0.05$) ve galaktozun 8. günde tamamen tüketildiği belirlenmiştir. %12 oranında laktoz içeren laktaz enzimi uygulanmış DP-PSP'nin fermentasyonu sonucunda oluşan ortalama biyokütle miktarının 0.13-23.83 g/kg arasında değiştiği ve fermentasyonun 9. gününe kadar arttığı; bu artışın fermentasyonun sadece 8. ile 9. günlerinde önemli düzeyde olmadığı ($P>0.05$) tespit edilmiştir. %12 oranında laktoz içeren laktaz enzimi uygulanmış DP-PSP'nin fermentasyonu sonucunda oluşan ortalama yağ miktarı 0.00-13.61 g/kg arasında değişmiştir. Oluşan yağ miktarının fermentasyon işleminin 8. gününe kadar artış gösterdiği ancak daha sonra 9. günde azaldığı saptanmıştır. Bununla birlikte fermentasyonun 8. ile 9. günleri arasındaki söz konusu azalmanın önemli düzeyde olmadığı ($P>0.05$) belirlenmiştir.

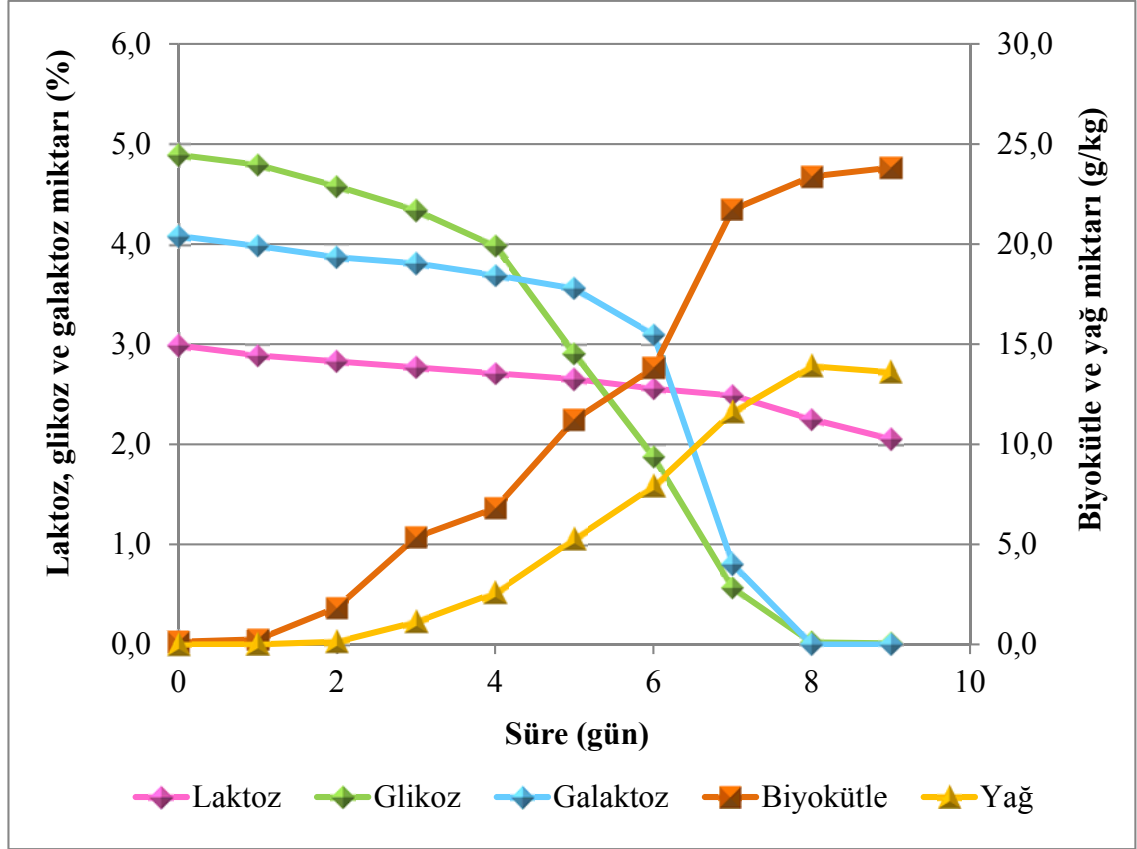
Çizelge 4.7. Laktoz içeriği %12 olan laktaz enzimi uygulanmış DP-PSP’de *Mortierella isabellina* ile gerçekleştirilen fermentasyonda üretilen ortalama biyokütle ve yağ miktarları ile DP-PSP’de kalan laktoz, glikoz ve galaktoz değerleri ($X \pm SD$) ve bu değerlere ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları

Süre (gün)	Laktoz (%)	Glikoz (%)	Galaktoz (%)	Biyokütle (g/kg)	Yağ (g/kg)
0	3.00 ^a ±0.00	4.89 ^a ±0.00	4.08 ^a ±0.00	0.13 ⁱ ±0.02	0.00 ⁱ ±0.00
1	2.89 ^a ±0.03	4.79 ^a ±0.08	3.98 ^a ±0.01	0.26 ^h ±0.05	0.01 ^h ±0.00
2	2.83 ^a ±0.02	4.58 ^{ab} ±0.08	3.87 ^{ab} ±0.06	1.85 ^g ±0.52	0.14 ^g ±0.11
3	2.77 ^{ab} ±0.02	4.34 ^b ±0.13	3.81 ^{ab} ±0.05	5.36 ^f ±1.02	1.12 ^f ±0.15
4	2.71 ^{ab} ±0.01	3.98 ^c ±0.16	3.69 ^b ±0.13	6.81 ^e ±0.53	2.59 ^e ±0.19
5	2.65 ^{ab} ±0.04	2.91 ^d ±0.48	3.56 ^b ±0.20	11.23 ^d ±0.74	5.26 ^d ±0.53
6	2.56 ^b ±0.05	1.88 ^e ±0.37	3.10 ^c ±0.19	13.82 ^c ±0.82	7.92 ^c ±0.50
7	2.49 ^b ±0.02	0.57 ^f ±0.46	0.80 ^d ±0.77	21.73 ^b ±1.98	11.61 ^b ±1.27
8	2.25 ^c ±0.03	0.02 ^g ±0.02	0.00 ^e ±0.00	23.39 ^a ±0.55	13.91 ^a ±0.62
9	2.05 ^d ±0.09	0.01 ^h ±0.02	0.00 ^e ±0.00	23.83 ^a ±0.60	13.61 ^a ±0.47

Aynı sütunda farklı harfleri taşıyan değerler arasındaki fark önemlidir ($P < 0.05$)

$X \pm SD$: ortalama±standart sapma

Şekil 4.6’da %12 laktozlu laktaz enzimi uygulanmış DP-PSP’de *Mortierella isabellina* ile gerçekleştirilen fermentasyon sonucunda fermentasyon süresine bağlı olarak biyokütle ve yağ miktarları ile laktoz, glikoz ve galaktoz oranlarındaki değişim görülmektedir. Şekil incelendiğinde fermentasyon süresince biyokütle gelişimi ve yağ oluşumuna ait değerlerin paralellik gösterdiği anlaşılmaktadır. Bu durum mikroorganizmanın, gelişimini sürdürürken bir yandan da yağ üretimini gerçekleştirdiğini ortaya koymaktadır. Örneklerde fermentasyonun ilk gününden itibaren yağ oluşumunun meydana geldiği ancak ilk günlerde düşük düzeylerde kaldığı görülmektedir. Fermentasyonun 8. gününde yağ miktarının en yüksek düzeye eriştiği fakat 9. günde azaldığı anlaşılmaktadır. Kuru biyokütlede yağ miktarına ait değerlere bakıldığında 6. güne kadar yükseldiği sonra 7. günde azalma gösterdiği, 8. günde en yüksek düzeyine ulaşmış 9. günde tekrar azalma gösterdiği ortaya çıkmaktadır. Fermentasyon sürecinin başında biyokütle ve yağ miktarlarındaki artışın yavaş seyrettiği görülmektedir. Bu durum DP-PSP’nin başlangıç kurumaddesinin yüksek olmasından dolayı küfün ortam şartlarına adaptasyon dönemi geçirdiği şeklinde değerlendirilmektedir.



Şekil 4.6. Laktoz içeriği %12 olan laktaz enzimi uygulanmış DP-PSP’de *Mortierella isabellina* ile gerçekleştirilen fermentasyon süresince üretilen biyokütle ve yağ miktarları ile DP-PSP’de kalan laktoz, glikoz ve galaktoz miktarlarındaki değişim

Şekil incelendiğinde küf hücrelerinin gelişme eğrisinde 7. günde durağan faza girdiği, durağan faza girdikten sonra glikoz ve galaktoz tüketim hızında yavaşlama olduğu ancak yine de her ikisinin 8. günde ya tamamen ya da düşük seviyelere kadar tüketilebildiği görülmektedir. Fakat laktoz için durumun tam tersi olarak geliştiği, yani durağan faza girilmesiyle birlikte tüketim hızında bir artış meydana geldiği anlaşılmaktadır. Fermentasyon başında en fazla olan glikoz miktarının, galaktoz miktarı ile eşitlenmesinden sonra galaktozun tüketim hızında bir artış, aynı şekilde galaktoz miktarının da laktoz miktarı ile eşitlenmesinden sonra da laktoz tüketiminde bir artış ortaya konulduğu görülmektedir. Küf hücreleri tarafından öncelikli olarak tercih edilen şekerin oranının bir sonraki tercih edilen şekerin oranı ile eşitlenmesinden sonra bir sonraki tercih edilen şeker tüketiminde artış olduğu anlaşılmaktadır. Başka bir yaklaşımla küf hücreleri tarafından öncelikli olarak tercih edilen şekerin tükenmesi beklenmeden sonraki tercih edilen şekerin tüketim hızının artırıldığı

değerlendirilmektedir. Dikkati çeken bir diğer unsur da 8. günden sonra rezerve lipitlerin de tüketilmeye başlanmış olmasıdır. Küf hücrelerinin karbon kaynağı olarak glikoz ve galaktozun tükenmesiyle birlikte laktoz kullanımını artırmış olmasına rağmen ayrıca rezerve lipit kaynaklarını da kullanmaya geçtiği ve üretilen yağ miktarında azalmanın olduğu görülmektedir. Bu fermentasyon işleminde de ilk sırada glikoz kullanımının tercih edildiği, daha sonra galaktoz kullanımı ve bunu da laktoz kullanımının takip ettiği görülmektedir.

4.2.7. Laktoz içeriği %16 olan DP-PSP'nin fermentasyonu süresince üretilen biyokütle ve yağ miktarları ile DP-PSP'de kalan laktoz miktarı

Laktoz içeriği %16 olan DP-PSP kullanılarak *Mortierella isabellina* ile gerçekleştirilen üretimde fermentasyon süresinin üretilen biyokütle ve yağ miktarları ile DP-PSP'de kalan laktoz miktarı ortalamalarına ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları Çizelge 4.8'de verilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, biyokütle miktarı fermentasyon işleminin 9. gününde en yüksek düzeye (12.60 g/kg), fermentasyon sonucunda elde edilen yağ da yine 9. günde en yüksek seviyeye (3.88 g/kg) ulaşmıştır. Fermentasyon işlemi sonucunda DP-PSP'de fazla miktarda laktoz (% 12.60) küf hücreleri tarafından tüketilmeden kalmıştır. Bunun sebebinin de küfün gelişme eğrisinde logaritmik üreme fazında bulunmasından ve henüz durağan faza girilmeden fermentasyonun sonlandırılmış olmasından kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Başlangıçta %16.00 olan laktoz oranı fermentasyon sonunda %12.60'a düşmüş olup fermentasyon boyunca %3.40 oranında laktoz tüketilmiştir. Bu da toplam laktozun yaklaşık %21'ine denk gelmektedir. Yani fermentasyon sonunda laktozun yaklaşık %79'a tekabül eden büyük bir kısmı tüketilmeden DP-PSP'de kalmıştır. Fermentasyon süresince kuru biyoküttelede yağ oranı artış göstermiş; en yüksek düzeye 8. günde (%30.96) ulaşılmıştır. Kuru biyoküttelede yağ oranı 9. günde bir miktar azalma göstermiştir.

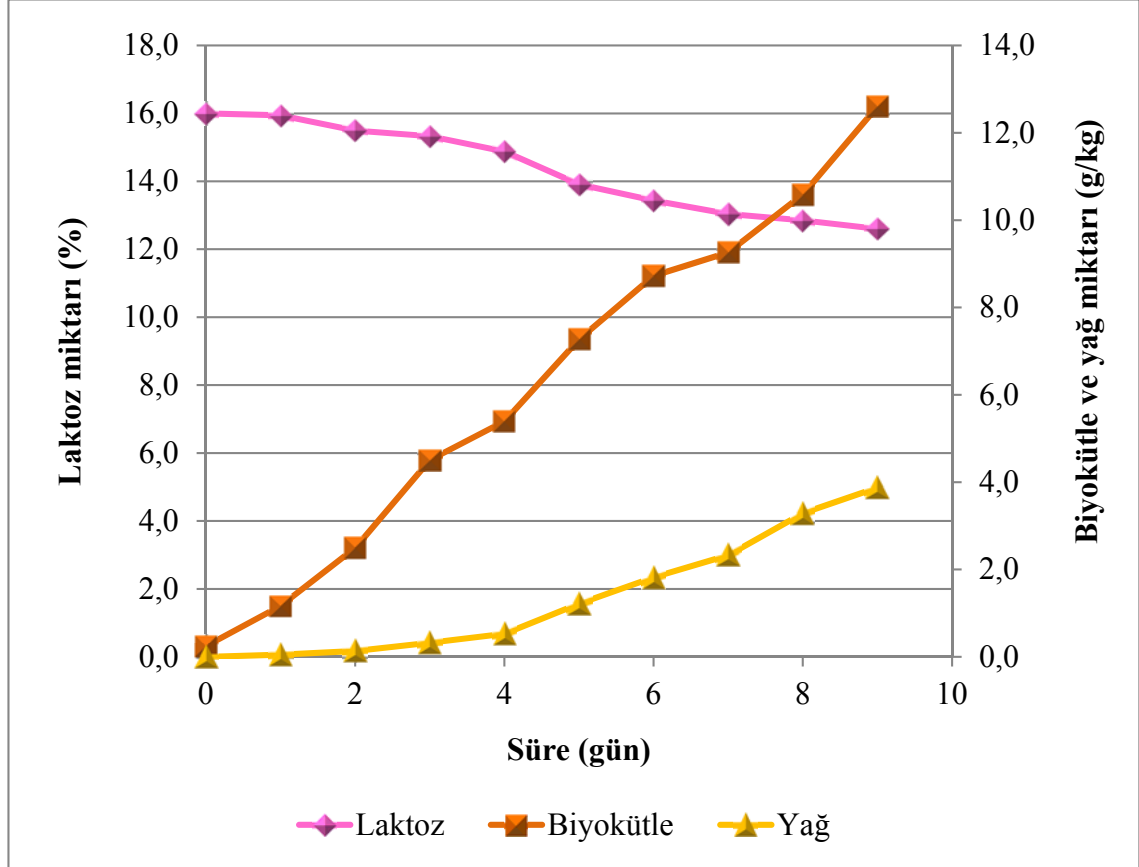
Çizelge 4.8. Laktoz içeriği %16 olan DP-PSP’de *Mortierella isabellina* ile gerçekleştirilen fermentasyonda üretilen ortalama biyokütle ve yağ miktarları ile DP-PSP’de kalan laktoz değerleri (X±SD) ve bu değerlere ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları

Süre (gün)	Laktoz (%)	Biyokütle (g/kg)	Yağ (g/kg)
0	16.00 ^a ±0.00	0.20 ⁱ ±0.00	0.00 ^h ±0.00
1	15.94 ^b ±0.12	1.17 ⁱ ±0.04	0.05 ^h ±0.01
2	15.50 ^c ±0.45	2.50 ^h ±0.07	0.14 ^h ±0.02
3	15.33 ^{cd} ±0.50	4.51 ^g ±0.10	0.32 ^g ±0.03
4	14.88 ^d ±0.62	5.40 ^f ±0.10	0.53 ^f ±0.02
5	13.91 ^e ±0.66	7.27 ^e ±0.06	1.22 ^e ±0.06
6	13.44 ^f ±0.36	8.73 ^d ±0.15	1.82 ^d ±0.06
7	13.04 ^g ±0.22	9.26 ^c ±0.17	2.33 ^c ±0.09
8	12.85 ^{gh} ±0.36	10.59 ^b ±0.70	3.29 ^b ±0.44
9	12.60 ^h ±0.42	12.60 ^a ±0.69	3.88 ^a ±0.43

Aynı sütunda farklı harfleri taşıyan değerler arasındaki fark önemlidir ($P<0.05$)
X±SD: ortalama±standart sapma

%16 oranında laktoz içeren DP-PSP’nin fermentasyonu süresince, DP-PSP’de kalan ortalama laktoz miktarının azaldığı ve %16.00 ile %12.60 arasında değiştiği tespit edilmiştir. Laktoz miktarındaki bu azalmanın fermentasyonun 2. ile 3., 3. ile 4., 7. ile 8. ve 8. ile 9. günleri arasında önemli düzeyde olmadığı ($P>0.05$) saptanmıştır. %16 oranında laktoz içeren DP-PSP’nin fermentasyonu süresince oluşan ortalama biyokütle miktarının arttığı ve 0.20-12.60 g/kg arasında değiştiği belirlenmiştir. Oluşan biyokütle miktarındaki artışın fermentasyonun bütün günleri arasında önemli düzeyde olduğu ($P<0.05$) tespit edilmiştir. %16 oranında laktoz içeren DP-PSP’nin fermentasyonu süresince oluşan ortalama yağ miktarı 0.00-3.88 g/kg arasında değişmiştir. Fermentasyon işlemi süresince oluşan yağ miktarının arttığı; bu artışın fermentasyonun sadece 0. ile 1. ve 1. ile 2. günleri arasında önemli olmadığı ($P>0.05$) bulunmuştur. Biyokütle artışının fermentasyonun ilk günlerinden itibaren yüksek düzeylerde gerçekleşmiş olması ve artışın fermentasyonun bütün günleri arasında önemli düzeyde bulunmuş olması, buna karşılık yağ miktarındaki artışın fermentasyonun ilk günlerinde düşük seyretmesi ve ilk günler arasında farkın önemli düzeyde olmaması DP-PSP’nin başlangıç kurumaddesinin içerdiği azotun henüz tükenmemiş olmasından

kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Bilindiği üzere yağlı mikroorganizmalar ancak ortamda azotun kısıtlanmaya başlamasıyla yağ üretimine yönelmektedir.



Şekil 4.7. Laktoz içeriği %16 olan DP-PSP’de *Mortierella isabellina* ile gerçekleştirilen fermentasyon süresince üretilen biyokütle ve yağ miktarları ile DP-PSP’de kalan laktoz miktarındaki değişim

Şekil 4.7’de %16 laktozlu DP-PSP’de *Mortierella isabellina* ile gerçekleştirilen fermentasyon sonucunda fermentasyon süresine bağlı olarak biyokütle ve yağ miktarları ile laktoz oranlarındaki değişim görülmektedir. Şekil incelendiğinde örneklerde fermentasyonun ilk gününden itibaren yağ oluşumunun meydana geldiği ancak üretilen yağ miktarının fermentasyonun ilk dört gününde oldukça düşük seyrettiği, fermentasyon süresince mikroorganizmanın, gelişimini sürdürürken bir yandan da yağ üretimini gerçekleştirdiği fakat yağ üretiminin dördüncü günden sonra artmaya başladığı görülmektedir. Bu durumun yağlı mikroorganizmaların ortamda kullanılabilir azotun tüketmeye başlamasıyla büyük oranlarda yağ birikimine yönelmelerinden kaynaklanabileceği düşünülmektedir. %16 laktoz içeren DP-PSP’nin

başlangıç kurumadde düzeyi oldukça yüksektir. Dolayısıyla azot miktarı da diğer DP-PSP'lere göre daha fazladır. Ancak bu yüksek laktoz düzeyinde de kullanılan küfün büyük oranlarda biyokütle oluşumu sağladığı ve yağ üretebildiği ortadadır. Fermentasyonun 8. gününe kadar geçen sürede kuru biyokütlede yağ oranının sürekli artış gösterdiği ancak 9. günde azalma ortaya koyduğu saptanmıştır. Ayrıca şekildeki laktoz tüketimine ait değerler incelendiğinde laktozun biyokütle ve yağ oluşumuna karşı hızlı bir şekilde tüketildiği görülmektedir. Laktoz tüketiminin duraksamadan devam etmesi ve fermentasyon sonunda büyük oranlarda tüketilmeden kalması, biyokütle ve yağ miktarlarındaki artışın da devam etmesi küfün gelişme eğrisinde logaritmik gelişme fazında bulunduğunu ve durağan faza geçmemiş olduğunu ortaya koymaktadır. DP-PSP'nin bu yüksek kurumadde düzeyinde bile küf hücrelerinin gelişmeye devam edebildiği, herhangi bir inhibitör unsurun oluşmadığı anlaşılmaktadır. Dolayısıyla bu fermentasyon işleminde substrat kullanımı ve yağ üretimi baz alındığında fermentasyon süresinin yeterli olmadığı, işlemin devam ettirilmesi gerektiği görülmektedir.

4.2.8. Laktoz içeriği %16 olan laktaz enzimi uygulanmış DP-PSP'nin fermentasyonu süresince üretilen biyokütle ve yağ miktarları ile DP-PSP'de kalan laktoz, glikoz ve galaktoz miktarları

Laktoz içeriği %16 olan laktaz enzimi uygulanmış DP-PSP kullanılarak *Mortierella isabellina* ile gerçekleştirilen üretimde fermentasyon süresinin üretilen ortalama biyokütle ve yağ miktarları ile DP-PSP'de kalan laktoz, glikoz ve galaktoz miktarlarına ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları Çizelge 4.9'da verilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, biyokütle miktarının fermentasyon işleminin 9. gününde en yüksek düzeye (28.34 g/kg) ulaştığı; fermentasyon süresince elde edilen yağ miktarının ise 9. günde en yüksek seviyede (18.21 g/kg) olduğu belirlenmiştir. Fermentasyon işleminin sonunda DP-PSP'de büyük miktarda laktoz (%2.70) kullanılmadan kalmış, glikoz ise çok düşük miktarlara (%0.52) kadar kullanılırken galaktoz da fazla miktarda (%2.38) kullanılmadan kalmıştır. Üretilen biyokütle ve yağ miktarlarına bakıldığında küf hücrelerinin durağan faza girmediğini, henüz logaritmik gelişme fazında olduğunu göstermektedir. Bu nedenle laktoz, glikoz ve galaktozun tamamı kullanılmadan fermentasyonun sonlandırıldığı anlaşılmaktadır. Başlangıçta %3.87 olan laktoz oranı

fermentasyon sonunda %2.70'e düşmüş olup, fermentasyon boyunca küf hücreleri tarafından toplam %1.17 oranında laktoz tüketilmiştir. Bu da toplam laktozun yaklaşık %30'una denk gelmektedir. Başka bir ifade ile fermentasyon sonunda laktozun yaklaşık %60'lık kısmı tüketilmeden DP-PSP'de kalmıştır. Başlangıçta %6.10 olan glikoz oranı fermentasyon sonunda %0.52'ye düşmüş olup, fermentasyon boyunca küf hücreleri tarafından toplam %5.58 oranında glikoz tüketilmiştir. Bunun da toplam glikozun yaklaşık %91'ini oluşturduğu, fermentasyon sonunda glikozun yaklaşık %9'luk kısmının tüketilmeden DP-PSP'de kaldığı belirlenmiştir. Başlangıçta %4.98 olan galaktoz oranı fermentasyon sonunda %2.38'e düşmüş olup, fermentasyon boyunca küf hücreleri tarafından toplam %2.60 oranında galaktoz tüketilmiştir. Bunun da toplam galaktozun yaklaşık %52'sini oluşturduğu, fermentasyon sonunda galaktozun yaklaşık %48'lik kısmının tüketilmeden DP-PSP'de kaldığı belirlenmiştir. Her üç şekerin de bulunduğu DP-PSP ortamında şeker tüketim tercihi ele alındığında, ilk sırada glikoz sonra galaktoz ve en son olarak laktozun tercih edildiği görülmektedir. Fermentasyon süresince kuru biyokütlede yağ oranı artış göstermiş ve fermentasyonun 8. gününde en yüksek düzeye (%69.20) ulaşmış 9. günde azalma göstermiştir.

%16 oranında laktoz içeren laktaz enzimi uygulanmış DP-PSP'nin fermentasyonu sonucunda, DP-PSP'de kalan ortalama laktoz miktarının %3.87 ile %2.70 arasında değiştiği ve fermentasyon süresince azaldığı belirlenmiştir. Ancak laktoz miktarındaki bu azalmanın fermentasyonun sadece 8. ile 9. günleri arasında önemli düzeyde olduğu ($P<0.05$) saptanmıştır. DP-PSP'de kalan ortalama glikoz miktarının %6.10 ile %0.52 arasında değiştiği, fermentasyon süresince azaldığı ve bu azalmanın fermentasyonun 3. ile 4., 6. ile 7., 7. ile 8. ve 8. ile 9. günleri arasında önemli düzeyde olduğu ($P<0.05$) tespit edilmiştir. DP-PSP'de kalan ortalama galaktoz miktarlarına bakıldığında, fermentasyon süresince %4.98 ile % 2.38 arasında değiştiği ve giderek azaldığı, bu azalmanın fermentasyonun 6. ile 7., 7. ile 8. ve 8. ile 9. günleri arasında önemli düzeyde olmadığı ($P>0.05$) belirlenmiştir. %16 oranında laktoz içeren laktaz enzimi uygulanmış DP-PSP'nin fermentasyonu sonucunda oluşan ortalama biyokütle miktarının 0.07-28.34 g/kg arasında değiştiği ve fermentasyonun 9. gününe kadar arttığı; bu artışın fermentasyonun sadece 4. ile 5. günlerinde önemli düzeyde olmadığı ($P>0.05$) tespit edilmiştir. %16 oranında laktoz içeren laktaz enzimi

uygulanmış DP-PSP'nin fermentasyonu sonucunda oluşan ortalama yağ miktarı 0.00-18.21 g/kg arasında değişmiştir. Oluşan yağ miktarının fermentasyon işleminin 9. gününe kadar sürekli artış gösterdiği ve bu artışın fermentasyonun bütün günleri arasında önemli düzeyde olduğu ($P<0.05$) belirlenmiştir.

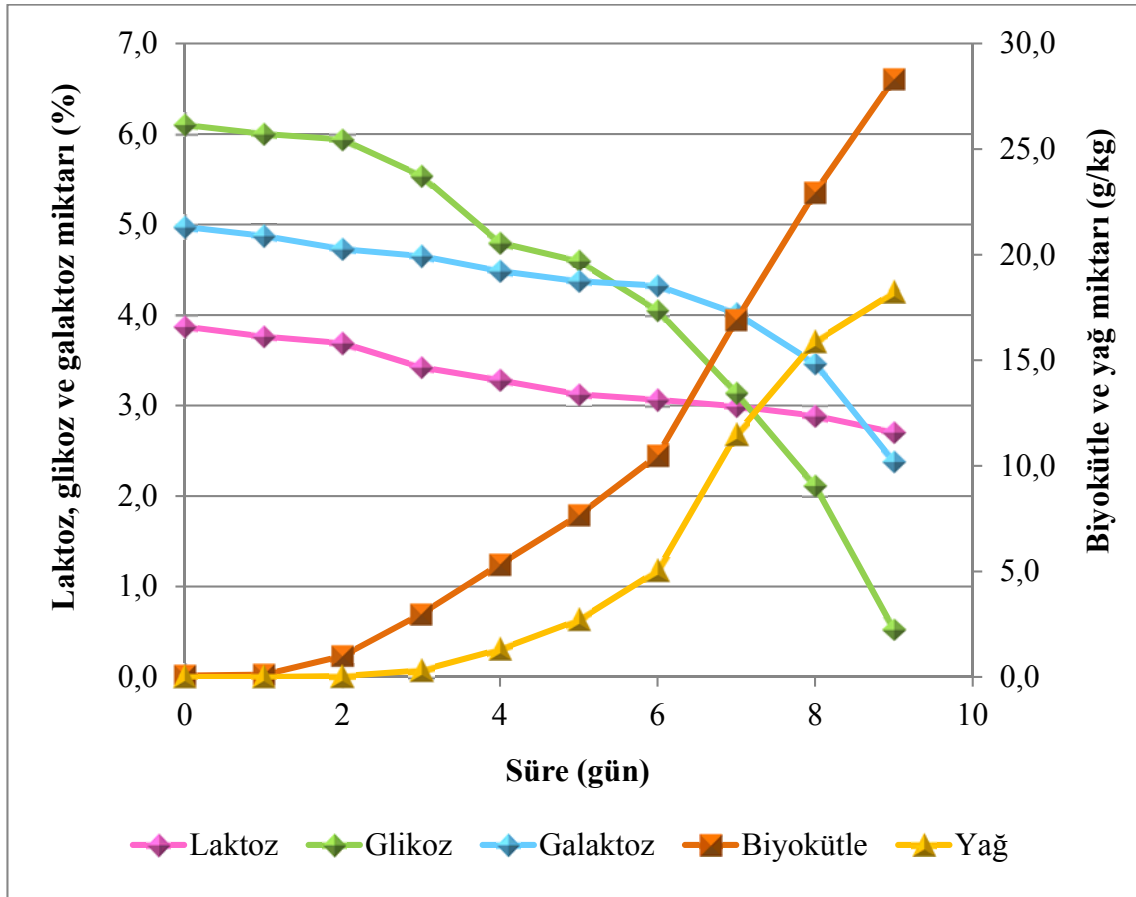
Çizelge 4.9. Laktoz içeriği %16 olan laktaz enzimi uygulanmış DP-PSP'de *Mortierella isabellina* ile gerçekleştirilen fermentasyonda üretilen ortalama biyokütle ve yağ miktarları ile DP-PSP'de kalan laktoz, glikoz ve galaktoz değerleri ($X\pm SD$) ve bu değerlere ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları

Süre (gün)	Laktoz (%)	Glikoz (%)	Galaktoz (%)	Biyokütle (g/kg)	Yağ (g/kg)
0	3.87 ^a ±0.00	6.10 ^a ±0.00	4.98 ^a ±0.00	0.07 ⁱ ±0.02	0.00 ^j ±0.00
1	3.76 ^a ±0.10	6.00 ^a ±0.04	4.88 ^a ±0.21	0.11 ⁱ ±0.02	0.003 ^j ±0.00
2	3.69 ^{ab} ±0.08	5.94 ^{ab} ±0.09	4.72 ^{ab} ±0.11	1.00 ^h ±0.06	0.04 ^h ±0.00
3	3.42 ^b ±0.08	5.54 ^b ±0.03	4.65 ^b ±0.10	2.99 ^g ±0.13	0.32 ^g ±0.03
4	3.28 ^b ±0.11	4.80 ^c ±0.11	4.49 ^{bc} ±0.18	5.35 ^{ef} ±0.68	1.32 ^f ±0.27
5	3.12 ^{bc} ±0.03	4.59 ^{cd} ±0.01	4.37 ^c ±0.12	7.66 ^e ±0.13	2.71 ^e ±0.02
6	3.06 ^c ±0.03	4.05 ^d ±0.12	4.33 ^c ±0.11	10.50 ^d ±0.79	5.04 ^d ±0.45
7	2.99 ^{cd} ±0.02	3.14 ^e ±0.46	4.02 ^d ±0.16	16.92 ^c ±0.33	11.50 ^c ±0.69
8	2.89 ^d ±0.02	2.11 ^f ±0.86	3.46 ^e ±0.50	22.96 ^b ±0.26	15.89 ^b ±0.46
9	2.70 ^e ±0.05	0.52 ^g ±0.20	2.38 ^f ±0.99	28.34 ^a ±0.69	18.21 ^a ±0.60

Aynı sütunda farklı harfleri taşıyan değerler arasındaki fark önemlidir ($P<0.05$)
 $X\pm SD$: ortalama±standart sapma

Şekil 4.8'de %16 laktozlu laktaz enzimi uygulanmış DP-PSP'de *Mortierella isabellina* ile gerçekleştirilen fermentasyon sonucunda fermentasyon süresine bağlı olarak biyokütle ve yağ miktarları ile laktoz, glikoz ve galaktoz oranlarındaki değişim görülmektedir. Şekil incelendiğinde fermentasyon süresince biyokütle gelişimi ve yağ oluşumuna ait değerlerin paralellik gösterdiği anlaşılmaktadır. Bu durum mikroorganizmanın, gelişimini sürdürürken bir yandan da yağ üretimini gerçekleştirdiğini ortaya koymaktadır. Örneklerde fermentasyonun ilk gününden itibaren yağ oluşumunun meydana geldiği, ancak üretilen yağ miktarının oldukça düşük olduğu görülmektedir. Yüksek kuru madde içeren bu DP-PSP'de üretilen biyokütle ve yağ miktarlarının fermentasyonun ilk günlerinde sonraki günlere göre daha düşük düzeylerde seyretmesi küfün ortam şartlarına uyum sağlayabilmek için bir adaptasyon dönemi geçirdiği şeklinde değerlendirilmektedir. Fakat daha sonra biyokütle miktarında

hızlı bir artış gözlenmiş buna karşı üretilen yağ miktarı daha düşük kalmıştır. Biyokütleyle karşı yağ miktarının düşük düzeylerde kalması ortamdaki azotun henüz tükenmediğinden kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Fermentasyonun 9. gününde yağ miktarının en yüksek düzeye eriştiği saptanmaktadır. Ancak kuru biyokütlede yağ miktarına ait değerlere bakıldığında ise 8. günde en yüksek düzeyine ulaşmış, 9. günde azalma gösterdiği anlaşılmaktadır. Fermentasyon sonunda oldukça yüksek düzeylerde biyokütle ve yağ üretiminin sağlandığı görülmektedir.



Şekil 4.8. Laktoz içeriği %16 olan laktaz enzimi uygulanmış DP-PSP’de *Mortierella isabellina* ile gerçekleştirilen fermentasyon süresince üretilen biyokütle ve yağ miktarları ile DP-PSP’de kalan laktoz, glikoz ve galaktoz miktarlarındaki değişim

Şekil incelendiğinde küf hücrelerinin gelişme eğrisinde adaptasyon döneminden sonra logaritmik gelişme fazına geçtiği ve bu fazda fermentasyon işleminin devam ettiği görülmektedir. Küf hücreleri logaritmik gelişme fazına geçtikten sonra hızlı bir şekilde glikozu tüketmiş, fermentasyon sonuna kadar bu tüketim artarak devam

etmiştir. Glikoz miktarının galaktoz miktarına eşit olmasından sonra galaktoz kullanımının arttığı görülmektedir. Bu aşamadan sonra galaktoz tüketimi hızla artış göstermiştir. Küf hücreleri tarafından öncelikli olarak tercih edilen glikozun tükenmesi beklenmeden sonraki tercih edilen galaktoz tüketim hızının artırıldığı görülmektedir. Küf hücreleri tarafından tercih edilen karbon kaynağının tükenmesi beklenmeden, hücrelerin alternatif karbon kaynağını kullanma mekanizmasını harekete geçirdiği düşünülmektedir. Bu fermentasyon işleminde laktoz içeriği %12 olan DP-PSP’de olduğu gibi rezerve lipit tüketimine gidilmediği görülmektedir. Fakat karbon kaynağı olarak henüz glikoz ve galaktozun ortamda tükenmemiş olması, tercih edilecek sonraki karbon kaynağının laktoz ile birlikte rezerve lipitlerin olabileceği açık değildir. Çünkü fermentasyon işleminin logaritmik fazda gelişmeye devam ettiği ve ortamda kullanılabilir karbon kaynaklarının bulunduğu ve fermentasyon işleminin erken sonlandırıldığı anlaşılmaktadır.

4.2.9. Kontrol besi ortamının fermentasyonu süresince üretilen biyokütle ve yağ miktarları ile besi ortamında kalan glikoz miktarı

Kontrol besi ortamında yürütülen fermentasyon Kavadia vd’nin (2001) yaptıkları çalışma esas alınarak, model sistem olarak gerçekleştirilmiştir. Glikoz içeriği %3 olan kontrol besi ortamı kullanılarak *Mortierella isabellina* ile gerçekleştirilen üretimde fermentasyon süresinin üretilen biyokütle ve yağ miktarları ile kontrol besi ortamında kalan glikoz miktarı ortalamalarına ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları Çizelge 4.10’da verilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, biyokütle miktarı fermentasyon işleminin 6. gününde en yüksek düzeye (10.97 g/kg), fermentasyon sonucunda elde edilen yağ da yine 6. günde en yüksek seviyeye (6.29 g/kg) ulaşmıştır. Fermentasyon işlemi sonucunda kontrol besi ortamında glikoz küf hücreleri tarafından tamamen tüketilmiştir. Bir başka ifade ile başlangıçta besi ortamında bulunan toplam glikozun %100’ü tüketilmiştir. Fermentasyon süresince kuru biyokütlerde yağ oranı artış göstermiş; en yüksek düzeye 5. günde (%57.59) ulaşmıştır. Kuru biyokütlerde yağ oranı 5. günden sonra giderek azalma göstermiştir.

Çizelge 4.10. Kontrol besi ortamında *Mortierella isabellina* ile gerçekleştirilen fermentasyonda ortalama biyokütle ve yağ üretimi ile glikoz tüketim değerleri ($X\pm SD$) ve bu değerlere ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları

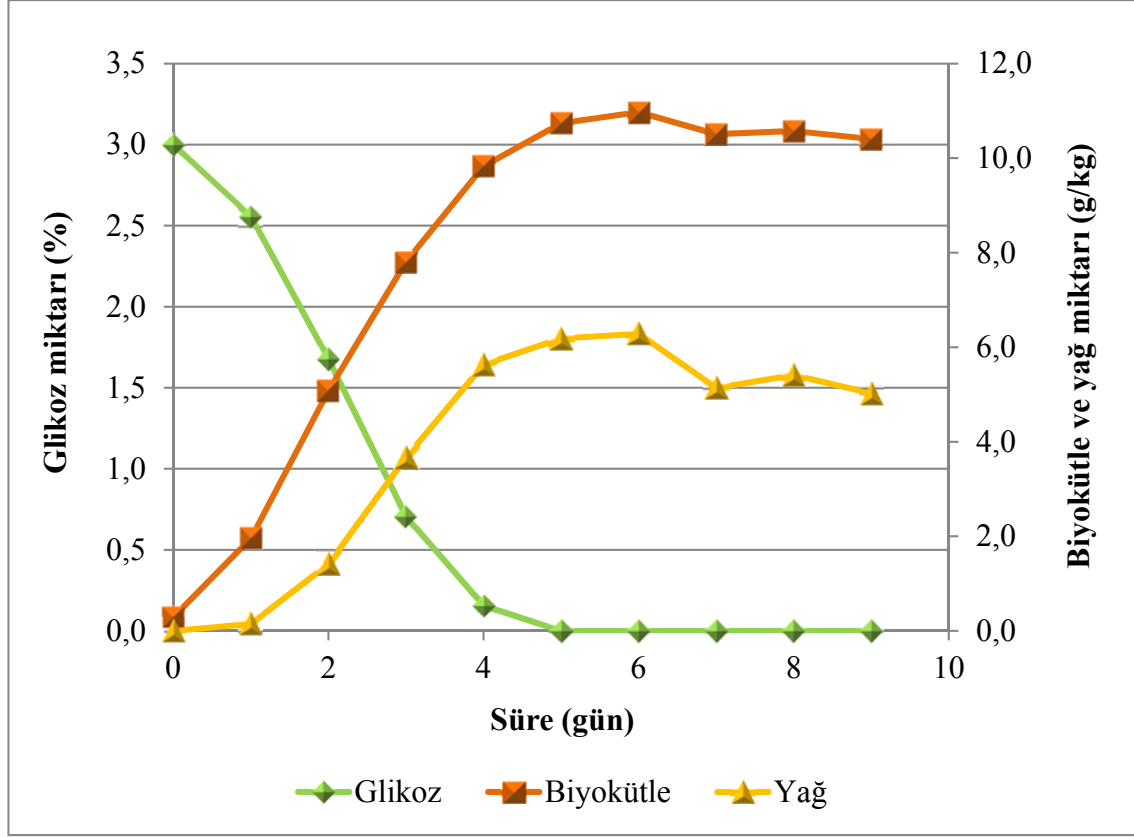
Süre (gün)	Glikoz (%)	Biyokütle (g/kg)	Yağ (g/kg)
0	3.00 ^a ±0.00	0.29 ^g ±0.02	0.00 ^g ±0.00
1	2.56 ^b ±0.10	1.96 ^f ±0.25	0.15 ^g ±0.05
2	1.68 ^c ±0.21	5.08 ^e ±0.66	1.41 ^f ±0.44
3	0.71 ^d ±0.15	7.81 ^d ±0.40	3.67 ^e ±0.26
4	0.16 ^e ±0.13	9.83 ^c ±0.87	5.63 ^b ±0.80
5	0.00 ^f ±0.00	10.74 ^b ±0.41	6.19 ^a ±0.37
6	0.00 ^f ±0.00	10.97 ^a ±0.16	6.29 ^a ±0.11
7	0.00 ^f ±0.00	10.51 ^b ±0.17	5.14 ^d ±0.44
8	0.00 ^f ±0.00	10.57 ^b ±0.26	5.41 ^c ±0.18
9	0.00 ^f ±0.00	10.41 ^b ±0.16	5.02 ^d ±0.21

Aynı sütunda farklı harfleri taşıyan değerler arasındaki fark önemlidir ($P<0.05$)

$X\pm SD$: ortalama±standart sapma

%3 oranında glikoz içeren kontrol besi ortamının fermentasyonu süresince, kontrol besi ortamında kalan ortalama glikoz miktarının azaldığı ve %3.00 ile %0.00 arasında değiştiği tespit edilmiştir. Bu azalmanın glikoz tükeninceye kadar fermentasyonun bütün günleri arasında önemli düzeyde olduğu ($P<0.05$) belirlenmiştir. %3 oranında glikoz içeren kontrol besi ortamının fermentasyonu süresince oluşan ortalama biyokütle miktarının 6. güne kadar arttığı daha sonra azalma gösterdiği ve 0.29-10.41 g/kg arasında değiştiği saptanmıştır. Oluşan biyokütle miktarında artışın gözlemlendiği fermentasyonun 6. gününe kadar olan kısmında söz konusu artışın bütün günler arasında önemli düzeyde ($P<0.05$) olduğu, 6. gününden sonraki azalmanın gerçekleştiği kısmında ise bu azalmanın sadece 6. ile 7. günleri arasında önemli düzeyde olduğu ($P<0.05$) belirlenmiştir. %3 oranında glikoz içeren kontrol besi ortamının fermentasyonu süresince oluşan ortalama yağ miktarı 6. güne kadar artış göstermiş daha sonra azalmış ve 0.00-5.02 g/kg arasında değişmiştir. Ortalama yağ miktarında artışın gözlemlendiği fermentasyonun 6. gününe kadar olan kısmında söz konusu artışın 0. ile 1. ve 5. ile 6. günleri arasında önemli düzeyde olmadığı ($P>0.05$), fermentasyonun 6. gününden sonraki kısmında ise 7. günde azalmanın, 8. günde artışın ve 9. günde tekrar

azalmanın gerçekleştiği belirlenmiş, 6. ile 7., 7. ile 8. ve 8. ile 9. günleri arasındaki bu değişimlerin önemli düzeyde olduğu ($P<0.05$) tespit edilmiştir.



Şekil 4.9. Kontrol besi ortamında *Mortierella isabellina* ile gerçekleştirilen fermentasyon süresince üretilen biyokütle ve yağ miktarları ile DP-PSP’de kalan glikoz miktarındaki değişim

Şekil 4.9’da %3 glikozlu kontrol besi ortamında *Mortierella isabellina* ile gerçekleştirilen fermentasyon sonucunda fermentasyon süresine bağlı olarak biyokütle ve yağ miktarları ile glikoz oranlarındaki değişim görülmektedir. Şekil incelendiğinde fermentasyon süresince biyokütle gelişimi ve yağ oluşumuna ait değerlerin paralellik ortaya koyduğu görülmektedir. Bu paralellik mikroorganizmanın, gelişimini sürdürürken bir yandan da yağ üretimini gerçekleştirdiğini göstermektedir. Örneklerde fermentasyonun ilk gününden itibaren yağ oluşumunun meydana geldiği görülmektedir. Bu üretimde tipik bir mikroorganizma gelişme eğrisi görülmektedir. Fermentasyonda karbon kaynağı olarak glikoz hızla kullanılmaya başlanmış ve tamamen tüketilmiştir. Buna karşılık yüksek miktarlarda biyokütle ve yağ oluşumu gerçekleşmiştir. Ancak ortamda kullanılabilir tek karbon kaynağı olarak glikozun tükenmesinden sonra küf

hücreleri durağan faza girmiştir. Devam eden günlerde karbon kaynağı olarak rezerve lipitler kullanılmış ve biyokütle miktarı sabit bir düzeyde korunmaya çalışılmıştır. Bu fermentasyon işlemi için biyokütle ve yağ miktarları göz önüne alındığında 6. günde işlemin tamamlandığı anlaşılmaktadır.

4.3. *Mortierella ramanniana* Küf Kültürü Kullanılarak Gerçekleştirilen Fermentasyonlarda Biyokütle ve Yağ Üretimi

Mikrobiyel yağ üretimi amacıyla *Mortierella ramanniana* küfü ile gerçekleştirilen fermentasyonlarda substrat kaynağı olarak kullanılan DP-PSP'lerin farklı kurumadde içeriğinin (%4.5, %8, %12 ve %16 başlangıç laktoz düzeylerinin) ve laktaz enzimi uygulamasının fermentasyon süresince üretilen biyokütle miktarı ve yağ miktarı ile DP-PSP'lerde kalan laktoz, glikoz ve galaktoz miktarları üzerine etkileri belirlenmiştir. Ayrıca *Mortierella ramanniana* küfü ile kontrol besi ortamında da gerçekleştirilen üretimde, fermentasyon süresince üretilen biyokütle miktarı ve yağ miktarı ile kontrol besi ortamında kalan glikoz miktarı belirlenmiştir.

4.3.1. Laktoz içeriği %4.5 olan DP-PSP'nin fermentasyonu süresince üretilen biyokütle ve yağ miktarları ile DP-PSP'de kalan laktoz miktarı

Laktoz içeriği %4.5 olan DP-PSP kullanılarak *Mortierella ramanniana* ile gerçekleştirilen üretimde fermentasyon süresinin üretilen biyokütle ve yağ miktarları ile DP-PSP'de kalan laktoz miktarı ortalamalarına ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları Çizelge 4.11'de verilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, biyokütle miktarı fermentasyon işleminin 9. gününde en yüksek düzeye (12.78 g/kg), fermentasyon sonucunda elde edilen yağ da yine 9. günde en yüksek seviyeye (5.52 g/kg) ulaşmıştır. Fermentasyon işlemi sonucunda DP-PSP'de bir miktar laktoz (% 1.07) küf hücreleri tarafından tüketilmeden kalmıştır. Bunun da fermentasyon işleminin laktozun tüketilmesinden önce kesildiğinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Çünkü küfün üreme eğrisinde henüz durağan faza girmediği anlaşılmaktadır. Başlangıçta %4.5 olan laktoz oranı fermentasyon sonunda %1.07'ye düşmüş olup fermentasyon boyunca %3.43 oranında laktoz tüketilmiştir. Bu da toplam laktozun yaklaşık %76'sına denk

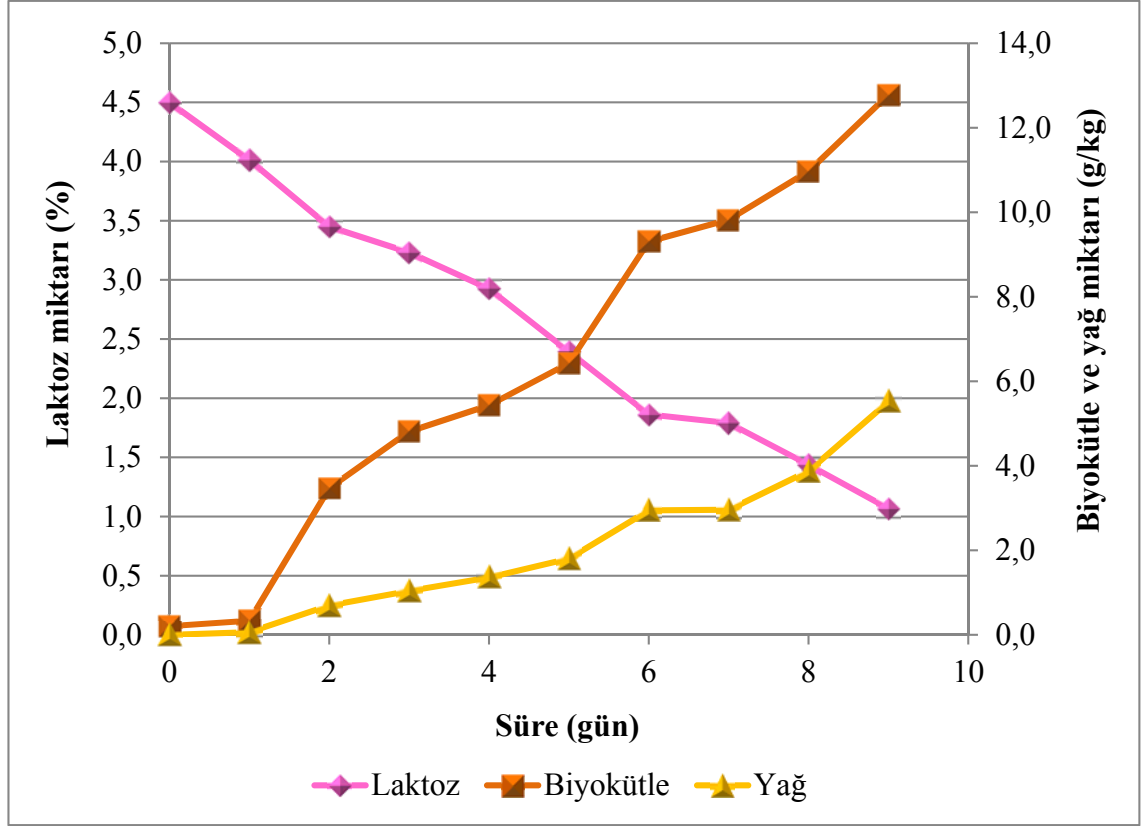
gelmektedir. Bir başka deyişle fermentasyon sonunda laktozun yaklaşık %24'lük kısmı tüketilmeden DP-PSP'de kalmıştır. Fermentasyon süresince kuru biyokütlede yağ oranı artış göstermiş; en yüksek düzeye 9. günde (%43.21) ulaşılmıştır.

Çizelge 4.11. Laktoz içeriği %4.5 olan DP-PSP'de *Mortierella ramanniana* ile gerçekleştirilen fermentasyonda üretilen ortalama biyokütle ve yağ miktarları ile DP-PSP'de kalan laktoz değerleri (X±SD) ve bu değerlere ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları

Süre (gün)	Laktoz (%)	Biyokütle (g/kg)	Yağ (g/kg)
0	4.50 ^a ±0.00	0.21 ^g ±0.06	0.00 ^g ±0.00
1	4.01 ^b ±0.05	0.34 ^g ±0.01	0.06 ^g ±0.01
2	3.45 ^c ±0.10	3.47 ^f ±0.05	0.70 ^f ±0.05
3	3.23 ^c ±0.04	4.81 ^{ef} ±0.19	1.04 ^f ±0.02
4	2.93 ^d ±0.30	5.44 ^{ed} ±0.54	1.36 ^e ±0.11
5	2.39 ^e ±0.01	6.43 ^d ±0.62	1.81 ^d ±0.29
6	1.86 ^f ±0.14	9.31 ^c ±0.07	2.95 ^c ±0.15
7	1.79 ^{fg} ±0.13	9.83 ^{bc} ±0.40	2.96 ^c ±0.20
8	1.44 ^{gh} ±0.03	10.97 ^{ba} ±0.20	3.88 ^b ±0.27
9	1.07 ^g ±0.07	12.78 ^a ±0.18	5.52 ^a ±0.15

Aynı sütunda farklı harfleri taşıyan değerler arasındaki fark önemlidir ($P<0.05$)
X±SD: ortalama±standart sapma

%4.5 oranında laktoz içeren DP-PSP'nin fermentasyonu süresince, DP-PSP'de kalan ortalama laktoz miktarının azaldığı ve %4.50 ile %1.07 arasında değiştiği tespit edilmiştir. Ancak laktoz miktarındaki bu azalmanın fermentasyonun 2. ile 3., 6. ile 7., 7. ile 8. ve 8. ile 9. günleri arasında önemli olmadığı ($P>0.05$) belirlenmiştir. %4.5 oranında laktoz içeren DP-PSP'nin fermentasyonu süresince oluşan ortalama biyokütle miktarının arttığı ve 0.21-12.78 g/kg arasında değiştiği saptanmıştır. Oluşan biyokütle miktarındaki artışın fermentasyonun sadece 1. ile 2. ve 5. ile 6. günleri arasında önemli düzeyde olduğu ($P<0.05$) tespit edilmiştir. %4.5 oranında laktoz içeren DP-PSP'nin fermentasyonu süresince oluşan ortalama yağ miktarı 0.00-5.52 g/kg arasında değişmiştir. Fermentasyon işlemi süresince oluşan yağ miktarının arttığı; ancak bu artışın fermentasyonun 0. ile 1., 2. ile 3. ve 6. ile 7. günleri arasında önemli olmadığı ($P>0.05$) bulunmuştur.



Şekil 4.10. Laktoz içeriği %4.5 olan DP-PSP’de *Mortierella ramanniana* ile gerçekleştirilen fermentasyon süresince üretilen biyokütle ve yağ miktarları ile DP-PSP’de kalan laktoz miktarındaki değişim

Şekil 4.10’da %4.5 laktozlu DP-PSP’de *Mortierella ramanniana* ile gerçekleştirilen fermentasyon sonucunda fermentasyon süresine bağlı olarak biyokütle ve yağ miktarları ile laktoz oranlarındaki değişim görülmektedir. Şekil incelendiğinde fermentasyon süresince biyokütle gelişimi ve yağ oluşumuna ait değerlerin paralellik ortaya koyduğu görülmektedir. Bu paralellik mikroorganizmanın, gelişimini sürdürürken bir yandan da yağ üretimini gerçekleştirdiğini ortaya koymaktadır. Örneklerde fermentasyonun ilk gününden itibaren yağ oluşumunun meydana geldiği, ancak ilk günde adaptasyon sürecinin gerçekleştiği görülmektedir. Fermentasyon süresince kuru biyokütlede yağ oranının artış gösterdiği, sadece 7. günde bir azalmanın olduğu belirlenmiştir. Ayrıca şekildeki laktoz tüketimine ait değerler incelendiğinde laktozun biyokütle ve yağ oluşumuna karşı hızlı bir şekilde tüketildiği görülmektedir. Laktoz tüketimine karşı yüksek düzeylerde biyokütle ve yağ oluşumu gerçekleştirilmiştir. Fermentasyon süreci incelendiğinde küf hücrelerinin henüz durağan

faza girmediği dolayısıyla biyokütle ve yağ üretiminin devam ettiği bu nedenle fermentasyonun erken sonlandırıldığı anlaşılmaktadır.

4.3.2. Laktoz içeriği %4.5 olan laktaz enzimi uygulanmış DP-PSP'nin fermentasyonu süresince üretilen biyokütle ve yağ miktarları ile DP-PSP'de kalan laktoz, glikoz ve galaktoz miktarları

Laktoz içeriği %4.5 olan laktaz enzimi uygulanmış DP-PSP kullanılarak *Mortierella ramanniana* ile gerçekleştirilen üretimde fermentasyon süresinin üretilen ortalama biyokütle ve yağ miktarları ile DP-PSP'de kalan laktoz, glikoz ve galaktoz miktarlarına ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları Çizelge 4.12'de verilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, biyokütle miktarının fermentasyon işleminin 9. gününde en yüksek düzeye (15.89 g/kg) ulaştığı; fermentasyon süresince elde edilen yağ miktarının da yine 9. günde en yüksek seviyede (6.62 g/kg) olduğu belirlenmiştir. Fermentasyon işlemi sonucunda DP-PSP'de bir miktar laktoz (%0.73) ve galaktoz (%0.15) kullanılmadan kalırken, glikoz ise 7. günde küf hücreleri tarafından tamamen tüketilmiştir. Başlangıçta %1.07 olan laktoz oranı fermentasyon sonunda %0.73'e düşmüş olup, fermentasyon boyunca küf hücreleri tarafından toplam %0.34 oranında laktoz tüketilmiştir. Bu da toplam laktozun yaklaşık %32'sine denk gelmektedir. Farklı bir ifade ile fermentasyon sonunda laktozun yaklaşık %68'lik kısmı tüketilmeden DP-PSP'de kalmıştır. Başlangıçta %1.99 olan glikozun ise fermentasyon işlemi sonucunda tamamen tüketildiği tespit edilmiştir. Başlangıçta %1.97 olan galaktoz oranı fermentasyon sonunda %0.15'e düşmüş olup, fermentasyon boyunca küf hücreleri tarafından toplam %1.82 oranında galaktoz tüketilmiştir. Bunun da toplam galaktozun yaklaşık %92'sini oluşturduğu, fermentasyon sonunda galaktozun yaklaşık %8'lik kısmının tüketilmeden DP-PSP'de kaldığı belirlenmiştir. Her üç şekerin de bulunduğu DP-PSP ortamında şeker tüketim tercihi ele alındığında, ilk sırada glikoz, sonra galaktoz en son olarak da laktozun geldiği görülmektedir. Fermentasyon süresince kuru biyokütlerde yağ oranı artış göstermiş ve fermentasyonun 9. gününde en yüksek düzeye (%41.69) ulaşmıştır.

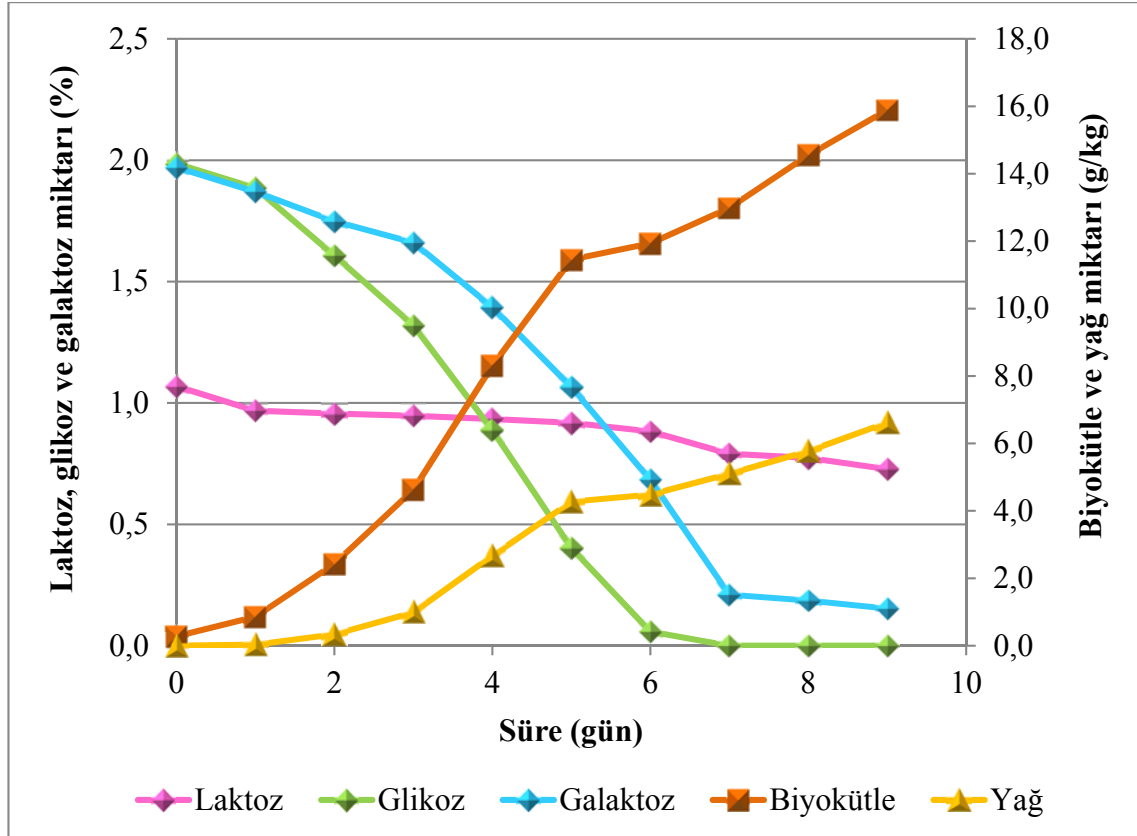
Çizelge 4.12. Laktoz içeriği %4.5 olan laktaz enzimi uygulanmış DP-PSP’de *Mortierella ramanniana* ile gerçekleştirilen fermentasyonda üretilen ortalama biyokütle ve yağ miktarları ile DP-PSP’de kalan laktoz, glikoz ve galaktoz değerleri ($X \pm SD$) ve bu değerlere ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları

Süre (gün)	Laktoz (%)	Glikoz (%)	Galaktoz (%)	Biyokütle (g/kg)	Yağ (g/kg)
0	1.07 ^a ±0.00	1.99 ^a ±0.00	1.97 ^a ±0.00	0.28 [±] ±0.04	0.00 ^h ±0.00
1	0.97 ^a ±0.01	1.89 ^b ±0.01	1.87 ^b ±0.01	0.86 ^h ±0.04	0.03 ^g ±0.00
2	0.96 ^a ±0.01	1.61 ^c ±0.03	1.75 ^c ±0.04	2.43 ^g ±0.05	0.34 ^f ±0.04
3	0.95 ^a ±0.01	1.32 ^d ±0.02	1.66 ^d ±0.05	4.63 ^f ±0.14	0.99 ^e ±0.02
4	0.93 ^a ±0.02	0.89 ^e ±0.03	1.40 ^e ±0.03	8.31 ^e ±0.15	2.67 ^d ±0.12
5	0.92 ^{ab} ±0.03	0.40 ^f ±0.01	1.06 ^f ±0.05	11.46 ^d ±0.27	4.28 ^c ±0.34
6	0.88 ^b ±0.05	0.06 ^g ±0.09	0.68 ^g ±0.12	11.94 ^d ±0.59	4.48 ^{bc} ±0.34
7	0.79 ^{bc} ±0.01	0.00 ^h ±0.00	0.21 ^h ±0.03	12.99 ^c ±0.03	5.10 ^b ±0.08
8	0.77 ^c ±0.03	0.00 ^h ±0.00	0.19 ^h ±0.01	14.56 ^b ±1.06	5.77 ^{ab} ±0.43
9	0.73 ^c ±0.02	0.00 ^h ±0.00	0.15 ^h ±0.05	15.89 ^a ±0.57	6.62 ^a ±0.18

Aynı sütunda farklı harfleri taşıyan değerler arasındaki fark önemlidir ($P < 0.05$)
 $X \pm SD$: ortalama±standart sapma

%4.5 oranında laktoz içeren laktaz enzimi uygulanmış DP-PSP’nin fermentasyonu sonucunda, DP-PSP’de kalan ortalama laktoz miktarının %1.07 ile %0.73 arasında değiştiği ve fermentasyon süresince azaldığı belirlenmiştir. Ancak laktoz miktarındaki bu azalmanın fermentasyonun bütün günleri arasında önemli düzeyde olmadığı ($P > 0.05$) tespit edilmiştir. DP-PSP’de kalan ortalama glikoz miktarının %1.99 ile %0.00 arasında değiştiği, fermentasyon süresince azaldığı ve fermentasyonun 7. gününde tamamen tükendiği belirlenmiştir. Glikoz miktarındaki azalmanın fermentasyon süresince glikozun tükendiği 7. güne kadar olan bölümünde bütün günler arasında önemli düzeyde olduğu ($P < 0.05$) saptanmıştır. DP-PSP’de kalan ortalama galaktoz miktarlarına bakıldığında, fermentasyon süresince %1.97 ile % 0.15 arasında değiştiği ve giderek azaldığı tespit edilmiştir. Bu azalmanın fermentasyonun 8. ile 9. günleri arasında önemli düzeyde olmadığı ($P > 0.05$) diğer bütün günlerde ise önemli düzeyde olduğu ($P < 0.05$) belirlenmiştir. %4.5 oranında laktoz içeren laktaz enzimi uygulanmış DP-PSP’nin fermentasyonu sonucunda oluşan ortalama biyokütle miktarının 0.28-15.89 g/kg arasında değiştiği ve fermentasyon süresince arttığı; bu artışın fermentasyonun sadece 5. ile 6. günlerinde önemli düzeyde olmadığı ($P > 0.05$)

tespit edilmiştir. %4.5 oranında laktoz içeren laktaz enzimi uygulanmış DP-PSP'nin fermentasyonu sonucunda oluşan ortalama yağ miktarı 0.00-6.62 g/kg arasında değişmiştir. Oluşan yağ miktarının fermentasyon süresince artış gösterdiği, bununla birlikte söz konusu artışın fermentasyonun 5. ile 6., 6. ile 7., 7. ile 8. ve 8. ile 9. günleri arasında önemli düzeyde olmadığı ($P>0.05$) belirlenmiştir.



Şekil 4.11. Laktoz içeriği %4.5 olan laktaz enzimi uygulanmış DP-PSP'de *Mortierella ramanniana* ile gerçekleştirilen fermentasyon süresince üretilen biyokütle ve yağ miktarları ile DP-PSP'de kalan laktoz, glikoz ve galaktoz miktarlarındaki değişim

Şekil 4.11'de %4.5 laktozlu laktaz enzimi uygulanmış DP-PSP'de *Mortierella ramanniana* ile gerçekleştirilen fermentasyon sonucunda fermentasyon süresine bağlı olarak biyokütle ve yağ miktarları ile laktoz, glikoz ve galaktoz oranlarındaki değişim görülmektedir. Şekil incelendiğinde fermentasyon süresince biyokütle gelişimi ve yağ oluşumuna ait değerlerin birbirlerine paralel ilerledikleri görülmektedir. Yani mikroorganizma gelişimini sürdürürken aynı zamanda yağ üretimini de gerçekleştirmektedir. Örneklerde fermentasyonun ilk gününden itibaren yağ

oluşumunun meydana geldiği ancak küf hücrelerinin fermentasyonun ilk günlerinde adaptasyon aşaması geçirdiği, bu nedenle 1. ve 2. günlerde yağ üretiminin düşük düzeylerde seyrettiği görülmektedir. Aynı şekilde kuru biyokütlede yağ miktarına ait değerlerde de benzer sonuç mevcuttur. Şekil incelendiğinde küf hücrelerinin gelişme eğrisinde 5. günde durağan faza girdiği, ancak daha sonra tekrar logaritmik gelişme fazı gösterdiği dikkati çekmektedir. Glikozun 7. günde tamamen tüketildiği, glikozun tükenmesinden sonra gerek galaktoz tüketiminde gerekse laktoz tüketiminde bir azalmanın olduğu, fakat rezerve lipitlerin tüketilmediği görülmektedir. Burada da önceki fermentasyonların bazılarında görüldüğü gibi glikoz düzeyi galaktoz düzeyi ile eşitlendikten sonra galaktoz tüketim hızı artmış, galaktoz düzeyi laktoz düzeyi ile eşitlendikten sonra da laktoz tüketim hızı artmış ancak her ikisinin de tüketim hızları glikozun ortamda tamamen tükenmesiyle azalmıştır. Fermentasyonun geneline bakıldığında karbon kaynağı olarak tercih sıralamasında glikoz ilk sırada yer almış, daha sonra galaktoz ve en son olarak da laktoz tercih edilmiştir.

4.3.3. Laktoz içeriği %8 olan DP-PSP'nin fermentasyonu süresince üretilen biyokütle ve yağ miktarları ile DP-PSP'de kalan laktoz miktarı

Laktoz içeriği %8 olan DP-PSP kullanılarak *Mortierella ramanniana* ile gerçekleştirilen üretimde fermentasyon süresinin üretilen biyokütle ve yağ miktarları ile DP-PSP'de kalan laktoz miktarı ortalamalarına ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları Çizelge 4.13'de verilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, biyokütle miktarı fermentasyon işleminin 9. gününde en yüksek düzeye (15.85 g/kg), fermentasyon sonucunda elde edilen yağ ise 8. günde en yüksek seviyeye (5.46 g/kg) ulaşmıştır. Fermentasyon işlemi sonucunda laktozun bir kısmı (% 3.38) DP-PSP'de küf hücreleri tarafından tüketilmeden kalmıştır. Bunun da fermentasyon gerçekleşirken küf hücrelerinin gelişme eğrisinde durağan faza girmelerinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Başlangıçta %8 olan laktoz oranı fermentasyon sonunda % 3.38'e düşmüş olup fermentasyon boyunca %4.62 oranında laktoz tüketilmiştir. Bu da toplam laktozun yaklaşık %58'ine denk gelmektedir. Bir başka deyişle fermentasyon sonunda laktozun yaklaşık %42'lik kısmı tüketilmeden DP-PSP'de kalmıştır. Fermentasyon

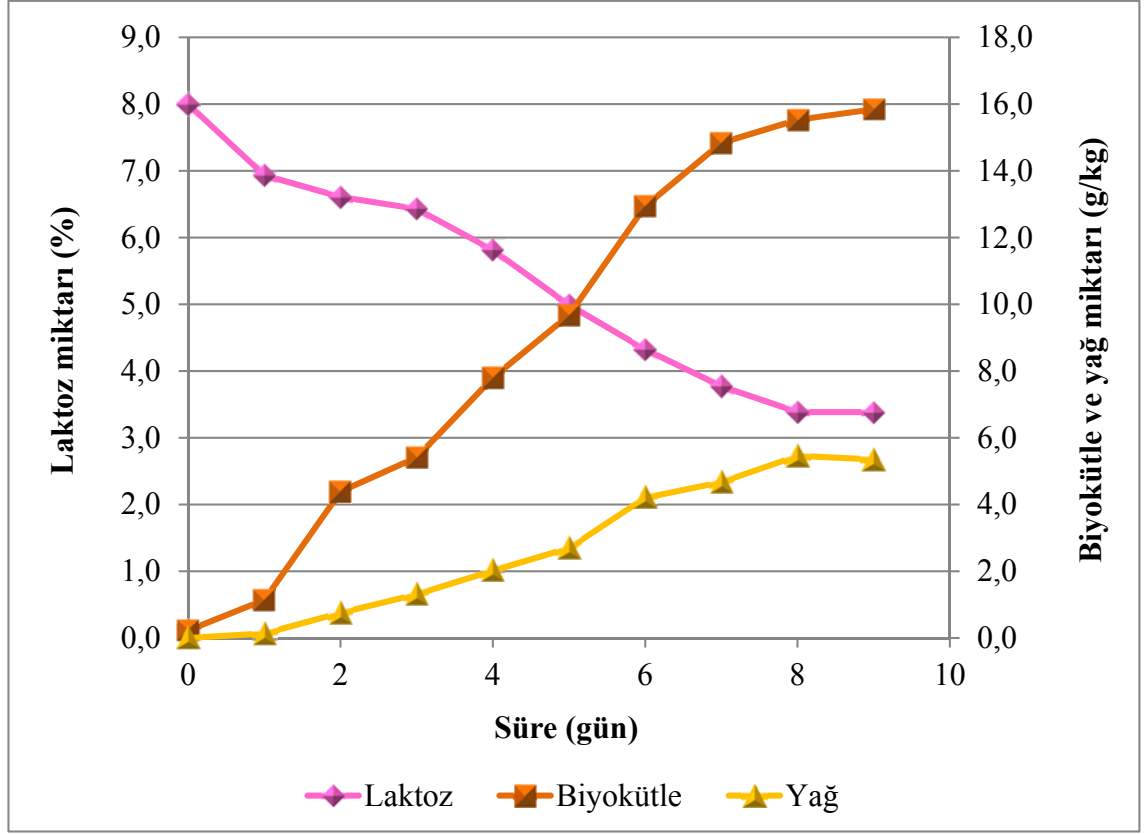
süresince kuru biyokütlede yağ oranı artış göstermiş; en yüksek düzeye 8. günde (%35.13) ulaşılmıştır. Biyokütleyle karşı üretilen yağ 9. günde daha düşük bulunmuştur.

Çizelge 4.13. Laktoz içeriği %8 olan DP-PSP’de *Mortierella ramanniana* ile gerçekleştirilen fermentasyonda üretilen ortalama biyokütle ve yağ miktarları ile DP-PSP’de kalan laktoz değerleri (X±SD) ve bu değerlere ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları

Süre (gün)	Laktoz (%)	Biyokütle (g/kg)	Yağ (g/kg)
0	8.00 ^a ±0.00	0.23 ^h ±0.04	0.00 [±] 0.00
1	6.94 ^b ±0.04	1.14 ^h ±0.02	0.13 ^h ±0.01
2	6.61 ^b ±0.06	4.39 ^g ±0.84	0.76 ^g ±0.10
3	6.43 ^{bc} ±0.09	5.42 ^f ±0.42	1.31 ^f ±0.15
4	5.82 ^{cd} ±0.08	7.81 ^e ±0.57	2.02 ^e ±0.22
5	4.99 ^d ±0.02	9.68 ^d ±0.98	2.70 ^d ±0.30
6	4.32 ^e ±0.09	12.95 ^c ±1.12	4.20 ^c ±0.20
7	3.77 ^f ±0.33	14.84 ^b ±0.56	4.67 ^b ±0.03
8	3.38 ^f ±0.54	15.53 ^a ±0.14	5.46 ^a ±0.01
9	3.38 ^f ±0.55	15.85 ^a ±0.47	5.35 ^a ±0.21

Aynı sütunda farklı harfleri taşıyan değerler arasındaki fark önemlidir ($P<0.05$)
X±SD: ortalama±standart sapma

%8 oranında laktoz içeren DP-PSP’nin fermentasyonu süresince, DP-PSP’de kalan ortalama laktoz miktarının azaldığı ve %8 ile %3.38 değerleri arasında değiştiği tespit edilmiştir. Laktoz miktarındaki bu azalmanın fermentasyonun 0. ile 1., 5. ile 6. ve 6. ile 7. günleri arasında önemli düzeyde olduğu ($P<0.05$) belirlenmiştir. %8 oranında laktoz içeren DP-PSP’nin fermentasyonu süresince oluşan ortalama biyokütle miktarının arttığı ve 0.23-15.85 g/kg arasında değiştiği saptanmıştır. Oluşan biyokütle miktarındaki artışın fermentasyonun sadece 8. ile 9. günleri arasında önemli düzeyde olmadığı ($P>0.05$) tespit edilmiştir. %8 oranında laktoz içeren DP-PSP’nin fermentasyonu süresince oluşan ortalama yağ miktarı 0.00-5.35 g/kg arasında değişmiştir. Fermentasyon işlemi süresince oluşan yağ miktarının 8. güne kadar arttığı daha sonra 9. günde azaldığı; ancak fermentasyonun 8. ile 9. günleri arasında gerçekleşen bu azalmanın önemli düzeyde olmadığı ($P>0.05$) belirlenmiştir. 8. güne kadar olan artış ise fermentasyonun bütün günleri arasında önemli düzeyde ($P<0.05$) bulunmuştur.



Şekil 4.12. Laktoz içeriği %8 olan DP-PSP’de *Mortierella ramanniana* ile gerçekleştirilen fermentasyon süresince üretilen biyokütle ve yağ miktarları ile DP-PSP’de kalan laktoz miktarındaki değişim

Şekil 4.12’de %8 laktozlu DP-PSP’de *Mortierella ramanniana* ile gerçekleştirilen fermentasyon sonucunda fermentasyon süresine bağlı olarak biyokütle ve yağ miktarları ile laktoz oranlarındaki değişim görülmektedir. Şekil incelendiğinde fermentasyonun ilk gününde biyokütle ve yağ üretimi yavaş seyrederken 2. günden sonra üretim artmıştır. Ancak yine de örneklerde fermentasyonun ilk gününden itibaren yağ oluşumunun meydana geldiği görülmektedir. Fermentasyonun ilerleyen günlerinde biyokütle üretimi ile yağ üretimi birlikte devam etmiştir. Küf hücreleri biyokütle oluşumu yanında yağ üretimi de gerçekleştirmiştir. Fakat 9. günde biyokütle artışı devam etmesine karşın üretilen yağ miktarında azalma görülmektedir. Fermentasyon süresince kuru biyokütlerde yağ oranının da artış gösterdiği fakat 9. günde azalma ortaya koyduğu gözlenmiştir. Bunun, küf hücrelerinin toplam 9 günlük fermentasyon işleminin sonlarına doğru durağan faza girmeye başlamış olmasından kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Bu aşamada laktoz kullanımı durmuş, rezerve lipitlerin kullanımına geçilmiştir. Fermentasyon işleminin bu aşamasında karbon kaynağı olarak laktoz yerine

rezerve lipitlerin tüketimi küf hücrelerinin durağan fazda laktozu kullanamadığını ortaya koymaktadır. Fermentasyon işleminin 8. gününe kadar olan sürede laktozun biyokütle ve yağ oluşumuna karşı hızlı bir şekilde tüketildiği ancak 9. günde tüketimin tamamen durduğu görülmektedir.

4.3.4. Laktoz içeriği %8 olan laktaz enzimi uygulanmış DP-PSP'nin fermentasyonu süresince üretilen biyokütle ve yağ miktarları ile DP-PSP'de kalan laktoz, glikoz ve galaktoz miktarları

Laktoz içeriği %8 olan laktaz enzimi uygulanmış DP-PSP kullanılarak *Mortierella ramanniana* ile gerçekleştirilen üretimde fermentasyon süresinin üretilen ortalama biyokütle ve yağ miktarları ile DP-PSP'de kalan laktoz, glikoz ve galaktoz miktarlarına ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları Çizelge 4.14'te verilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, biyokütle miktarının fermentasyon işleminin 9. gününde en yüksek düzeye (19.54 g/kg) ulaştığı; fermentasyon süresince elde edilen yağ miktarının da yine 9. günde en yüksek seviyede (10.61 g/kg) olduğu belirlenmiştir. Fermentasyon işlemi sonucunda DP-PSP'de laktozun bir kısmı (%1.22) ve bir miktar galaktoz (%0.14) kullanılmadan kalırken, glikoz ise 9. günde küf hücreleri tarafından tamamen tüketilmiştir. Küf hücreleri gelişme eğrisinde henüz durağan faza geçmemiştir. Logaritmik gelişme fazında gelişmeye devam etmekte olduğundan, glikozu ve galaktozu hızla tüketmiştir. Fermentasyon sonunda ortamda glikoz ve galaktozun azalmasıyla birlikte laktoz kullanımı artmıştır. Fermentasyon işleminin başında ortamda en fazla bulunan glikozun miktarı galaktoz miktarının altına düştüğünde galaktoz kullanım hızı artmış, aynı şekilde galaktoz miktarı da laktoz miktarının altına düştüğünde laktoz kullanım hızı artmıştır. Başlangıçta %1.67 olan laktoz oranı fermentasyon sonunda %1.22'ye düşmüş olup, fermentasyon boyunca küf hücreleri tarafından toplam %0.45 oranında laktoz tüketilmiştir. Bu da toplam laktozun yaklaşık %27'sini oluşturmaktadır. Diğer bir ifade ile fermentasyon sonunda laktozun yaklaşık %73'ü tüketilmeden DP-PSP'de kalmıştır. Başlangıçta %3.07 olan glikozun ise fermentasyon işlemi sırasında tamamen tüketildiği tespit edilmiştir. Dolayısıyla toplam glikozun %100'ü tüketilmiştir. Başlangıçta %2.87 olan galaktoz oranı fermentasyon sonunda %0.14'e düşmüş olup, fermentasyon boyunca küf hücreleri tarafından toplam

%2.73 oranında galaktoz tüketilmiştir. Bunun da toplam galaktozun yaklaşık %95'ini oluşturduğu, fermentasyon sonunda galaktozun yaklaşık %5'lik kısmının tüketilmeden DP-PSP'de kaldığı belirlenmiştir. Her üç şekerin de bulunduğu DP-PSP ortamında şeker tüketim tercihi ele alındığında, ilk sırada glikoz, sonra galaktoz en son olarak da laktozun geldiği görülmektedir. Fermentasyon süresince kuru biyokütlede yağ oranı artış göstermiş ve fermentasyonun 9. gününde en yüksek düzeye (%54.23) ulaşmıştır.

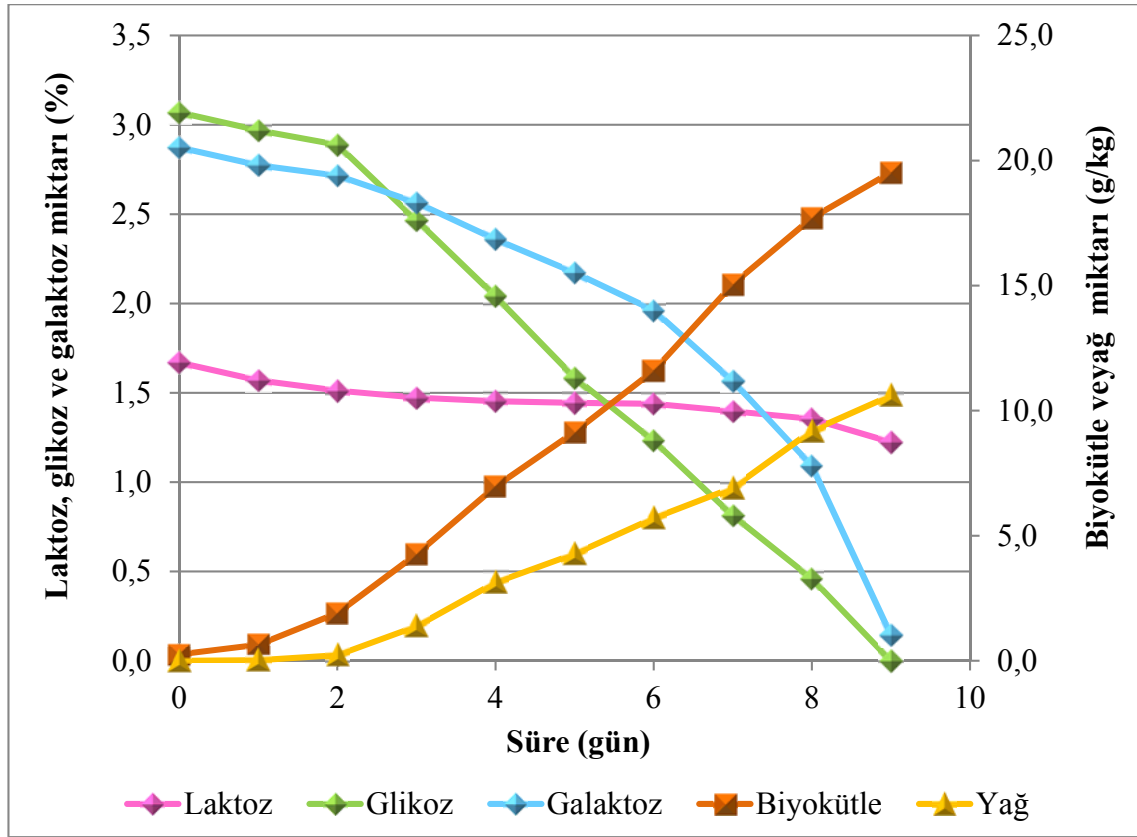
Çizelge 4.14. Laktoz içeriği %8 olan laktaz enzimi uygulanmış DP-PSP'de *Mortierella ramanniana* ile gerçekleştirilen fermentasyonda üretilen ortalama biyokütle ve yağ miktarları ile DP-PSP'de kalan laktoz, glikoz ve galaktoz değerleri ($X \pm SD$) ve bu değerlere ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları

Süre (gün)	Laktoz (%)	Glikoz (%)	Galaktoz (%)	Biyokütle (g/kg)	Yağ (g/kg)
0	1.67 ^a ±0.00	3.07 ^a ±0.00	2.87 ^a ±0.00	0.26 ⁱ ±0.03	0.00 ^j ±0.00
1	1.57 ^b ±0.03	2.97 ^{ab} ±0.02	2.77 ^a ±0.11	0.65 ⁱ ±0.07	0.02 ^j ±0.00
2	1.51 ^b ±0.08	2.89 ^b ±0.01	2.72 ^{ab} ±0.07	1.91 ^h ±0.07	0.23 ^h ±0.05
3	1.47 ^{bc} ±0.07	2.47 ^{bc} ±0.08	2.56 ^b ±0.03	4.27 ^e ±0.28	1.38 ^e ±0.12
4	1.45 ^c ±0.06	2.04 ^c ±0.13	2.36 ^{bc} ±0.05	6.97 ^f ±0.62	3.13 ^f ±0.34
5	1.44 ^c ±0.05	1.58 ^d ±0.17	2.17 ^c ±0.04	9.15 ^e ±0.29	4.28 ^e ±0.09
6	1.44 ^c ±0.05	1.23 ^c ±0.18	1.96 ^{cd} ±0.01	11.60 ^d ±0.43	5.71 ^d ±0.31
7	1.40 ^{cd} ±0.02	0.81 ^f ±0.12	1.57 ^d ±0.08	15.06 ^e ±0.21	6.92 ^c ±0.33
8	1.35 ^d ±0.02	0.46 ^g ±0.08	1.09 ^e ±0.14	17.71 ^b ±0.49	9.20 ^b ±0.55
9	1.22 ^e ±0.06	0.00 ^h ±0.00	0.14 ^f ±0.04	19.54 ^a ±0.70	10.61 ^a ±0.89

Aynı sütunda farklı harfleri taşıyan değerler arasındaki fark önemlidir ($P < 0.05$)
 $X \pm SD$: ortalama±standart sapma

%8 oranında laktoz içeren laktaz enzimi uygulanmış DP-PSP'nin fermentasyonu sonucunda, DP-PSP'de kalan ortalama laktoz miktarının %1.67 ile %1.22 arasında değiştiği ve fermentasyon süresince azaldığı belirlenmiştir. Laktoz miktarındaki bu azalmanın fermentasyonun sadece 0. ile 1. ve 8. ile 9. günleri arasında önemli düzeyde olduğu ($P < 0.05$) tespit edilmiştir. DP-PSP'de kalan ortalama glikoz miktarının %3.07 ile %0.00 arasında değiştiği, fermentasyon süresince azaldığı ve fermentasyonun 9. gününde tamamen tükendiği belirlenmiştir. Ancak glikoz miktarındaki azalmanın fermentasyonun 0. ile 1., 1. ile 2., 2. ile 3. ve 3. ile 4. günleri arasında önemli düzeyde olmadığı ($P > 0.05$) saptanmıştır. DP-PSP'de kalan ortalama galaktoz miktarlarına

bakıldığında, fermentasyon süresince %2.87 ile % 0.14 arasında değiştiği ve giderek azaldığı tespit edilmiştir. Ancak bu azalmanın fermentasyonun sadece 7. ile 8. ve 8. ile 9. günleri arasında önemli düzeyde olduğu ($P<0.05$) belirlenmiştir. %8 oranında laktoz içeren laktaz enzimi uygulanmış DP-PSP'nin fermentasyonu sonucunda oluşan ortalama biyokütle miktarının 0.26-19.54 g/kg arasında değiştiği ve fermentasyon süresince arttığı; bu artışın fermentasyonun bütün günleri arasında önemli düzeyde olduğu ($P<0.05$) tespit edilmiştir. %8 oranında laktoz içeren laktaz enzimi uygulanmış DP-PSP'nin fermentasyonu süresince oluşan ortalama yağ miktarı 0.00-10.61 g/kg arasında değişmiştir. Oluşan yağ miktarındaki artışın fermentasyonun bütün günleri arasında önemli düzeyde olduğu ($P<0.05$) tespit edilmiştir.



Şekil 4.13. Laktoz içeriği %8 olan laktaz enzimi uygulanmış DP-PSP'de *Mortierella ramanniana* ile gerçekleştirilen fermentasyon süresince üretilen biyokütle ve yağ miktarları ile DP-PSP'de kalan laktoz, glikoz ve galaktoz miktarlarındaki değişim

Şekil 4.13'te %8 laktozlu laktaz enzimi uygulanmış DP-PSP'de *Mortierella ramanniana* ile gerçekleştirilen fermentasyon sonucunda fermentasyon süresine bağlı

olarak biyokütle ve yağ miktarları ile laktoz, glikoz ve galaktoz oranlarındaki değişim görülmektedir. Şekil incelendiğinde fermentasyon süresince biyokütle gelişimi ve yağ oluşumunun birbirine paralel olarak arttığı, küf hücrelerinin gelişimini sürdürürken bir yandan da yağ üretimini gerçekleştirdiği görülmektedir. Örneklerde fermentasyonun ilk gününden itibaren yağ oluşumu meydana gelmiş, ancak ilk günlerde artış yavaş olmuştur. Şekil incelendiğinde küf hücrelerinin gelişme eğrisinde durağan faza girmediği, logaritmik gelişme fazında üremeye devam ettiği, glikozu ve galaktozu hızla tükettiği, fermentasyonun son gününde laktoz kullanımına yöneldiği görülmektedir. Durağan faza girmemiş olan küf hücrelerinin rezerve lipitlerini kullanmadığı, tam tersi yağ miktarının arttığı ortadadır. Fermentasyon sürecinin geneline bakıldığında şeker tüketiminde birinci sırada glikozun, daha sonra galaktoz ve son olarak laktozun tercih edildiği açıkça görülmektedir.

4.3.5. Laktoz içeriği %12 olan DP-PSP'nin fermentasyonu süresince üretilen biyokütle ve yağ miktarları ile DP-PSP'de kalan laktoz miktarı

Laktoz içeriği %12 olan DP-PSP kullanılarak *Mortierella ramanniana* ile gerçekleştirilen üretimde fermentasyon süresinin üretilen biyokütle ve yağ miktarları ile DP-PSP'de kalan laktoz miktarı ortalamalarına ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları Çizelge 4.15'de verilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, biyokütle miktarı fermentasyon işleminin 9. gününde en yüksek düzeye (12.25 g/kg), fermentasyon sonucunda elde edilen yağ da yine 9. günde en yüksek seviyeye (3.97 g/kg) ulaşmıştır. Fermentasyon işlemi sonucunda DP-PSP'de büyük miktarda laktoz (% 8.97) küf hücreleri tarafından tüketilmeden kalmıştır. Bunun sebebinin de küfün gelişme eğrisinde logaritmik üreme döneminde bulunmasından ve henüz durağan faza girilmeden fermentasyonun sonlandırılmış olmasından kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Başlangıçta %12.00 olan laktoz oranı fermentasyon sonunda %8.97'ye düşmüş olup fermentasyon boyunca %3.03 oranında laktoz tüketilmiştir. Bu da toplam laktozun yaklaşık %25'ine karşılık gelmektedir. Yani fermentasyon sonunda laktozun yaklaşık %75'lik büyük bir kısmı tüketilmeden DP-PSP'de kalmıştır. Fermentasyon süresince kuru biyokütlerde yağ oranı artış göstermiş; en yüksek düzeye 9. günde (%32.40) ulaşılmıştır.

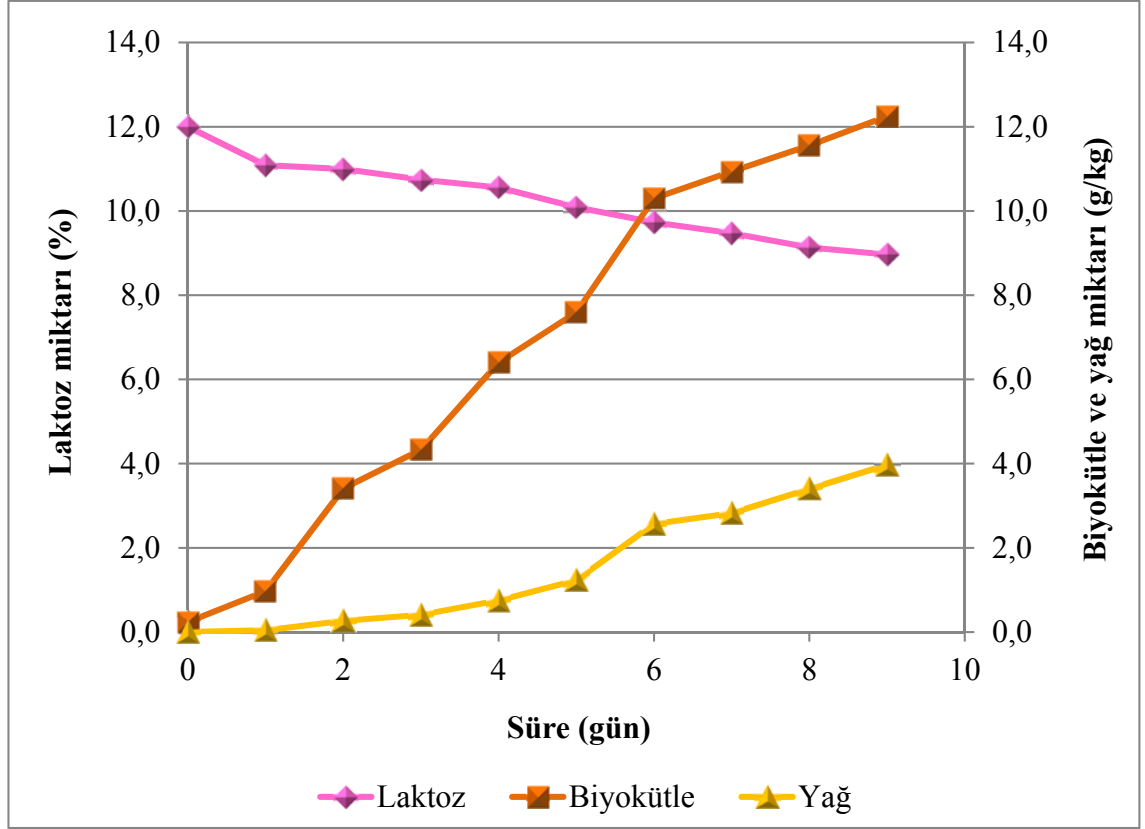
Çizelge 4.15. Laktoz içeriği %12 olan DP-PSP’de *Mortierella ramanniana* ile gerçekleştirilen fermentasyonda üretilen ortalama biyokütle ve yağ miktarları ile DP-PSP’de kalan laktoz değerleri ($X\pm SD$) ve bu değerlere ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları

Süre (gün)	Laktoz (%)	Biyokütle (g/kg)	Yağ (g/kg)
0	12.00 ^a ±0.00	0.24 ¹ ±0.03	0.00 ¹ ±0.00
1	11.09 ^b ±0.16	0.98 ^h ±0.05	0.04 ¹ ±0.00
2	11.00 ^c ±0.12	3.41 ^g ±0.16	0.27 ^h ±0.02
3	10.74 ^d ±0.07	4.33 ^f ±0.35	0.41 ^g ±0.06
4	10.56 ^e ±0.15	6.40 ^e ±0.40	0.75 ^f ±0.07
5	10.09 ^f ±0.25	7.59 ^d ±0.21	1.23 ^e ±0.08
6	9.73 ^g ±0.21	10.30 ^c ±0.45	2.57 ^d ±0.23
7	9.47 ^h ±0.07	10.94 ^c ±0.54	2.83 ^c ±0.29
8	9.13 ⁱ ±0.12	11.56 ^b ±0.23	3.40 ^b ±0.15
9	8.97 ⁱ ±0.10	12.25 ^a ±0.23	3.97 ^a ±0.24

Aynı sütunda farklı harfleri taşıyan değerler arasındaki fark önemlidir ($P<0.05$)

$X\pm SD$: ortalama±standart sapma

%12 oranında laktoz içeren DP-PSP’nin fermentasyonu süresince, DP-PSP’de kalan ortalama laktoz miktarının azaldığı ve %12.00 ile %8.97 arasında değiştiği, laktoz miktarındaki bu azalmanın fermentasyonun sadece 8. ile 9. günleri arasında önemli düzeyde olmadığı ($P>0.05$) diğer günler arasında ise önemli düzeyde olduğu ($P<0.05$) saptanmıştır. %12 oranında laktoz içeren DP-PSP’nin fermentasyonu süresince oluşan ortalama biyokütle miktarının arttığı ve 0.24-12.25 g/kg arasında değiştiği saptanmıştır. Oluşan biyokütle miktarındaki artışın fermentasyonun sadece 6. ile 7. günleri arasında arasında önemli düzeyde olmadığı ($P>0.05$) tespit edilmiştir. %12 oranında laktoz içeren DP-PSP’nin fermentasyonu süresince oluşan ortalama yağ miktarı 0.00-3.97 g/kg arasında değişmiştir. Fermentasyon işlemi süresince oluşan yağ miktarının arttığı; bu artışın fermentasyonun sadece 0. ile 1. günleri arasında önemli olmadığı ($P>0.05$) bulunmuştur. Bu durum DP-PSP’nin başlangıç kurumaddesinin içerdiği azotun henüz tükenmemiş olmasından kaynaklanabileceği şeklinde değerlendirilmektedir.



Şekil 4.14. Laktoz içeriği %12 olan DP-PSP’de *Mortierella ramanniana* ile gerçekleştirilen fermentasyon süresince üretilen biyokütle ve yağ miktarları ile DP-PSP’de kalan laktoz miktarındaki değişim

Şekil 4.14’te %12 laktozlu DP-PSP’de *Mortierella ramanniana* ile gerçekleştirilen fermentasyon sonucunda fermentasyon süresine bağlı olarak biyokütle ve yağ miktarları ile laktoz oranlarındaki değişim görülmektedir. Örneklerde fermentasyonun ilk gününden itibaren yağ oluşumunun meydana geldiği görülmektedir. Fermentasyon süresince biyokütle oluşumu sürerken aynı zamanda yağ üretimi de gerçekleştirilmiştir. Ancak önceki fermentasyonlara göre üretilen yağ miktarı daha düşük bulunmuştur. Özellikle ilk dört günde yağ üretiminin nispeten düşük seyrettiği görülmektedir. Laktoz tüketimine karşı yüksek miktarlarda biyokütle oluşumu gerçekleşmiştir. Bunun yanında üretilen yağ miktarı da tatminkar düzeydedir. Kuru biyokütlerde yağ miktarına ait değerler ise fermentasyon sonuna kadar artış göstermektedir. Laktozun büyük oranlarda tüketilmeden kalması, tüketim hızında bir değişiklik olmaması ve biyokütle ve yağ miktarlarında da artışın devam etmesi küfün gelişme eğrisinde logaritmik fazda bulunduğunu ve durağan faza geçmediğini göstermektedir. DP-PSP’nin bu yüksek kurumadde düzeyinde bile küf hücrelerinin

gelişmeye devam edebildiği, herhangi bir inhibitör unsurun oluşmadığı anlaşılmaktadır. Dolayısıyla bu fermentasyon işleminde substrat kullanımı ve yağ üretimi baz alındığında fermentasyon süresinin yeterli olmadığı, işlemin devam ettirilmesi gerektiği görülmektedir.

4.3.6. Laktoz içeriği %12 olan laktaz enzimi uygulanmış DP-PSP'nin fermentasyonu süresince üretilen biyokütle ve yağ miktarları ile DP-PSP'de kalan laktoz, glikoz ve galaktoz miktarları

Laktoz içeriği %12 olan laktaz enzimi uygulanmış DP-PSP kullanılarak *Mortierella ramanniana* ile gerçekleştirilen üretimde fermentasyon süresinin üretilen ortalama biyokütle ve yağ miktarları ile DP-PSP'de kalan laktoz, glikoz ve galaktoz miktarlarına ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları Çizelge 4.16'da verilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, biyokütle miktarının fermentasyon işleminin 9. gününde en yüksek düzeye (13.93 g/kg) ulaştığı; fermentasyon süresince elde edilen yağ miktarının da yine 9. günde en yüksek seviyede (6.58 g/kg) olduğu belirlenmiştir. Fermentasyon işleminin sonunda DP-PSP'de fazla miktarlarda laktoz (%2.23), glikoz (%2.38) ve galaktoz (%2.89) kullanılmadan kalmıştır. Küf hücrelerinin logaritmik gelişme fazında olduğu, henüz daha durağan faza girilmeden fermentasyonun sonlandırıldığı anlaşılmaktadır. Bu yüzden ortamda fazla miktarda laktoz, glikoz ve galaktoz kullanılmadan kalmıştır. Başlangıçta %2.67 olan laktoz oranı fermentasyon sonunda %2.23'e düşmüş olup, fermentasyon boyunca küf hücreleri tarafından toplam %0.44 oranında laktoz tüketilmiştir. Bu da toplam laktozun yaklaşık %16'sına denk gelmektedir. Farklı bir ifade ile fermentasyon sonunda laktozun yaklaşık %84'lük kısmı tüketilmeden DP-PSP'de kalmıştır. Başlangıçta %4.64 olan glikoz oranı fermentasyon sonunda %2.38'e düşmüş olup, fermentasyon boyunca küf hücreleri tarafından toplam %2.26 oranında glikoz tüketilmiştir. Bunun da toplam glikozun yaklaşık %49'unu oluşturduğu, fermentasyon sonunda glikozun yaklaşık %51'lik kısmının tüketilmeden DP-PSP'de kaldığı belirlenmiştir. Başlangıçta %4.06 olan galaktoz oranı fermentasyon sonunda %2.89'a düşmüş olup, fermentasyon boyunca küf hücreleri tarafından toplam %1.17 oranında galaktoz tüketilmiştir. Sonuçta fermentasyon sonunda toplam galaktozun yaklaşık %29'u tüketilmiş, ancak yaklaşık %71'lik kısmı tüketilmeden DP-

PSP’de kalmıştır. Her üç şekerin de bulunduğu DP-PSP ortamında şeker tüketim tercihi ele alındığında, ilk sırada glikozun geldiği, bunu galaktozun izlediği ve son olarak da laktozun yer aldığı görülmektedir. Fermentasyon süresince kuru biyokütlede yağ oranı artış göstermiş ve fermentasyonun 9. gününde en yüksek düzeye (%47.25) ulaşmıştır.

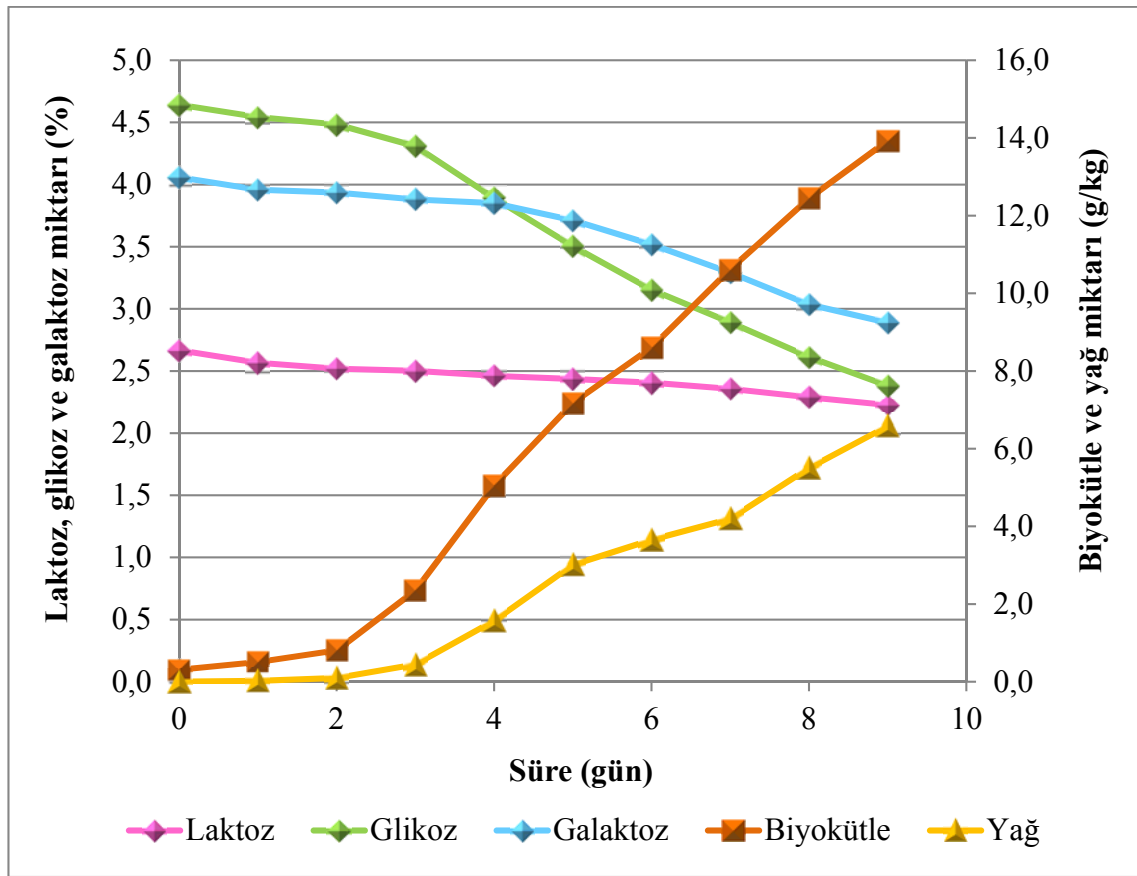
Çizelge 4.16. Laktoz içeriği %12 olan laktaz enzimi uygulanmış DP-PSP’de *Mortierella ramanniana* ile gerçekleştirilen fermentasyonda üretilen ortalama biyokütle ve yağ miktarları ile DP-PSP’de kalan laktoz, glikoz ve galaktoz değerleri (X±SD) ve bu değerlere ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları

Süre (gün)	Laktoz (%)	Glikoz (%)	Galaktoz (%)	Biyokütle (g/kg)	Yağ (g/kg)
0	2.67 ^a ±0.00	4.64 ^a ±0.00	4.06 ^a ±0.00	0.31 ⁱ ±0.06	0.00 ⁱ ±0.00
1	2.57 ^a ±0.08	4.54 ^{ab} ±0.03	3.96 ^{ab} ±0.07	0.51 ^{hi} ±0.13	0.02±0.01
2	2.52 ^{ab} ±0.08	4.48 ^b ±0.03	3.94 ^b ±0.07	0.81 ^h ±0.33	0.10 ^h ±0.05
3	2.50 ^b ±0.06	4.310 ^c ±0.07	3.88 ^{bc} ±0.11	2.35 ^g ±0.79	0.45 ^g ±0.13
4	2.46 ^{bc} ±0.04	3.89 ^d ±0.10	3.85 ^c ±0.08	5.05 ^f ±0.58	1.57 ^f ±0.22
5	2.44 ^c ±0.02	3.50 ^e ±0.07	3.71 ^d ±0.11	7.18 ^e ±0.54	3.01 ^e ±0.33
6	2.40 ^c ±0.02	3.15 ^f ±0.10	3.52 ^e ±0.07	8.61 ^d ±0.19	3.66 ^d ±0.20
7	2.36 ^{cd} ±0.01	2.89 ^g ±0.10	3.29 ^{ef} ±0.12	10.62 ^c ±0.21	4.20 ^c ±0.29
8	2.29 ^d ±0.06	2.61 ^g ±0.10	3.04 ^f ±0.16	12.45 ^b ±0.14	5.50 ^b ±0.18
9	2.23 ^d ±0.04	2.38 ^h ±0.06	2.89 ^g ±0.16	13.93 ^a ±0.14	6.58 ^a ±0.26

Aynı sütunda farklı harfleri taşıyan değerler arasındaki fark önemlidir ($P<0.05$)
X±SD: ortalama±standart sapma

%12 oranında laktoz içeren laktaz enzimi uygulanmış DP-PSP’nin fermentasyonu sonucunda, DP-PSP’de kalan ortalama laktoz miktarının %2.67 ile %2.23 arasında değiştiği ve fermentasyon süresince azaldığı belirlenmiştir. Ancak laktoz miktarındaki bu azalmanın fermentasyonun günleri arasında önemli düzeyde olmadığı ($P>0.05$) saptanmıştır. DP-PSP’de kalan ortalama glikoz miktarının %4.64 ile %2.38 arasında değiştiği, fermentasyon süresince azaldığı ve bu azalmanın fermentasyonun 0. ile 1., 1. ile 2., ve 7. ile 8. günleri arasında önemli düzeyde olmadığı ($P>0.05$) belirlenmiştir. DP-PSP’de kalan ortalama galaktoz miktarlarına bakıldığında, fermentasyon süresince %4.06 ile % 2.89 arasında değiştiği ve giderek azaldığı tespit edilmiştir. Bu azalmanın fermentasyonun 4. ile 5., 5. ile 6. ve 8. ile 9. günleri arasında önemli düzeyde olduğu ($P<0.05$) ve belirlenmiştir. %12 oranında laktoz içeren laktaz

enzimi uygulanmış DP-PSP'nin fermentasyonu sonucunda oluşan ortalama biyokütle miktarının 0.31-13.93 g/kg arasında değiştiği ve fermentasyonun 9. gününe kadar arttığı; bu artışın fermentasyonun sadece 0. ile 1. ve 1. ile 2. günleri arasında önemli düzeyde olmadığı ($P>0.05$) tespit edilmiştir. %12 oranında laktoz içeren laktaz enzimi uygulanmış DP-PSP'nin fermentasyonu sonucunda oluşan ortalama yağ miktarı 0.00-6.58 g/kg arasında değişmiştir. Oluşan yağ miktarının fermentasyon işleminin sonuna kadar her gün artış gösterdiği ve bu artışın fermentasyonun bütün günleri arasında önemli düzeyde olduğu ($P<0.05$) saptanmıştır.



Şekil 4.15. Laktoz içeriği %12 olan laktaz enzimi uygulanmış DP-PSP'de *Mortierella ramanniana* ile gerçekleştirilen fermentasyon süresince üretilen biyokütle ve yağ miktarları ile DP-PSP'de kalan laktoz, glikoz ve galaktoz miktarlarındaki değişim

Şekil 4.15'de %12 laktozlu laktaz enzimi uygulanmış DP-PSP'de *Mortierella ramanniana* ile gerçekleştirilen fermentasyon sonucunda fermentasyon süresine bağlı olarak biyokütle ve yağ miktarları ile laktoz, glikoz ve galaktoz oranlarındaki değişim

görülmektedir. Şekil incelendiğinde fermentasyonun ilk günlerinde biyokütle ve yağ oluşumunun düşük düzeylerde seyrettiği ancak 2. günden sonra artarak devam ettiği görülmektedir. Biyokütle ve yağ oluşumunun birlikte meydana geldiği yani küf hücrelerinin gelişimini sürdürürken lipit birikimini de gerçekleştirdiği anlaşılmaktadır. Fermentasyonun ilk günlerindeki yavaş üretim hızları küf hücrelerinin DP-PSP'nin başlangıç kurumaddesinin yüksek olmasından dolayı ortam şartlarına adaptasyon dönemi geçirdiği şeklinde değerlendirilmektedir. Üretilen yağ miktarının fermentasyonun 9. gününde en yüksek düzeye eriştiği görülmektedir. Kuru biyokütlerde yağ miktarına ait değerlere bakıldığında 7. günde azalma görülmüş ancak diğer bütün günlerde artış meydana gelmiştir.

Şekil incelendiğinde küf hücrelerinin fermentasyonun ilk günlerinde adaptasyon dönemi geçirdiği, daha sonra logaritmik gelişme fazında çoğalmaya devam ettiği görülmektedir. Fermentasyon sonlandırılana kadar hücreler durağan faza geçmemiştir. Fermentasyonun başlarındaki adaptasyon döneminde glikoz, galaktoz ve laktozun tüketim hızları düşük seyretmiş, üretilen biyokütle ve yağ miktarları da nispeten düşük kalmıştır. Ancak fermentasyonun 3. gününden sonra küf hücrelerinin logaritmik gelişme fazına geçmesiyle birlikte önce glikozun tüketim hızında daha sonra glikoz oranının, galaktoz düzeyinin altına düşmesiyle birlikte galaktozun tüketim hızında artış meydana gelmiştir. Fakat laktozun tüketim hızında ise fermentasyonun sonuna kadar önemli bir değişiklik olmamıştır. Bu fermentasyon işleminin çok erken sonlandırıldığı, laktoz, glikoz ve galaktozun her birisinin de ortamda en az yarısının kullanılmadan kaldığı anlaşılmaktadır. *Mortierella ramanniana* küfünün yüksek kurumadde içeren bu DP-PSP'de hızlı bir gelişim gösteremediği düşünülmektedir. Özellikle fermentasyonun başındaki adaptasyon dönemi, 9 günlük fermentasyon süresinin yeterli olmamasındaki sebeplerden biri olarak yorumlanabilir. Bu fermentasyon işleminde de ilk sırada glikoz kullanımının tercih edildiği, daha sonra galaktoz kullanımı ve bunu da laktoz kullanımının takip ettiği görülmektedir.

4.3.7. Laktoz içeriği %16 olan DP-PSP'nin fermentasyonu süresince üretilen biyokütle ve yağ miktarları ile DP-PSP'de kalan laktoz miktarı

Laktoz içeriği %16 olan DP-PSP kullanılarak *Mortierella ramanniana* ile gerçekleştirilen üretimde fermentasyon süresinin üretilen biyokütle ve yağ miktarları ile DP-PSP'de kalan laktoz miktarı ortalamalarına ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları Çizelge 4.17'de verilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, biyokütle miktarı fermentasyon işleminin 9. gününde en yüksek düzeye (6.81 g/kg), fermentasyon sonucunda elde edilen yağ da yine 9. günde en yüksek seviyeye (0.92 g/kg) ulaşmıştır. Fermentasyon işleminin sonucunda DP-PSP'de fazla miktarda laktoz (% 14.46) küf hücreleri tarafından tüketilmeden kalmıştır. Bunun sebebinin de küfün gelişme eğrisinde logaritmik üreme fazında bulunmasından ve henüz durağan faza girilmeden fermentasyonun sonlandırılmış olmasından kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Başlangıçta %16.00 olan laktoz oranı fermentasyon sonunda %14.46'a düşmüş olup fermentasyon boyunca %1.54 oranında laktoz tüketilmiştir. Bu da toplam laktozun yaklaşık %10'unu oluşturmaktadır. Yani fermentasyon sonunda laktozun yaklaşık %90'lık büyük bir kısmı tüketilmeden DP-PSP'de kalmıştır. Fermentasyon süresince kuru biyoküttelede yağ oranı artış göstermiş; en yüksek düzeye 8. günde (%13.83) ulaşmıştır. Kuru biyoküttelede yağ oranı 9. günde bir miktar azalma göstermiştir.

%16 oranında laktoz içeren DP-PSP'nin fermentasyonu süresince, DP-PSP'de kalan ortalama laktoz miktarının azaldığı ve %16.00 ile %14.46 arasında değiştirdiği tespit edilmiştir. Ancak laktoz miktarındaki bu azalmanın fermentasyonun sadece 0. ile 1. günleri arasında önemli düzeyde olduğu ($P<0.05$) saptanmıştır. %16 oranında laktoz içeren DP-PSP'nin fermentasyonu süresince oluşan ortalama biyokütle miktarının arttığı ve 0.20-6.81 g/kg arasında değiştirdiği belirlenmiştir. Oluşan biyokütle miktarındaki artışın fermentasyonun bütün günleri arasında önemli düzeyde olduğu ($P<0.05$) tespit edilmiştir. %16 oranında laktoz içeren DP-PSP'nin fermentasyonu süresince oluşan ortalama yağ miktarı 0.00-0.92 g/kg arasında değişmiştir. Fermentasyon işleminin süresince oluşan yağ miktarının arttığı; bu artışın fermentasyonun sadece 0. ile 1. günleri arasında önemli olmadığı ($P>0.05$) bulunmuştur. *Mortierella ramanniana* ile gerçekleştirilen %16 oranında laktoz içeren DP-PSP'nin bu fermentasyonunda

biyokütle artışının fermentasyonun ilk günlerinden itibaren yüksek düzeylerde gerçekleşmiş ve bu artışın fermentasyonun bütün günleri arasında önemli düzeyde bulunmuş olmasına rağmen üretilen yağ miktarı düşük düzeylerde gerçekleşmiştir. DP-PSP'nin başlangıç kurumaddesinin yüksek oluşu kullanılan *Mortierella ramanniana*'nın yağ üretimini sınırladığı düşünülmektedir.

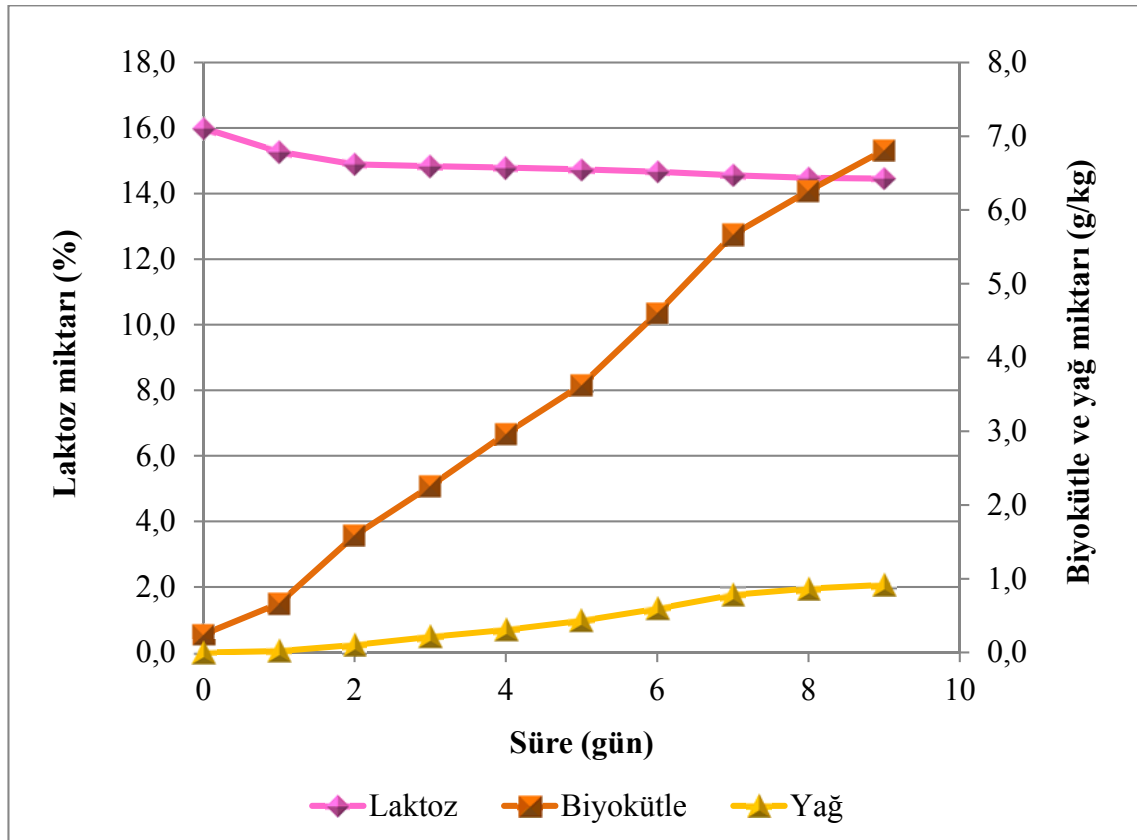
Çizelge 4.17. Laktoz içeriği %16 olan DP-PSP'de *Mortierella ramanniana* ile gerçekleştirilen fermentasyonda üretilen ortalama biyokütle ve yağ miktarları ile DP-PSP'de kalan laktoz değerleri ($X \pm SD$) ve bu değerlere ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları

Süre (gün)	Laktoz (%)	Biyokütle (g/kg)	Yağ (g/kg)
0	16.00 ^a ±0.00	0.20 ⁱ ±0.00	0.00 ^l ±0.00
1	14.98 ^b ±0.03	0.67 [±] 0.10	0.02 ^l ±0.00
2	14.89 ^b ±0.07	1.59 ^h ±0.31	0.10 ^h ±0.03
3	14.84 ^b ±0.10	2.26 ^e ±0.12	0.21 ^g ±0.05
4	14.79 ^b ±0.11	2.97 ^f ±0.06	0.31 ^f ±0.07
5	14.74 ^{bc} ±0.14	3.63 ^e ±0.21	0.43 ^e ±0.06
6	14.67 ^c ±0.13	4.61 ^d ±0.26	0.60 ^d ±0.05
7	14.56 ^c ±0.13	5.67 ^c ±0.21	0.78 ^c ±0.05
8	14.48 ^{cd} ±0.12	6.26 ^b ±0.25	0.87 ^b ±0.07
9	14.46 ^d ±0.13	6.81 ^a ±0.15	0.92 ^a ±0.06

Aynı sütunda farklı harfleri taşıyan değerler arasındaki fark önemlidir ($P < 0.05$)
 $X \pm SD$: ortalama±standart sapma

Şekil 4.16'da %16 laktozlu DP-PSP'de *Mortierella ramanniana* ile gerçekleştirilen fermentasyon sonucunda fermentasyon süresine bağlı olarak biyokütle ve yağ miktarları ile laktoz oranlarındaki değişim görülmektedir. Şekil incelendiğinde fermentasyon süresince mikroorganizmanın, gelişimini sürdürürken bir yandan da yağ üretimini gerçekleştirdiği, örneklerde fermentasyonun ilk gününden itibaren yağ oluşumunun sağlandığı ancak üretilen yağ miktarının fermentasyon süresince oldukça düşük seyrettiği görülmektedir. Kuru biyokütlerde yağ oranlarına ait değerlere bakıldığında, bu değerlerin de oldukça düşük olduğu, 8. günde en yüksek değeri olan %13.83'e ulaşmış sonra 9. günde azaldığı anlaşılmaktadır. Kuru biyokütlerdeki %13.83 yağ oranı, gerçekleştirilen bütün fermentasyonlar içinde en düşük değerdir. Laktoz kullanımına bakıldığında bütün laktozun yaklaşık %10'nun kullanılabilirdiği, ortamda

büyük miktarlarda laktozun kullanılmadan kaldığı, fermentasyon işleminin çok yavaş ilerlediği görülmektedir. Ancak laktoz tüketiminin duraksamadan devam etmesi ve fermentasyon sonunda büyük oranlarda tüketilmeden kalması, biyokütle ve yağ miktarlarındaki artışın da devam etmesi küfün gelişme eğrisinde logaritmik gelişme fazında bulunduğunu ve durağan faza geçmemiş olduğunu ortaya koymaktadır. Dolayısıyla bu fermentasyon işleminin de erken sonlandırılmış olduğu düşünülmektedir.



Şekil 4.16. Laktoz içeriği %16 olan DP-PSP’de *Mortierella ramanniana* ile gerçekleştirilen fermentasyon süresince üretilen biyokütle ve yağ miktarları ile DP-PSP’de kalan laktoz miktarındaki değişim

4.3.8. Laktoz içeriği %16 olan laktaz enzimi uygulanmış DP-PSP’nin fermentasyonu süresince üretilen biyokütle ve yağ miktarları ile DP-PSP’de kalan laktoz, glikoz ve galaktoz miktarları

Laktoz içeriği %16 olan laktaz enzimi uygulanmış DP-PSP kullanılarak *Mortierella ramanniana* ile gerçekleştirilen üretimde fermentasyon süresinin üretilen ortalama biyokütle ve yağ miktarları ile DP-PSP’de kalan laktoz, glikoz ve galaktoz

miktarlarına ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları Çizelge 4.18’de verilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, biyokütle miktarının fermentasyon işleminin 9. gününde en yüksek düzeye (11.75 g/kg) ulaştığı; fermentasyon süresince elde edilen yağ miktarının da yine 9. günde en yüksek seviyede (5.65 g/kg) olduğu belirlenmiştir. Fermentasyon işleminin sonunda DP-PSP’de büyük miktarlarda laktoz (%2.82), glikoz (%4.06) ve galaktoz (%3.84) kullanılmadan kalmıştır. Üretilen biyokütle ve yağ miktarlarına bakıldığında küf hücrelerinin durağan faza girme eğilimi gösterdiği anlaşılmaktadır. Bu nedenle laktoz, glikoz ve galaktozun tamamı kullanılmadan fermentasyonun sonlandırıldığı anlaşılmaktadır. DP-PSP’nin yüksek kurumadde düzeylerinde gerçekleştirilen bu fermentasyon işleminde *Mortierella ramanniana* hücrelerinin ortam şartlarına adaptasyonda zorlandığı görülmektedir. Başlangıçta %3.25 olan laktoz oranı fermentasyon sonunda %2.82’ye düşmüş, fermentasyon boyunca küf hücreleri tarafından toplam %0.43 oranında laktoz tüketilmiştir. Tüketilen bu miktar toplam laktozun yaklaşık %13’ünü oluşturmaktadır. Fermentasyon sonunda laktozun yaklaşık %87’lik kısmı tüketilmeden DP-PSP’de kalmıştır. Başlangıçta %5.93 olan glikoz oranı fermentasyon sonunda %4.06’ya düşmüş olup, fermentasyon boyunca küf hücreleri tarafından toplam %1.87 oranında glikoz tüketilmiştir. Bunun da toplam glikozun yaklaşık %32’sini oluşturduğu, fermentasyon sonunda glikozun yaklaşık %68’lik kısmının tüketilmeden DP-PSP’de kaldığı belirlenmiştir. Başlangıçta %4.91 olan galaktoz oranı fermentasyon sonunda %3.84’e düşmüş olup, fermentasyon boyunca küf hücreleri tarafından toplam %1.07 oranında galaktoz tüketilmiştir. Bunun da toplam galaktozun yaklaşık %22’sini oluşturduğu, fermentasyon sonunda galaktozun yaklaşık %78’lik kısmının tüketilmeden DP-PSP’de kaldığı belirlenmiştir. Fermentasyon sonunda DP-PSP’de bulunan şekerlerin başlangıç miktarlarına göre tüketim oranları dikkate alındığında, ilk sırada glikozun, sonra galaktozun ve en son olarak da laktozun tercih edildiği görülmektedir. Fermentasyon süresince kuru biyoküttelede yağ oranı artış göstermiş ve fermentasyonun 9. gününde en yüksek düzeye (%48.09) ulaşmıştır.

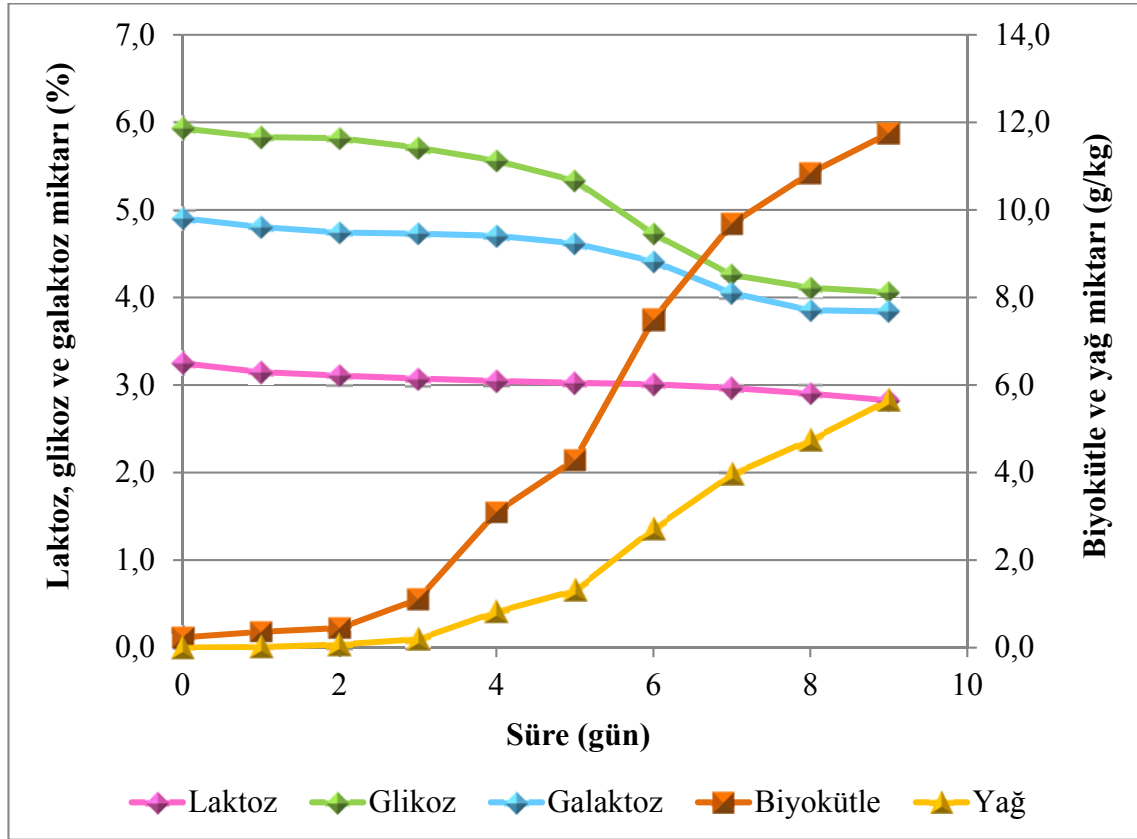
Çizelge 4.18. Laktoz içeriği %16 olan laktaz enzimi uygulanmış DP-PSP’de *Mortierella ramanniana* ile gerçekleştirilen fermentasyonda üretilen ortalama biyokütle ve yağ miktarları ile DP-PSP’de kalan laktoz, glikoz ve galaktoz değerleri ($X \pm SD$) ve bu değerlere ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları

Süre (gün)	Laktoz (%)	Glikoz (%)	Galaktoz (%)	Biyokütle (g/kg)	Yağ (g/kg)
0	3.25 ^a ±0.00	5.93 ^a ±0.00	4.91 ^a ±0.00	0.24 ^{ab} ±0.03	0.00±0.00
1	3.15 ^{ab} ±0.04	5.83 ^{ab} ±0.06	4.81 ^b ±0.05	0.36 ^e ±0.05	0.01 ^h ±0.00
2	3.11 ^b ±0.01	5.82 ^b ±0.05	4.74 ^c ±0.05	0.45 ^e ±0.13	0.07 ^h ±0.07
3	3.07 ^b ±0.02	5.71 ^c ±0.07	4.73 ^c ±0.05	1.11 ^f ±0.04	0.20 ^e ±0.01
4	3.05 ^{bc} ±0.02	5.56 ^d ±0.05	4.70 ^c ±0.04	3.10 ^e ±0.38	0.82 ^f ±0.12
5	3.03 ^c ±0.01	5.34 ^e ±0.03	4.62 ^d ±0.03	4.30 ^d ±0.07	1.31 ^e ±0.06
6	3.01 ^{cd} ±0.01	4.73 ^f ±0.05	4.41 ^e ±0.11	7.50 ^c ±0.61	2.72 ^d ±0.26
7	2.97 ^d ±0.03	4.26 ^g ±0.06	4.05 ^f ±0.03	9.69 ^b ±0.13	3.95 ^c ±0.12
8	2.90 ^{de} ±0.01	4.11 ^h ±0.10	3.85 ^g ±0.06	10.85 ^{ab} ±0.72	4.75 ^b ±0.33
9	2.82 ^e ±0.06	4.06 ^h ±0.11	3.84 ^g ±0.07	11.75 ^a ±0.13	5.65 ^a ±0.20

Aynı sütunda farklı harfleri taşıyan değerler arasındaki fark önemlidir ($P < 0.05$)
 $X \pm SD$: ortalama±standart sapma

%16 oranında laktoz içeren laktaz enzimi uygulanmış DP-PSP’nin fermentasyonu sonucunda, DP-PSP’de kalan ortalama laktoz miktarının %3.25 ile %2.82 arasında değiştiği ve fermentasyon süresince azaldığı belirlenmiştir. Ancak laktoz miktarındaki bu azalmanın fermentasyonun günleri arasında önemli düzeyde olmadığı ($P > 0.05$) saptanmıştır. DP-PSP’de kalan ortalama glikoz miktarının %5.93 ile %4.06 arasında değiştiği, fermentasyon süresince azaldığı ve bu azalmanın fermentasyonun sadece 0. ile 1., 1. ile 2., ve 8. ile 9. günleri arasında önemli düzeyde olmadığı ($P > 0.05$) tespit edilmiştir. DP-PSP’de kalan ortalama galaktoz miktarlarına bakıldığında, fermentasyon süresince %4.91 ile % 3.84 arasında değiştiği ve giderek azaldığı, bu azalmanın fermentasyonun 2. ile 3., 3. ile 4. ve 8. ile 9. günleri arasında önemli düzeyde olmadığı ($P > 0.05$) belirlenmiştir. Fermentasyon işleminin başında ve sonunda ortamda kalan glikoz ve galaktoz miktarları bakımından günler arasında farklılık olmaması, fermentasyon başında adaptasyon döneminin ve fermentasyon sonunda da durağan faz döneminin gerçekleştiği şeklinde değerlendirilmektedir. %16 oranında laktoz içeren laktaz enzimi uygulanmış DP-PSP’nin fermentasyonu sonucunda oluşan ortalama biyokütle miktarının 0.24-11.75 g/kg arasında değiştiği ve

fermentasyonun 9. gününe kadar arttığı; bu artışın fermentasyonun 0. ile 1., 1. ile 2., 7. ile 8. ve 8. ile 9. günleri arasında önemli düzeyde olmadığı ($P>0.05$) tespit edilmiştir. Glikoz ve galaktoz tüketim miktarına benzer şekilde biyokütle oluşum miktarında da fermentasyon işleminin başında ve sonunda günler arasında farklılık olmaması, fermentasyon başında adaptasyon döneminin ve fermentasyon sonunda da durağan faz döneminin oluşmasından kaynaklandığı şeklinde değerlendirilmektedir. %16 oranında laktoz içeren laktaz enzimi uygulanmış DP-PSP'nin fermentasyonu sonucunda oluşan ortalama yağ miktarı 0.00-5.65 g/kg arasında değişmiştir. Oluşan yağ miktarının fermentasyon işleminin 9. gününe kadar sürekli artış gösterdiği ve bu artışın fermentasyonun sadece 1. ile 2. günleri arasında önemli düzeyde olmadığı ($P>0.05$) belirlenmiştir.



Şekil 4.17. Laktoz içeriği %16 olan laktaz enzimi uygulanmış DP-PSP'de *Mortierella ramanniana* ile gerçekleştirilen fermentasyon süresince üretilen biyokütle ve yağ miktarları ile DP-PSP'de kalan laktoz, glikoz ve galaktoz miktarlarındaki değişim

Şekil 4.17’de %16 laktozlu laktaz enzimi uygulanmış DP-PSP’de *Mortierella ramanniana* ile gerçekleştirilen fermentasyon sonucunda fermentasyon süresine bağlı olarak biyokütle ve yağ miktarları ile laktoz, glikoz ve galaktoz oranlarındaki değişim görülmektedir. Şekil incelendiğinde fermentasyon süresince biyokütle gelişimi ve yağ oluşumuna ait değerlerin paralellik gösterdiği, küf hücrelerinin gelişimini sürdürürken yağ üretimini de gerçekleştirdiği görülmektedir. Ancak hücrelerin fermentasyonun ilk günlerinde ortam şartlarına adaptasyon dönemi geçirdiği, gerek biyokütle oluşum hızının gerekse laktoz, glikoz ve galaktoz tüketim hızlarının oldukça düşük seyrettiği görülmektedir. DP-PSP’nin yüksek başlangıç kuru madde düzeyinin *Mortierella ramanniana*’nın gelişimi için zorlayıcı bir etki gösterdiği düşünülmektedir. Örneklerde fermentasyonun ilk gününden itibaren yağ oluşumunun meydana geldiği, ancak üretilen yağ miktarının oldukça düşük olduğu görülmektedir. Kuru biyokütlerde yağ miktarına ait değerlere bakıldığında ise 9. günde en yüksek düzeyine ulaştığı anlaşılmaktadır. Fermentasyon sonunda üretilen biyokütle ve yağ miktarlarının tatminkâr düzeylerde olduğu görülmektedir. Küf hücrelerinin nispeten uzun süren adaptasyon döneminden sonra logaritmik gelişme fazına geçtiği, fakat diğer fermentasyon işlemlerine göre kısa sürdüğü ve fermentasyonun 7. gününden itibaren durağan faza yöneldiği gözlenmektedir. Bu nedenle glikoz ve galaktoz tüketim hızları ile biyokütle üretim hızı da buna paralel olarak 5. ile 7. günler arasında en yüksek düzeye erişmiş, sonraki günlerde azalma ortaya koymuştur. Durağan faza yönelmenin neticesinde ortamda fazla miktarda laktoz, glikoz ve galaktoz kullanılmadan kalmıştır. Bu aşamada rezerve lipidlerin tüketilmediği görülmektedir. Fermentasyon işleminin durağan faza girmekte olduğu bu nedenle de ortamda kullanılmadan kalan fazla miktarlarda laktoz, glikoz ve galaktozun bulunmasının bu fermentasyon işleminin karbon kaynaklarının kullanılabilirliği bakımından verimli olmadığı düşünülmektedir.

4.3.9. Kontrol besi ortamının fermentasyonu süresince üretilen biyokütle ve yağ miktarları ile besi ortamında kalan glikoz miktarı

Kontrol besi ortamında yürütülen fermentasyon Kavadia vd’nin (2001) yaptıkları çalışma esas alınarak, model sistem olarak gerçekleştirilmiştir. Glikoz içeriği %3 olan kontrol besi ortamı kullanılarak *Mortierella ramanniana* ile gerçekleştirilen üretimde

fermentasyon süresinin üretilen biyokütle ve yağ miktarları ile kontrol besi ortamında kalan glikoz miktarı ortalamalarına ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları Çizelge 4.19'da verilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, biyokütle miktarı fermentasyon işleminin 7. gününde en yüksek düzeye (10.60 g/kg), fermentasyon sonucunda elde edilen yağ da yine 7. günde en yüksek seviyeye (4.82 g/kg) ulaşmıştır. Fermentasyon işlemi sonucunda kontrol besi ortamında glikoz, küf hücreleri tarafından tamamen tüketilmiştir. Bir başka ifade ile başlangıçta besi ortamında bulunan toplam glikozun %100'ü tüketilmiştir. Fermentasyon süresince kuru biyokütlerde yağ oranı artış göstermiş; en yüksek düzeye 7. günde (%45.48) ulaşılmıştır. Kuru biyokütlerde yağ oranı 7. günden sonra giderek azalma göstermiştir.

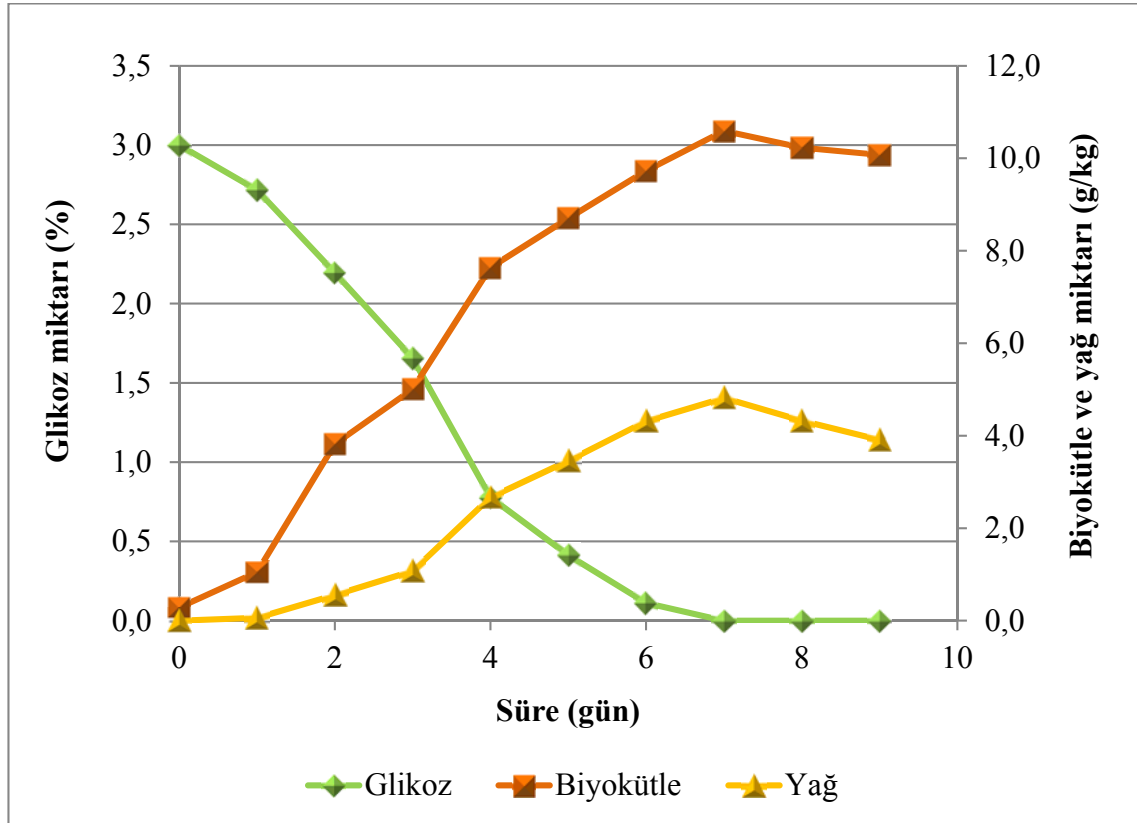
Çizelge 4.19. Kontrol besi ortamında *Mortierella ramanniana* ile gerçekleştirilen fermentasyonda ortalama biyokütle ve yağ üretimi ile glikoz tüketim değerleri ($X \pm SD$) ve bu değerlere ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları

Süre (gün)	Glikoz (%)	Biyokütle (g/kg)	Yağ (g/kg)
0	3.00 ^a ±0.00	0.29 ^e ±0.02	0.00 ^h ±0.00
1	2.72 ^b ±0.05	1.05 ^f ±0.02	0.06 ^g ±0.01
2	2.19 ^c ±0.10	3.82 ^e ±0.18	0.56 ^f ±0.10
3	1.66 ^d ±0.21	5.01 ^d ±0.70	1.08 ^e ±0.30
4	0.78 ^e ±0.10	7.64 ^c ±0.36	2.67 ^d ±0.24
5	0.41 ^f ±0.01	8.71 ^b ±0.27	3.46 ^c ±0.13
6	0.11 ^g ±0.06	9.73 ^a ±0.23	4.32 ^b ±0.19
7	0.00 ^h ±0.00	10.60 ^a ±0.39	4.82 ^a ±0.21
8	0.00 ^h ±0.00	10.23 ^a ±0.55	4.33 ^b ±0.28
9	0.00 ^h ±0.00	10.07 ^a ±0.30	3.91 ^c ±0.20

Aynı sütunda farklı harfleri taşıyan değerler arasındaki fark önemlidir ($P < 0.05$)
 $X \pm SD$: ortalama±standart sapma

%3 oranında glikoz içeren kontrol besi ortamının fermentasyonu süresince, kontrol besi ortamında kalan ortalama glikoz miktarının azaldığı ve %3.00 ile %0.00 arasında değiştiği tespit edilmiştir. Bu azalmanın, glikozun tükendiği güne kadar olan bölümünde fermentasyonun bütün günleri arasında önemli düzeyde olduğu ($P < 0.05$) belirlenmiştir. %3 oranında glikoz içeren kontrol besi ortamının fermentasyonu süresince oluşan ortalama biyokütle miktarının 7. güne kadar arttığı daha sonra azalma

gösterdiği ve 0.29-10.07 g/kg arasında değiştiği saptanmıştır. Oluşan biyokütle miktarında artışın gözleendiği fermentasyonun 7. gününe kadar olan kısmında söz konusu artışın 6. ile 7. günler arası hariç, bütün günler arasında önemli düzeyde ($P<0.05$) olduğu, 7. günden sonraki azalmanın gerçekleştiği kısmında ise bu azalmanın günler arasında önemli düzeyde olmadığı ($P>0.05$) belirlenmiştir. %3 oranında glikoz içeren kontrol besi ortamının fermentasyonu süresince oluşan ortalama yağ miktarı 7. güne kadar artış göstermiş daha sonra azalmış ve 0.00-3.91 g/kg arasında değişmiştir. Ortalama yağ miktarında artışın gözleendiği fermentasyonun 7. gününe kadar olan kısmında söz konusu artışın bu günler arasında önemli düzeyde olduğu ($P<0.05$), fermentasyonun 7. günden sonraki kısmında ise söz konusu azalmanın bu günler arasında yine önemli düzeyde olduğu ($P<0.05$) tespit edilmiştir.



Şekil 4.18. Kontrol besi ortamında *Mortierella ramanniana* ile gerçekleştirilen fermentasyon süresince üretilen biyokütle ve yağ miktarları ile DP-PSP’de kalan glikoz miktarındaki değişim

Şekil 4.18’de %3 glikozlu kontrol besi ortamında *Mortierella ramanniana* ile gerçekleştirilen fermentasyon sonucunda fermentasyon süresine bağlı olarak biyokütle

ve yağ miktarları ile glikoz oranlarındaki değişim görülmektedir. Şekilde fermentasyonun ilk günlerinden itibaren biyokütle ve yağ oluşumunun meydana geldiği, oluşumun eş zamanlı olarak birlikte gerçekleştiği görülmektedir. Bu üretimde tipik bir mikroorganizma gelişme eğrisi görülmektedir. Küf hücreleri ön kültürde 2 günlük bir ön fermentasyon işlemine tabi tutularak besi ortamına aşılınmış, bu yüzden adaptasyon dönemi olmadan direk olarak logaritmik üreme fazında gelişmeleri devam etmiş, son olarak ortamda glikozun tükenmesi ile durağan faza girmiştir. Glikoz tükenmeden önceki periyotta ise glikoz tüketimine karşı büyük miktarlarda biyokütle ve yağ oluşumu gözlenmiştir. Durağan faza girilmesi ile birlikte hem biyokütle miktarında hem de yağ miktarında azalma görülmüştür. Kuru biyokütlerde yağ oranının da bu günlerde azalma göstermesi rezerve lipitlerin tüketildiğini göstermektedir. Ortamda kullanılabilir karbon kaynağının tükenmesi ile birlikte küf hücreleri karbon kaynağı olarak hücrelerinde biriktirdiği lipitleri kullanmaya başlamıştır. Bu fermentasyon işlemi için biyokütle ve yağ miktarları göz önüne alındığında 7. günde işlemin tamamlandığı anlaşılmaktadır.

4.4. Mikrobiyel Yağ Üretiminde Gerçekleştirilen Fermentasyonlara Ait Kinetik Parametrelerin Karşılaştırılması

Mikrobiyel yağ üretimi amacıyla gerçekleştirilen fermentasyonlara ait kinetik parametreler belirlenmiş ve bu parametrelere ait değerler karşılaştırılmıştır.

4.4.1. *Mortierella isabellina* ile gerçekleştirilen fermentasyonlara ait kinetik parametreler

Mikrobiyel yağ üretimi amacıyla *Mortierella isabellina* küfü ile gerçekleştirilen fermentasyonlarda substrat kaynağı olarak kullanılan DP-PSP'lerin farklı kurumadde içeriğinin (%4.5, %8, %12 ve %16 başlangıç laktaz düzeylerinin) ve laktaz enzimi uygulamasının fermentasyonlara ait kinetik parametreler üzerine etkileri ve ayrıca *Mortierella isabellina* küfü ile kontrol besi ortamında gerçekleştirilen üretimdeki fermentasyona ait kinetik parametreler belirlenmiştir. Bu kinetik parametrelere ait değerler Çizelge 4.20'de verilmiştir.

Çizelge 4.20. Farklı bileşimlere sahip DP-PSP'lerde ve kontrol besisi ortamında *Mortierella isabellina* ile gerçekleştirilen fermentasyonlara ait kinetik parametreler

Kinetik Parametreler	DP-PSP'nin laktoz içeriği												Kontrol %3 glikoz
	%4.5 laktoz			%8 laktoz			%12 laktoz			%16 laktoz			
	Laktaz enzimi uygulaması	Yok	Var	Laktaz enzimi uygulaması	Yok	Var	Laktaz enzimi uygulaması	Yok	Var	Laktaz enzimi uygulaması	Yok	Var	
Şeker tüketimi (g/L)	34.32	39.86	64.30	32.49	64.30	99.00	40.05	99.00	93.40	33.96	93.40	30.00	
Yağ üretimi (g/L)	4.16	9.39	11.93	3.26	11.93	13.91	3.84	13.91	18.21	3.88	18.21	6.29	
Verim (Yp/s) (%)	12.11	23.56	18.56	10.02	18.56	14.05	9.58	14.05	19.49	11.42	19.49	20.95	
Laktoz maksimum tüketim hızı (-ds/dt)maks (g/L/gün)	3.52	0.15	0.46	2.03	0.46	0.72	4.96	0.72	1.08	6.64	1.08	-	
Glikoz maksimum tüketim hızı (-ds/dt)maks (g/L/gün)	-	3.99	5.02	-	5.02	8.15	-	8.15	6.48	-	6.48	0.82	
Galaktoz maksimum tüketim hızı (-ds/dt)maks (g/L/gün)	-	3.55	3.36	-	3.36	6.60	-	6.60	1.43	-	1.43	-	
Maksimum üretim hızı (dp/dt)maks (g/L/gün)	0.81	3.16	2.49	0.52	2.49	2.90	0.55	2.90	4.60	0.60	4.60	2.11	
Maksimum gelişme hızı (dx/dt)maks (g/L/gün)	1.23	3.09	3.38	0.91	3.38	2.98	1.43	2.98	3.75	1.52	3.75	2.63	
Spesifik gelişme hızı (gün ⁻¹)	0.19	0.34	0.24	0.15	0.24	0.33	0.31	0.33	0.38	0.30	0.38	0.53	
İkiye katlanma süresi (t ₀) (gün)	3.74	2.05	2.93	4.52	2.93	2.08	2.27	2.08	1.84	2.33	1.84	1.32	

---: Laktaz enzimi uygulaması yok

Elde edilen sonuçlara göre laktoz içeriği %4.5 olan DP-PSP kullanılarak *Mortierella isabellina* ile gerçekleştirilen üretimde toplam şeker tüketimi 34.32 g/L, yağ üretimi 4.16 g/L, verim %12.11, laktozun maksimum tüketim hızı 3.52 g/L/gün, maksimum üretim hızı 0.81 g/L/gün, maksimum gelişme hızı 1.23 g/L/gün, spesifik gelişme hızı 0.19 gün⁻¹, ikiye katlanma süresi 3.74 gün olarak bulunmuştur. Laktoz içeriği %4.5 olan laktaz enzimi uygulanmış DP-PSP kullanılarak *Mortierella isabellina* ile gerçekleştirilen üretimde toplam şeker tüketimi 39.86 g/L, yağ üretimi 9.39 g/L, verim %23.56, laktozun maksimum tüketim hızı 0.15 g/L/gün, glikozun maksimum tüketim hızı 3.99 g/L/gün, galaktozun maksimum tüketim hızı 3.55 g/L/gün, maksimum üretim hızı 3.16 g/L/gün, maksimum gelişme hızı 3.09 g/L/gün, spesifik gelişme hızı 0.34 gün⁻¹, ikiye katlanma süresi 2.05 gün olarak belirlenmiştir.

Laktoz içeriği %8 olan DP-PSP kullanılarak *Mortierella isabellina* ile gerçekleştirilen üretimde toplam şeker tüketimi 32.49 g/L, yağ üretimi 3.26 g/L, verim %10.02, laktozun maksimum tüketim hızı 2.03 g/L/gün, maksimum üretim hızı 0.52 g/L/gün, maksimum gelişme hızı 0.91 g/L/gün, spesifik gelişme hızı 0.15 gün⁻¹, ikiye katlanma süresi 4.52 gün olarak saptanmıştır. Laktoz içeriği %8 olan laktaz enzimi uygulanmış DP-PSP kullanılarak *Mortierella isabellina* ile gerçekleştirilen üretimde toplam şeker tüketimi 64.30 g/L, yağ üretimi 11.93 g/L, verim %18.56, laktozun maksimum tüketim hızı 0.46 g/L/gün, glikozun maksimum tüketim hızı 5.02 g/L/gün, galaktozun maksimum tüketim hızı 3.36 g/L/gün, maksimum üretim hızı 2.49 g/L/gün, maksimum gelişme hızı 3.38 g/L/gün, spesifik gelişme hızı 0.24 gün⁻¹, ikiye katlanma süresi 2.93 gün olarak tespit edilmiştir.

Laktoz içeriği %12 olan DP-PSP kullanılarak *Mortierella isabellina* ile gerçekleştirilen üretimde toplam şeker tüketimi 40.05 g/L, yağ üretimi 3.84 g/L, verim %9.58, laktozun maksimum tüketim hızı 4.96 g/L/gün, maksimum üretim hızı 0.55 g/L/gün, maksimum gelişme hızı 1.43 g/L/gün, spesifik gelişme hızı 0.31 gün⁻¹, ikiye katlanma süresi 2.27 gün olarak bulunmuştur. Laktoz içeriği %12 olan laktaz enzimi uygulanmış DP-PSP kullanılarak *Mortierella isabellina* ile gerçekleştirilen üretimde toplam şeker tüketimi 99.00 g/L, yağ üretimi 13.91 g/L, verim %14.05, laktozun maksimum tüketim hızı 0.72 g/L/gün, glikozun maksimum tüketim hızı 8.15 g/L/gün,

galaktozun maksimum tüketim hızı 6.60 g/L/gün, maksimum üretim hızı 2.90 g/L/gün, maksimum gelişme hızı 2.98 g/L/gün, spesifik gelişme hızı 0.33 gün⁻¹, ikiye katlanma süresi 2.08 gün olarak belirlenmiştir.

Laktoz içeriği %16 olan DP-PSP kullanılarak *Mortierella isabellina* ile gerçekleştirilen üretimde toplam şeker tüketimi 33.96 g/L, yağ üretimi 3.88 g/L, verim %11.42, laktozun maksimum tüketim hızı 6.64 g/L/gün, maksimum üretim hızı 0.60 g/L/gün, maksimum gelişme hızı 1.52 g/L/gün, spesifik gelişme hızı 0.30 gün⁻¹, ikiye katlanma süresi 2.33 gün olarak tespit edilmiştir. Laktoz içeriği %16 olan laktaz enzimi uygulanmış DP-PSP kullanılarak *Mortierella isabellina* ile gerçekleştirilen üretimde toplam şeker tüketimi 93.40 g/L, yağ üretimi 18.21 g/L, verim %19.49, laktozun maksimum tüketim hızı 1.08 g/L/gün, glikozun maksimum tüketim hızı 6.48 g/L/gün, galaktozun maksimum tüketim hızı 1.43 g/L/gün, maksimum üretim hızı 4.60 g/L/gün, maksimum gelişme hızı 3.75 g/L/gün, spesifik gelişme hızı 0.38 gün⁻¹, ikiye katlanma süresi 1.84 gün olarak saptanmıştır.

Kontrol besi ortamı kullanılarak *Mortierella isabellina* ile gerçekleştirilen üretimde toplam şeker tüketimi 30.00 g/L, yağ üretimi 6.29 g/L, verim %20.95, glikozun maksimum tüketim hızı 0.82 g/L/gün, maksimum üretim hızı 2.11 g/L/gün, maksimum gelişme hızı 2.63 g/L/gün, spesifik gelişme hızı 0.53 gün⁻¹, ikiye katlanma süresi 1.32 gün olarak tespit edilmiştir.

Çizelge 4.20'ye bakıldığında *Mortierella isabellina* ile gerçekleştirilen fermentasyonlarda, farklı kurumadde içeriğine sahip DP-PSP'lere laktaz enzimi uygulamasının toplam şeker tüketimini arttırdığı anlaşılmaktadır. Toplam şeker tüketim değerleri bakımından farklı kurumadde içeriklerine sahip laktaz enzimi uygulanmamış DP-PSP'ler arasında farkların büyük olmadığı; ancak laktaz enzimi uygulanmış DP-PSP'ler arasında bu farklılıkların büyük olduğu belirlenmiştir. Farklı kurumadde içeriklerine sahip laktaz enzimi uygulanmamış DP-PSP'lerin fermentasyonu sonucunda en büyük değeri (40.05 g/L) %12 laktoz içeriğine sahip DP-PSP alırken, en düşük değer (32.49 g/L) %16 DP-PSP'nin fermentasyonu sonucunda elde edilmiştir. Farklı kurumadde içeriklerine sahip laktaz enzimi uygulanmış DP-PSP'lerin fermentasyonu

sonucunda ise en yüksek değeri (99.00 g/L) yine %12 laktoz içeriğine sahip DP-PSP alırken, en düşük değer (39.86 g/L) %4.5 laktoz içerikli DP-PSP'nin fermentasyonu sonucunda alınmıştır. Enzim uygulamasına bakılmaksızın %12 laktoz içeriğine sahip DP-PSP en yüksek değerleri vermiştir. Laktaz enzimi uygulanmış DP-PSP'lerde başlangıç kurumadde içeriğinin artmasının toplam şeker tüketiminde artışa sebep olduğu belirlenmiştir. Kontrol besi ortamında bu değer 30.00 g/L olarak belirlenmiştir. DP-PSP'lere ait en yüksek ve en düşük değerlerin kontrol besi ortamına ait değerden daha yüksek olduğu görülmektedir.

Çizelge 4.20 incelendiğinde *Mortierella isabellina* ile gerçekleştirilen fermentasyonlarda, farklı kurumadde içeriğine sahip DP-PSP'lere laktaz enzimi uygulamasının yağ üretimini arttırdığı görülmektedir. Yağ üretimi değerleri bakımından farklı kurumadde içeriklerine sahip laktaz enzimi uygulanmamış DP-PSP'ler arasında farkların büyük olmadığı, ancak laktaz enzimi uygulanmış DP-PSP'ler arasında bu farklılıkların çok büyük olduğu gözlenmektedir. Laktaz enzimi uygulanmış DP-PSP'lerde başlangıç kurumadde içeriğinin artmasının yağ üretimi değerlerinin artmasına sebep olduğu gözlenmektedir. Farklı kurumadde içeriklerine sahip laktaz enzimi uygulanmamış DP-PSP'lerin fermentasyonu sonucunda en büyük değeri (4.16 g/L) %4.5 laktoz içeriğine sahip DP-PSP alırken, en düşük değer (3.26 g/L) %8 DP-PSP'nin fermentasyonu sonucunda elde edilmiştir. Farklı kurumadde içeriklerine sahip laktaz enzimi uygulanmış DP-PSP'lerin fermentasyonu sonucunda ise en yüksek değeri (18.21 g/L) %16 laktoz içeriğine sahip DP-PSP alırken, en düşük değer (9.39 g/L) %4.5 laktoz içerikli DP-PSP'nin fermentasyonu sonucunda alınmıştır. Kontrol besi ortamında bu değer 6.29 g/L olarak belirlenmiştir. DP-PSP'lere ait değerlere bakıldığında laktaz enzimi uygulamasının kontrol besi ortamına ait değerden daha yüksek değerler elde edilmesine neden olduğu görülmektedir.

Yağ üretimi ile ilgili olarak verim değerlerine bakıldığında *Mortierella isabellina* ile gerçekleştirilen fermentasyonlarda, farklı kurumadde içeriğine sahip DP-PSP'lere laktaz enzimi uygulamasının verimi arttırdığı anlaşılmaktadır. Verim değerleri bakımından farklı kurumadde içeriklerine sahip laktaz enzimi uygulanmamış DP-PSP'lere bakıldığında %4.5 laktoz içeriğine sahip DP-PSP'den itibaren sırayla %8 ve

%12 laktoz içeriğine sahip DP-PSP'ye kadar azalma olduğu, ancak %16 laktoz içeriğine sahip DP-PSP'de yeniden artışın olduğu, aynı durumun laktaz enzimi uygulanmış DP-PSP'lerde de benzer şekilde gerçekleştiği görülmektedir. %12 laktoz içeriğine sahip DP-PSP her durumda en düşük verim değerlerini ortaya koymuştur. Farklı kurumadde içeriklerine sahip laktaz enzimi uygulanmamış DP-PSP'lerin fermentasyonu sonucunda en büyük değeri (%12.11) %4.5 laktoz içeriğine sahip DP-PSP alırken, en düşük değer (9.58 g/L) %12 DP-PSP'nin fermentasyonu sonucunda elde edilmiştir. Farklı kurumadde içeriklerine sahip laktaz enzimi uygulanmış DP-PSP'lerin fermentasyonu sonucunda ise en yüksek değeri (%23.56) yine %4.5 laktoz içeriğine sahip DP-PSP alırken, en düşük değer de (%14.05) yine %12 laktoz içerikli DP-PSP'nin fermentasyonu sonucunda alınmıştır. Kontrol besi ortamında bu değer %20.95 olarak belirlenmiştir. %4.5 laktoz içerikli laktaz enzimi uygulanmış DP-PSP'ye ait verim değerinin kontrol besi ortamına ait değerden daha yüksek olduğu anlaşılmaktadır (Çizelge 4.20).

Çizelge 4.20'de verilen laktozun maksimum tüketim hızı ile ilgili değerlere bakıldığında, *Mortierella isabellina* ile gerçekleştirilen fermentasyonlarda, farklı kurumadde içeriğine sahip DP-PSP'lere laktaz enzimi uygulamasının laktozun maksimum tüketim hızını oldukça azalttığı görülmektedir. Laktozun maksimum tüketim hızı bakımından farklı kurumadde içeriklerine sahip laktaz enzimi uygulanmamış DP-PSP'lere bakıldığında %4.5 laktoz içeriğine sahip DP-PSP'den %8 laktoz içeriğine sahip DP-PSP'ye azalma, daha sonra sırayla %12 ve %16 laktoz içeriğine sahip DP-PSP'ye kadar artma olduğu görülmektedir. Laktaz enzimi uygulanmış DP-PSP'lerde sırayla %4.5 laktoz içeriğine sahip DP-PSP'den %16 laktoz içeriğine sahip DP-PSP'ye kadar artış gösterdiği anlaşılmaktadır. Bir başka ifade ile laktaz enzimi uygulanmış DP-PSP'lerin kurumadde içeriklerinin artması laktozun maksimum tüketim hızının artmasına neden olmaktadır. Farklı kurumadde içeriklerine sahip laktaz enzimi uygulanmamış DP-PSP'lerin fermentasyonu sonucunda en büyük değeri (6.64 g/L/gün) %16 laktoz içeriğine sahip DP-PSP alırken, en düşük değer (2.03 g/L/gün) %8 DP-PSP'nin fermentasyonu sonucunda elde edilmiştir. Farklı kurumadde içeriklerine sahip laktaz enzimi uygulanmış DP-PSP'lerin fermentasyonu sonucunda ise en yüksek değeri

(1.08 g/L/gün) yine %16 laktoz içeriğine sahip DP-PSP alırken, en düşük değer (0.15 g/L/gün) %4.5 laktoz içerikli DP-PSP'nin fermentasyonu sonucunda alınmıştır.

Çizelge 4.20'deki glikozun maksimum tüketim hızı ile ilgili değerler ele alındığında, *Mortierella isabellina* ile gerçekleştirilen fermentasyonlarda, laktaz enzimi uygulaması olmayan DP-PSP'lerde glikoz bulunmadığı için sadece laktaz enzimi uygulanmış DP-PSP'lerin başlangıç kurumadde içeriklerinin, glikozun maksimum tüketim hızı üzerine etkisinden söz etmek gerekmektedir. DP-PSP'lerin başlangıç kurumadde düzeylerindeki artışın glikozun maksimum tüketim hızının yükselmesine sebep olduğu görülmektedir. Dolayısıyla glikozun maksimum tüketim hızına ait en düşük değer (3.99 g/L/gün) %4.5 laktoz içerikli DP-PSP'nin fermentasyonu sonucunda elde edildiği, en yüksek değer (6.48 g/L/gün) ise %16 laktoz içerikli DP-PSP'nin fermentasyonu sonucunda ortaya çıktığı gözlenmektedir. Kontrol besi ortamında bu değer 0.82 g/L/gün olarak belirlenmiştir. DP-PSP'lere ait değerlerin kontrol besi ortamına ait değerden çok yüksek olduğu görülmektedir (Çizelge 4.20).

Aynı şekilde galaktozun maksimum tüketim hızı ile ilgili değerler ele alındığında da, *Mortierella isabellina* ile gerçekleştirilen fermentasyonlarda, laktaz enzimi uygulaması olmayan DP-PSP'lerde galaktoz bulunmadığı için sadece laktaz enzimi uygulanmış DP-PSP'lerin başlangıç kurumadde içeriklerinin, galaktozun maksimum tüketim hızı üzerine etkisinden söz etmek gerekmektedir. DP-PSP'lerin başlangıç kurumadde düzeylerindeki artışın galaktozun maksimum tüketim hızına ait değerlerde dalgalanmalara neden olduğu görülmektedir. %4.5 laktoz içerikli DP-PSP'den %8 laktoz içerikli DP-PSP'ye geçildiğinde azalma, %12 içerikliye geçildiğinde artma, %16'ya geçildiğinde tekrar azalma görülmektedir. Galaktozun maksimum tüketim hızına ait en düşük değer (1.43 g/L/gün) %16 laktoz içerikli DP-PSP'nin fermentasyonu sonucunda elde edildiği, en yüksek değer (6.60 g/L/gün) ise %12 laktoz içerikli DP-PSP'nin fermentasyonu sonucunda ortaya çıktığı görülmektedir. (Çizelge 4.20).

Çizelge 4.20 incelendiğinde *Mortierella isabellina* ile gerçekleştirilen fermentasyonlarda, farklı kurumadde içeriğine sahip DP-PSP'lere laktaz enzimi

uygulanmasının maksimum üretim hızını arttırdığı anlaşılmaktadır. Laktaz enzimi uygulanmış ve uygulanmamış DP-PSP'lerin her iki grubunda da %4.5 ve %16 laktoz içeriğine sahip DP-PSP'lerin %8 ve %12 laktoz içeriğine sahip DP-PSP'lerden daha büyük değerlere sahip olduğu görülmektedir. Farklı kurumadde içeriklerine sahip laktaz enzimi uygulanmamış DP-PSP'lerin fermentasyonu sonucunda en büyük değeri (0.81 g/L/gün) %4.5 laktoz içeriğine sahip DP-PSP alırken, en düşük değer (0.52 g/L/gün) %8 DP-PSP'nin fermentasyonu sonucunda elde edilmiştir. Farklı kurumadde içeriklerine sahip laktaz enzimi uygulanmış DP-PSP'lerin fermentasyonu sonucunda ise en yüksek değeri (4.60 g/L/gün) %16 laktoz içeriğine sahip DP-PSP alırken, en düşük değer (2.49 g/L/gün) %8 laktoz içerikli DP-PSP'nin fermentasyonu sonucunda alınmıştır. Kontrol besi ortamında bu değer 2.11 g/L/gün olarak belirlenmiştir. DP-PSP'lere laktaz enzimi uygulaması sonucunda elde edilen maksimum üretim hızına ait değerlerin kontrol besi ortamına ait değerden daha yüksek olduğu anlaşılmaktadır (Çizelge 4.20).

Çizelge 4.20'de verilen maksimum gelişme hızına ait değerlere bakıldığında *Mortierella isabellina* ile gerçekleştirilen fermentasyonlarda, farklı kurumadde içeriğine sahip DP-PSP'lere laktaz enzimi uygulamasının maksimum gelişme hızını arttırdığı anlaşılmaktadır. Farklı kurumadde içeriklerine sahip laktaz enzimi uygulanmamış DP-PSP'lerin fermentasyonu sonucunda en büyük değeri (1.52 g/L/gün) %16 laktoz içeriğine sahip DP-PSP alırken, en düşük değer (0.91 g/L/gün) %8 laktoz içeriğine sahip DP-PSP'nin fermentasyonu sonucunda alınmıştır. Farklı kurumadde içeriklerine sahip laktaz enzimi uygulanmış DP-PSP'lerin fermentasyonu sonucunda ise en yüksek değeri (3.75 g/L/gün) yine %16 laktoz içeriğine sahip DP-PSP alırken, en düşük değer (2.98 g/L/gün) %12 laktoz içerikli DP-PSP'nin fermentasyonu sonucunda elde edilmiştir. Laktaz enzimi uygulamasının maksimum gelişme hızına etkisi en çok %8 laktoz içeriğine sahip DP-PSP'nin fermentasyonlarında görülmüştür. Bu kurumadde düzeyinde DP-PSP'de laktaz enzimi uygulamasına ait maksimum gelişme hızına ait değerler enzim uygulaması yapılmamış olanlara göre daha yüksek bulunmuştur. Kontrol besi ortamında bu değer 2.63 g/L/gün olarak belirlenmiştir. DP-PSP'lere laktaz enzimi uygulaması sonucunda elde edilen maksimum gelişme hızına ait değerlerin kontrol besi ortamına ait değerden daha yüksek olduğu görülmektedir (Çizelge 4.20).

Mortierella isabellina ile gerçekleştirilen fermentasyonlarda, farklı kurumadde içeriğine sahip DP-PSP'lere laktaz enzimi uygulamasının spesifik gelişme hızını arttırdığı belirlenmiştir. Ancak bu artış %4.5 ile %8 laktoz içeriğine sahip DP-PSP'lerde %12 ile %16 laktoz içeren DP-PSP'lere göre daha fazla bulunmuştur. Bu kurumadde düzeylerinde spesifik gelişme hızı üzerine enzim etkisi daha belirgin olmuştur. Kurumadde düzeyinin artışı ile enzim uygulamasının etkisi de azalmıştır. Farklı kurumadde içeriklerine sahip laktaz enzimi uygulanmamış DP-PSP'lerin fermentasyonu sonucunda en büyük değeri (0.31 gün⁻¹) %12 laktoz içeriğine sahip DP-PSP alırken, en düşük değer (0.15 gün⁻¹) %8 laktoz içeriğine sahip DP-PSP'nin fermentasyonu sonucunda elde edilmiştir. Farklı kurumadde içeriklerine sahip laktaz enzimi uygulanmış DP-PSP'lerin fermentasyonu sonucunda ise en yüksek değeri (0.38 gün⁻¹) %16 laktoz içeriğine sahip DP-PSP alırken, en düşük değer (0.24 gün⁻¹) %8 laktoz içerikli DP-PSP'nin fermentasyonu sonucunda belirlenmiştir. Kontrol besi ortamında bu değer 0.53 gün⁻¹ olarak belirlenmiştir. DP-PSP'lere ait bütün değerlerin kontrol besi ortamına ait değerden daha düşük olduğu anlaşılmaktadır (Çizelge 4.20).

Çizelge 4.20'de verilen ikiye katlanma sürelerine bakıldığında *Mortierella isabellina* ile gerçekleştirilen fermentasyonlarda, farklı kurumadde içeriğine sahip DP-PSP'lere laktaz enzimi uygulamasının ikiye katlanma süresini azalttığı görülmektedir. Farklı kurumadde içeriklerine sahip laktaz enzimi uygulanmamış DP-PSP'lerin fermentasyonu sonucunda ikiye katlanma süresine ait en büyük değeri (4.52 gün) %8 laktoz içeriğine sahip DP-PSP alırken, en düşük değer (2.27 gün) %12 laktoz içeriğine sahip DP-PSP'nin fermentasyonu sonucunda belirlenmiştir. Farklı kurumadde içeriklerine sahip laktaz enzimi uygulanmış DP-PSP'lerin fermentasyonu sonucunda ise en yüksek değeri (2.93 gün) yine %8 laktoz içeriğine sahip DP-PSP alırken, en düşük değeri (1.84 gün) %16 laktoz içerikli DP-PSP'nin fermentasyonu sonucunda tespit edilmiştir. Kontrol besi ortamında bu değer 1.32 gün olarak belirlenmiştir. DP-PSP'lere ait bütün değerlerin kontrol besi ortamına ait değerden daha yüksek olduğu görülmektedir (Çizelge 4.20).

4.4.2. *Mortierella ramanniana* ile gerçekleştirilen fermentasyonlara ait kinetik parametreler

Mikrobiyel yağ etimi amacıyla *Mortierella ramanniana* kf ile gerçekleştirilen fermentasyonlarda substrat kaynağı olarak kullanılan DP-PSP'lerin farklı kurumadde içeriğinin (%4.5, %8, %12 ve %16 başlangıç laktoz düzeylerinin) ve laktaz enzimi uygulamasının fermentasyonlara ait kinetik parametreler üzerine etkileri ve ayrıca *Mortierella ramanniana* kf ile kontrol besi ortamında gerçekleştirilen üretimde fermentasyona ait kinetik parametreler belirlenmiştir. Bu kinetik parametrelere ait değerler izelge 4.21'de verilmiştir.

Elde edilen sonuçlara göre laktoz içeriği %4.5 olan DP-PSP kullanılarak *Mortierella ramanniana* ile gerçekleştirilen üretimde toplam şeker tüketimi 34.32 g/L, yağ etimi 5.52 g/L, verim %16.09, laktozun maksimum tüketim hızı 3.70 g/L/gün, maksimum üretim hızı 0.62 g/L/gün, maksimum gelişme hızı 1.45 g/L/gün, spesifik gelişme hızı 0.21 gün⁻¹, ikiye katlanma süresi 3.23 gün olarak bulunmuştur. Laktoz içeriği %4.5 olan laktaz enzimi uygulanmış DP-PSP kullanılarak *Mortierella ramanniana* ile gerçekleştirilen üretimde toplam şeker tüketimi 41.45 g/L, yağ etimi 6.62 g/L, verim %15.97, laktozun maksimum tüketim hızı 0.21 g/L/gün, glikozun maksimum tüketim hızı 4.04 g/L/gün, galaktozun maksimum tüketim hızı 3.26 g/L/gün, maksimum üretim hızı 0.75 g/L/gün, maksimum gelişme hızı 2.51 g/L/gün, spesifik gelişme hızı 0.32 gün⁻¹, ikiye katlanma süresi 2.19 gün olarak belirlenmiştir (izelge 4.21).

Çizelge 4.21. Farklı bileşimlere sahip DP-PSP'lerde ve kontrol besi ortamında *Mortierella ramanniana* ile gerçekleştirilen fermentasyonlara ait kinetik parametreler

Kinetik Parametreler	DP-PSP'nin laktoz içeriği												Kontrol %3 glukoza
	%4.5 laktoz			%8 laktoz			%12 laktoz			%16 laktoz			
	Laktaz enzimi uygulaması	Yok	Var	Laktaz enzimi uygulaması	Yok	Var	Laktaz enzimi uygulaması	Yok	Var	Laktaz enzimi uygulaması	Yok	Var	
Şeker tüketimi (g/L)	34.32	41.45	41.45	46.16	62.46	62.46	30.32	38.72	38.72	15.43	33.63	33.63	---
Yağ üretimi (g/L)	5.52	6.62	6.62	5.46	10.61	10.61	3.97	6.58	6.58	0.92	5.65	5.65	---
Verim (Yp/s) (%)	16.09	15.97	15.97	11.82	16.99	16.99	13.10	17.00	17.00	5.95	16.81	16.81	16.07
Laktoz maksimum tüketim hızı (-ds/dt)maks (g/L/gün)	3.70	0.21	0.21	6.81	0.17	0.17	3.37	0.34	0.34	0.63	0.25	0.25	-
Glukoz maksimum tüketim hızı (-ds/dt)maks (g/L/gün)	-	4.04	4.04	-	4.11	4.11	-	3.57	3.57	-	3.74	3.74	0.62
Galaktoz maksimum tüketim hızı (-ds/dt)maks (g/L/gün)	-	3.26	3.26	-	2.39	2.39	-	1.51	1.51	-	1.64	1.64	-
Maksimum üretim hızı (dp/dt)maks (g/L/gün)	0.62	0.75	0.75	0.89	1.28	1.28	0.69	0.91	0.91	0.16	1.08	1.08	0.91
Maksimum gelişme hızı (dx/dt)maks (g/L/gün)	1.45	2.51	2.51	2.40	2.62	2.62	1.71	2.01	2.01	0.85	2.30	2.30	1.73
Spesifik gelişme hızı (gün ⁻¹)	0.21	0.32	0.32	0.25	0.30	0.30	0.23	0.35	0.35	0.23	0.40	0.40	0.29
İkiye katlanma süresi (t ₀) (gün)	3.23	2.19	2.19	2.75	2.29	2.29	2.98	1.95	1.95	3.04	1.74	1.74	2.40

---: Laktaz enzimi uygulaması yok

Laktoz içeriği %8 olan DP-PSP kullanılarak *Mortierella ramanniana* ile gerçekleştirilen üretimde toplam şeker tüketimi 46.16 g/L, yağ üretimi 5.46 g/L, verim %11.82, laktozun maksimum tüketim hızı 6.81 g/L/gün, maksimum üretim hızı 0.89 g/L/gün, maksimum gelişme hızı 2.40 g/L/gün, spesifik gelişme hızı 0.25 gün⁻¹, ikiye katlanma süresi 2.75 gün olarak saptanmıştır. Laktoz içeriği %8 olan laktaz enzimi uygulanmış DP-PSP kullanılarak *Mortierella ramanniana* ile gerçekleştirilen üretimde toplam şeker tüketimi 62.46 g/L, yağ üretimi 10.61 g/L, verim %16.99, laktozun maksimum tüketim hızı 0.17 g/L/gün, glikozun maksimum tüketim hızı 4.11 g/L/gün, galaktozun maksimum tüketim hızı 2.39 g/L/gün, maksimum üretim hızı 1.28 g/L/gün, maksimum gelişme hızı 2.62 g/L/gün, spesifik gelişme hızı 0.30 gün⁻¹, ikiye katlanma süresi 2.29 gün olarak tespit edilmiştir.

Laktoz içeriği %12 olan DP-PSP kullanılarak *Mortierella ramanniana* ile gerçekleştirilen üretimde toplam şeker tüketimi 30.32 g/L, yağ üretimi 3.97 g/L, verim %13.10, laktozun maksimum tüketim hızı 3.37 g/L/gün, maksimum üretim hızı 0.69 g/L/gün, maksimum gelişme hızı 1.71 g/L/gün, spesifik gelişme hızı 0.23 gün⁻¹, ikiye katlanma süresi 2.98 gün olarak bulunmuştur. Laktoz içeriği %12 olan laktaz enzimi uygulanmış DP-PSP kullanılarak *Mortierella ramanniana* ile gerçekleştirilen üretimde toplam şeker tüketimi 38.72 g/L, yağ üretimi 6.58 g/L, verim %17.00, laktozun maksimum tüketim hızı 0.34 g/L/gün, glikozun maksimum tüketim hızı 3.57 g/L/gün, galaktozun maksimum tüketim hızı 1.51 g/L/gün, maksimum üretim hızı 0.91 g/L/gün, maksimum gelişme hızı 2.01 g/L/gün, spesifik gelişme hızı 0.35 gün⁻¹, ikiye katlanma süresi 1.95 gün olarak belirlenmiştir.

Laktoz içeriği %16 olan DP-PSP kullanılarak *Mortierella ramanniana* ile gerçekleştirilen üretimde toplam şeker tüketimi 15.43 g/L, yağ üretimi 0.92 g/L, verim %5.95, laktozun maksimum tüketim hızı 0.63 g/L/gün, maksimum üretim hızı 0.16 g/L/gün, maksimum gelişme hızı 0.85 g/L/gün, spesifik gelişme hızı 0.23 gün⁻¹, ikiye katlanma süresi 3.04 gün olarak tespit edilmiştir. Laktoz içeriği %16 olan laktaz enzimi uygulanmış DP-PSP kullanılarak *Mortierella ramanniana* ile gerçekleştirilen üretimde toplam şeker tüketimi 33.63 g/L, yağ üretimi 5.65 g/L, verim %16.81, laktozun maksimum tüketim hızı 0.25 g/L/gün, glikozun maksimum tüketim hızı 3.74 g/L/gün,

galaktozun maksimum tüketim hızı 1.64 g/L/gün, maksimum üretim hızı 1.08 g/L/gün, maksimum gelişme hızı 2.30 g/L/gün, spesifik gelişme hızı 0.40 gün⁻¹, ikiye katlanma süresi 1.74 gün olarak saptanmıştır.

Kontrol besi ortamı kullanılarak *Mortierella ramanniana* ile gerçekleştirilen üretimde toplam şeker tüketimi 30.00 g/L, yağ üretimi 4.82 g/L, verim %16.07, glikozun maksimum tüketim hızı 0.62 g/L/gün, maksimum üretim hızı 0.91 g/L/gün, maksimum gelişme hızı 1.73 g/L/gün, spesifik gelişme hızı 0.29 gün⁻¹, ikiye katlanma süresi 2.40 gün olarak tespit edilmiştir.

Çizelge 4.21'e bakıldığında *Mortierella ramanniana* ile gerçekleştirilen fermentasyonlarda, farklı kurumadde içeriğine sahip DP-PSP'lere laktaz enzimi uygulamasının toplam şeker tüketimini arttırdığı anlaşılmaktadır. Gerek laktaz enzimi uygulanmış gerekse enzim uygulanmamış bütün DP-PSP'ler arasında şeker tüketimine ait en yüksek değerler %8 laktoz içeren DP-PSP'nin fermentasyonu sonucunda alınmıştır. Farklı kurumadde içeriklerine sahip laktaz enzimi uygulanmamış DP-PSP'lerin fermentasyonu sonucunda en büyük değeri (46.16 g/L) %8 laktoz içeriğine sahip DP-PSP alırken, en düşük değer (15.43 g/L) %16 DP-PSP'nin fermentasyonu sonucunda elde edilmiştir. Farklı kurumadde içeriklerine sahip laktaz enzimi uygulanmış DP-PSP'lerin fermentasyonu sonucunda ise en yüksek değeri (62.46 g/L) yine %8 laktoz içeriğine sahip DP-PSP alırken, en düşük değer de yine (15.43 g/L) %16 laktoz içerikli DP-PSP'nin fermentasyonu sonucunda alınmıştır. Görüldüğü üzere bütün DP-PSP'ler arasında şeker tüketimine ait en düşük değerler %16 laktoz içeren DP-PSP'nin fermentasyonu sonucunda alınmıştır. Kontrol besi ortamında bu değer 30.00 g/L olarak belirlenmiştir. Sadece %16 laktoz içeriğine sahip laktaz enzimi uygulanmamış DP-PSP'ye ait değer kontrol besi ortamına ait değerden daha düşük bulunmuş, diğer bütün DP-PSP'lere ait değerlerin tamamı kontrol besi ortamına ait değerden daha yüksek olarak tespit edilmiştir.

Çizelge 4.21 incelendiğinde *Mortierella ramanniana* ile gerçekleştirilen fermentasyonlarda, farklı kurumadde içeriğine sahip DP-PSP'lere laktaz enzimi uygulamasının yağ üretimini arttırdığı görülmektedir. Laktaz enzimi uygulanmış ve

uygulanmamış bütün DP-PSP'ler dikkate alındığında en düşük değerlerin %16 laktoz içeren DP-PSP'nin fermentasyonu sonucunda alındığı anlaşılmaktadır. Farklı kurumadde içeriklerine sahip laktaz enzimi uygulanmamış DP-PSP'lerin fermentasyonu sonucunda en büyük değeri (5.52 g/L) %4.5 laktoz içeriğine sahip DP-PSP alırken, en düşük değer (0.92 g/L) %16 DP-PSP'nin fermentasyonu sonucunda elde edilmiştir. Farklı kurumadde içeriklerine sahip laktaz enzimi uygulanmış DP-PSP'lerin fermentasyonu sonucunda ise en yüksek değeri (10.61 g/L) %8 laktoz içeriğine sahip DP-PSP alırken, en düşük değer (5.65 g/L) %16 laktoz içerikli DP-PSP'nin fermentasyonu sonucunda alınmıştır. Laktaz enzimi uygulamasının, en fazla %16 laktoz içeriğine sahip DP-PSP'nin fermentasyonu sonucunda yağ üretiminde artışa sebep olduğu anlaşılmakta, bu DP-PSP'de yağ üretime ait değer 0.92 g/L'den, laktaz enzimi uygulaması ile birlikte 5.65 g/L'ye yükseldiği görülmektedir. Kontrol besi ortamında bu değer 4.82 g/L olarak belirlenmiştir. %12 ve %16 laktoz içeriğine sahip laktaz enzimi uygulanmamış DP-PSP'lere ait değerlerin kontrol besi ortamına ait değerden daha düşük olduğu görülmektedir. Kontrol besi ortamında bu değer 4.82 g/L olarak belirlenmiştir. %12 ve %16 laktoz içeriğine sahip laktaz enzimi uygulanmamış DP-PSP'lere ait değerler kontrol besi ortamına ait değerden daha düşük bulunmuş, diğer DP-PSP'lere ait değerler ise kontrol besi ortamına ait değerden daha yüksek olarak belirlenmiştir.

Yağ üretimi ile ilgili olarak verim değerlerine bakıldığında *Mortierella ramanniana* ile gerçekleştirilen fermentasyonlarda, farklı kurumadde içeriğine sahip DP-PSP'lere laktaz enzimi uygulamasının, %4.5 laktoz içeriğine sahip DP-PSP hariç verimi arttırdığı anlaşılmaktadır. Ancak %4.5 laktoz içeren DP-PSP'nin fermentasyonu sonucunda laktaz enzimi uygulamasının verimi azalttığı saptanmıştır. Farklı kurumadde içeriklerine sahip laktaz enzimi uygulanmamış DP-PSP'lerin fermentasyonu sonucunda en büyük değeri (%16.09) %4.5 laktoz içeriğine sahip DP-PSP alırken, en düşük değer (5.95 g/L) %16 DP-PSP'nin fermentasyonu sonucunda elde edilmiştir. Farklı kurumadde içeriklerine sahip laktaz enzimi uygulanmış DP-PSP'lerin fermentasyonu sonucunda ise en yüksek değeri (%17.00) %12 laktoz içeriğine sahip DP-PSP alırken, en düşük değer (%14.05) yine %16 laktoz içerikli DP-PSP'nin fermentasyonu sonucunda alınmıştır. Kontrol besi ortamında bu değer %16.07 olarak

belirlenmiştir. %8, %12 ve %16 laktoz içeriğine sahip DP-PSP'lerde laktaz enzimi uygulaması verim değerlerinin kontrol besi ortamına ait verim değerinden daha yüksek sonuçlar ortaya çıkmasına neden olurken, %4.5 laktozlu DP-PSP'de ise laktaz enzimi uygulaması tam tersi olarak verim değerinde kontrol besi ortamına göre daha düşük değer ortaya koymuştur (Çizelge 4.21).

Çizelge 4.21'de verilen laktozun maksimum tüketim hızı ile ilgili değerlere bakıldığında, *Mortierella ramanniana* ile gerçekleştirilen fermentasyonlarda, farklı kurumadde içeriğine sahip DP-PSP'lere laktaz enzimi uygulamasının laktozun maksimum tüketim hızını oldukça azalttığı görülmektedir. Ancak bu azalma %16 laktoz içeren DP-PSP'de belirgin değildir. Laktozun maksimum tüketim hızı bakımından farklı kurumadde içeriklerine sahip laktaz enzimi uygulanmamış DP-PSP'lere bakıldığında %4.5 laktoz içeriğine sahip DP-PSP'den, %8 laktoz içeriğine sahip DP-PSP'ye artma görülürken, daha sonra sırayla %12 ve %16 laktoz içeriğine sahip DP-PSP'ye doğru azalmanın gerçekleştiği saptanmıştır. Farklı kurumadde içeriklerine sahip laktaz enzimi uygulanmamış DP-PSP'lerin fermentasyonu sonucunda en büyük değeri (6.81 g/L/gün) %8 laktoz içeriğine sahip DP-PSP alırken, en düşük değer (0.63 g/L/gün) %16 DP-PSP'nin fermentasyonu sonucunda elde edilmiştir. Farklı kurumadde içeriklerine sahip laktaz enzimi uygulanmış DP-PSP'lerin fermentasyonu sonucunda ise en yüksek değeri (0.34 g/L/gün) %12 laktoz içeriğine sahip DP-PSP alırken, en düşük değer (0.17 g/L/gün) %8 laktoz içerikli DP-PSP'nin fermentasyonu sonucunda alınmıştır.

Çizelge 4.21'deki glikozun maksimum tüketim hızı ile ilgili değerler ele alındığında, *Mortierella ramanniana* ile gerçekleştirilen fermentasyonlarda, laktaz enzimi uygulaması olmayan DP-PSP'lerde glikoz bulunmadığı için sadece laktaz enzimi uygulanmış DP-PSP'lerin başlangıç kurumadde içeriklerinin, glikozun maksimum tüketim hızı üzerine etkisinden söz etmek gerekmektedir. Fakat bu etkinin de kurumadde düzeyindeki artışla ilgili olmadığı görülmektedir. Glikozun maksimum tüketim hızına ait en düşük değer (3.57 g/L/gün) %12 laktoz içerikli DP-PSP'nin fermentasyonu sonucunda elde edildiği, en yüksek değer (4.11 g/L/gün) ise %8 laktoz içerikli DP-PSP'nin fermentasyonu sonucunda ortaya çıktığı anlaşılmaktadır. Kontrol besi ortamında bu değer 0.62 g/L/gün olarak belirlenmiştir. Glikozun maksimum

tüketim hızı bütün DP-PSP'lerde kontrol besi ortamına ait değerden çok yüksek olarak tespit edilmiştir.

Aynı şekilde galaktozun maksimum tüketim hızı ile ilgili değerlerde de, *Mortierella ramanniana* ile gerçekleştirilen fermentasyonlarda, laktaz enzimi uygulaması olmayan DP-PSP'lerde galaktoz bulunmadığı için sadece laktaz enzimi uygulanmış DP-PSP'lerin başlangıç kurumadde içeriklerinin, galaktozun maksimum tüketim hızı üzerine etkisinden söz etmek gerekmektedir. DP-PSP'lerin başlangıç kurumadde düzeylerinde, %12 laktoz içerikli DP-PSP'ye kadar olan artışın galaktozun maksimum tüketim hızına ait değerlerde azalmaya neden olduğu, ancak %16 laktoz içeren DP-PSP'de tekrar artış görüldüğü saptanmaktadır. Galaktozun maksimum tüketim hızına ait en düşük değer (1.51 g/L/gün) %12 laktoz içerikli DP-PSP'nin fermentasyonu sonucunda elde edildiği, en yüksek değer (3.26 g/L/gün) ise %4.5 laktoz içerikli DP-PSP'nin fermentasyonu sonucunda ortaya çıktığı görülmektedir (Çizelge 4.21).

Çizelge 4.21 incelendiğinde *Mortierella ramanniana* ile gerçekleştirilen fermentasyonlarda, farklı kurumadde içeriğine sahip DP-PSP'lere laktaz enzimi uygulamasının maksimum üretim hızında artışa sebep olduğu görülmektedir. Laktaz enzimi uygulanmış ve uygulanmamış DP-PSP'lerin her iki grubunda da %8 laktoz içeriğine sahip DP-PSP'nin en büyük değerlere sahip olduğu görülmektedir. Farklı kurumadde içeriklerine sahip laktaz enzimi uygulanmamış DP-PSP'lerin fermentasyonu sonucunda en büyük değeri (0.89 g/L/gün) %8 laktoz içeriğine sahip DP-PSP alırken, en düşük değer (0.16 g/L/gün) %16 DP-PSP'nin fermentasyonu sonucunda elde edilmiştir. Farklı kurumadde içeriklerine sahip laktaz enzimi uygulanmış DP-PSP'lerin fermentasyonu sonucunda ise en yüksek değeri (1.28 g/L/gün) yine %8 laktoz içeriğine sahip DP-PSP alırken, en düşük değer (0.75 g/L/gün) %4.5 laktoz içerikli DP-PSP'nin fermentasyonu sonucunda alınmıştır. Kontrol besi ortamında bu değer 0.91 g/L/gün olarak belirlenmiştir. Laktaz enzimi uygulanmamış DP-PSP'lerde maksimum üretim hızı değerleri kontrol besi ortamına ait değerden düşük bulunmuş, enzim uygulanmış DP-PSP'lerden %12 laktoz içeriğine sahip DP-PSP, kontrol besi ortamına ait değer ile

aynı, %8 ve %16 laktoz içeriğine sahip DP-PSP'ler ise kontrol besi ortamına ait değerden daha yüksek değer ortaya koymuştur.

Mortierella ramanniana ile gerçekleştirilen fermentasyonlarda, farklı kurumadde içeriğine sahip DP-PSP'lere laktaz enzimi uygulamasının maksimum gelişme hızını arttırdığı anlaşılmaktadır. Laktaz enzimi uygulanmış ve uygulanmamış DP-PSP'lerin her iki grubunda da %8 laktoz içeriğine sahip DP-PSP'nin en büyük değerleri aldığı görülmektedir. Farklı kurumadde içeriklerine sahip laktaz enzimi uygulanmamış DP-PSP'lerin fermentasyonu sonucunda en büyük değeri (2.40 g/L/gün) %8 laktoz içeriğine sahip DP-PSP alırken, en düşük değer (0.85 g/L/gün) %16 laktoz içeriğine sahip DP-PSP'nin fermentasyonu sonucunda elde edilmiştir. Farklı kurumadde içeriklerine sahip laktaz enzimi uygulanmış DP-PSP'lerin fermentasyonu sonucunda ise en yüksek değeri (2.62 g/L/gün) yine %8 laktoz içeriğine sahip DP-PSP alırken, en düşük değer (2.01 g/L/gün) %12 laktoz içerikli DP-PSP'nin fermentasyonu sonucunda alınmıştır. Kontrol besi ortamında bu değer 1.73 g/L/gün olarak belirlenmiştir. Laktaz enzimi uygulanmış DP-PSP'lerde maksimum gelişme hızı değerleri kontrol besi ortamına ait değerden büyük bulunmuş, enzim uygulanmamış DP-PSP'lerden %8 laktoz içeriğine sahip DP-PSP kontrol besi ortamına ait değerden daha büyük, diğer DP-PSP'ler ise daha düşük değerler ortaya koymuştur (Çizelge 4.21).

Mortierella ramanniana ile gerçekleştirilen fermentasyonlarda, farklı kurumadde içeriğine sahip DP-PSP'lere laktaz enzimi uygulamasının spesifik gelişme hızını arttırdığı belirlenmiştir. Farklı kurumadde içeriklerine sahip laktaz enzimi uygulanmamış DP-PSP'lerin fermentasyonu sonucunda en büyük değeri (0.25 gün⁻¹) %8 laktoz içeriğine sahip DP-PSP alırken, en düşük değer (0.21 gün⁻¹) %4.5 laktoz içeriğine sahip DP-PSP'nin fermentasyonu sonucunda elde edilmiştir. Farklı kurumadde içeriklerine sahip laktaz enzimi uygulanmış DP-PSP'lerin fermentasyonu sonucunda ise en yüksek değeri (0.40 gün⁻¹) %16 laktoz içeriğine sahip DP-PSP alırken, en düşük değer (0.30 gün⁻¹) %8 laktoz içerikli DP-PSP'nin fermentasyonu sonucunda belirlenmiştir. Kontrol besi ortamında bu değer 0.29 gün⁻¹ olarak belirlenmiştir. Laktaz enzimi uygulanmış DP-PSP'lerde bu değer kontrol besi ortamına ait değerden daha

yüksek bulunmuş, laktoz enzimi uygulanmamış DP-PSP'lerde ise daha düşük olarak tespit edilmiştir (Çizelge 4.21).

Çizelge 4.21'de verilen ikiye katlanma sürelerine bakıldığında *Mortierella ramanniana* ile gerçekleştirilen fermentasyonlarda, farklı kurumadde içeriğine sahip DP-PSP'lere laktaz enzimi uygulamasının ikiye katlanma süresini azalttığı görülmektedir. Farklı kurumadde içeriklerine sahip laktaz enzimi uygulanmamış DP-PSP'lerin fermentasyonu sonucunda ikiye katlanma süresine ait en büyük değeri (3.23 gün) %4.5 laktoz içeriğine sahip DP-PSP alırken, en düşük değer (2.75 gün) %8 laktoz içeriğine sahip DP-PSP'nin fermentasyonu sonucunda belirlenmiştir. Farklı kurumadde içeriklerine sahip laktaz enzimi uygulanmış DP-PSP'lerin fermentasyonu sonucunda ise en yüksek değeri (2.29 gün) %8 laktoz içeriğine sahip DP-PSP alırken, en düşük değeri (1.74 gün) %16 laktoz içerikli DP-PSP'nin fermentasyonu sonucunda tespit edilmiştir. Fermentasyon sonunda belirlenen ikiye katlanma süresi üzerine laktaz enzimi uygulamasının etkisi en az %8 laktoz içeren DP-PSP'de görülmüştür. Laktaz enzimi uygulamasının bu DP-PSP'de çok etkili olmadığı görülmektedir. Diğer DP-PSP'lerde ise birbirlerine benzer farklılıkların olduğu anlaşılmaktadır. Kontrol besi ortamında bu değer 2.40 gün olarak belirlenmiştir. Laktaz enzimi uygulanmamış DP-PSP'lerde bu değer kontrol besi ortamına ait değerden daha yüksek bulunmuş, laktoz enzimi uygulanmış DP-PSP'lerde ise daha düşük olarak tespit edilmiştir

4.4.3. *Mortierella isabellina* ve *Mortierella ramanniana* ile gerçekleştirilen fermentasyonlara ait değerlerin karşılaştırılması

Sonuç olarak, *Mortierella isabellina* ile gerçekleştirilen fermentasyonlarda %4.5 laktoz içeriğine sahip DP-PSP kullanılan üretimde biyokütle miktarı (10.45 g/kg) ve mikrobiyel yağ miktarı (4.16 g/kg) fermentasyon işleminin 9. gününde en yüksek seviyeye ulaşmış, fermentasyon işlemi sonucunda DP-PSP'de %1.07 laktoz kullanılmadan kalmış, laktozun yaklaşık %76'sı kullanılabilmiştir. Şeker tüketimi 34.32 g/L, maksimum üretim hızı 0.81 g/L/gün, maksimum gelişme hızı ise 1.23 g/L/gün olarak bulunmuştur. Laktoz içeriği %4.5 olan laktaz enzimi uygulanmış DP-PSP kullanılan üretimde biyokütle miktarı (14.97 g/kg) fermentasyon işleminin 7. gününde,

mikrobiyel yağ miktarı (9.39 g/kg) ise 6. gününde en yüksek seviyeye ulaşmış, fermentasyon işlemi sonucunda DP-PSP'de %0.68 laktoz ve %0.17 galaktoz kullanılmadan kalmış, glikoz ise 5. günde tamamen tüketilmiştir. Laktozun yaklaşık %31'i, galaktozun da %91'i kullanılabilmiştir. Her üç şeker dikkate alındığında toplam şekerin yaklaşık %74'ünün kullanılabilirdiği görülmektedir. Şeker tüketimi 39.86 g/L, maksimum üretim hızı 3.16 g/L/gün, maksimum gelişme hızı ise 3.09 g/L/gün olarak belirlenmiştir.

%8 laktoz içeriğine sahip DP-PSP kullanılarak *Mortierella isabellina* ile gerçekleştirilen üretimde biyokütle miktarı (9.33 g/kg) fermentasyon işleminin 9. gününde, mikrobiyel yağ miktarı (3.31 g/kg) 8. gününde en yüksek seviyeye ulaşmış, fermentasyon işlemi sonucunda DP-PSP'de %4.75 laktoz kullanılmadan kalmış, laktozun yaklaşık %41'i kullanılabilmiştir. Şeker tüketimi 32.49 g/L, maksimum üretim hızı 0.52 g/L/gün, maksimum gelişme hızı ise 0.91 g/L/gün olarak saptanmıştır. Laktoz içeriği %8 olan laktaz enzimi uygulanmış DP-PSP kullanılan üretimde biyokütle miktarı (22.46 g/kg) fermentasyon işleminin 9. gününde, mikrobiyel yağ miktarı (11.93 g/kg) 8. gününde en yüksek seviyeye ulaşmış, fermentasyon işlemi sonucunda DP-PSP'de %1.16 laktoz ve %0.18 galaktoz kullanılmadan kalmış, glikoz ise 8. günde tamamen tüketilmiştir. Laktozun yaklaşık %33'ü, galaktozun da %94'ü kullanılabilmiştir. Her üç şeker dikkate alındığında toplam şekerin yaklaşık %76'sının kullanılabilirdiği görülmektedir. Şeker tüketimi 64.30 g/L, maksimum üretim hızı 2.49 g/L/gün, maksimum gelişme hızı ise 3.38 g/L/gün olarak belirlenmiştir.

%12 laktoz içeriğine sahip DP-PSP kullanılarak *Mortierella isabellina* ile gerçekleştirilen üretimde biyokütle miktarı (13.27 g/kg) fermentasyon işleminin 9. gününde, mikrobiyel yağ miktarı da (3.84 g/kg) yine 9. gününde en yüksek seviyeye ulaşmış, fermentasyon işlemi sonucunda DP-PSP'de %8.00 laktoz kullanılmadan kalmış, laktozun yaklaşık %33'ü kullanılabilmiştir. Şeker tüketimi 40.05 g/L, maksimum üretim hızı 0.55 g/L/gün, maksimum gelişme hızı ise 1.43 g/L/gün olarak saptanmıştır. Laktoz içeriği %12 olan laktaz enzimi uygulanmış DP-PSP kullanılan üretimde biyokütle miktarı (23.83 g/kg) fermentasyon işleminin 9. gününde, mikrobiyel yağ miktarı (13.91 g/kg) 8. gününde en yüksek seviyeye ulaşmış, fermentasyon işlemi

sonucunda DP-PSP’de %2.05 laktoz ve %0.01 glikoz kullanılmadan kalmış, galaktoz ise 8. günde tamamen tüketilmiştir. Laktozun yaklaşık %32’si, glikozun da %99.8’i kullanılabilmiştir. Her üç şeker dikkate alındığında toplam şekerin yaklaşık %77’sinin kullanılabilirdiği görülmektedir. Şeker tüketimi 99.00 g/L, maksimum üretim hızı 2.90 g/L/gün, maksimum gelişme hızı ise 2.98 g/L/gün olarak tespit edilmiştir.

%16 laktoz içeriğine sahip DP-PSP kullanılarak *Mortierella isabellina* ile gerçekleştirilen üretimde biyokütle miktarı (12.60 g/kg) fermentasyon işleminin 9. gününde, mikrobiyel yağ miktarı da (3.88 g/kg) yine 9. gününde en yüksek seviyeye ulaşmış, fermentasyon işlemi sonucunda DP-PSP’de %12.60 laktoz kullanılmadan kalmış, laktozun yaklaşık %21’i kullanılabilmiştir. Şeker tüketimi 33.96 g/L, maksimum üretim hızı 0.60 g/L/gün, maksimum gelişme hızı ise 1.52 g/L/gün olarak belirlenmiştir. Laktoz içeriği %16 olan laktaz enzimi uygulanmış DP-PSP kullanılan üretimde biyokütle miktarı (28.34 g/kg) fermentasyon işleminin 9. gününde, mikrobiyel yağ miktarı da (18.21 g/kg) yine 9. gününde en yüksek seviyeye ulaşmış, fermentasyon işlemi sonucunda DP-PSP’de %2.70 laktoz, %2.38 galaktoz ve %0.52 glikoz kullanılmadan kalmıştır. Laktozun yaklaşık %30’u, galaktozun %52’si, glikozun da %91’i kullanılabilmiştir. Her üç şeker dikkate alındığında toplam şekerin yaklaşık %58’inin kullanılabilirdiği görülmektedir. Şeker tüketimi 93.40 g/L, maksimum üretim hızı 4.60 g/L/gün, maksimum gelişme hızı ise 3.75 g/L/gün olarak saptanmıştır.

Kontrol besi ortamında *Mortierella isabellina* ile yürütülen üretimde biyokütle miktarı (10.97 g/kg) fermentasyon işleminin 6. gününde, mikrobiyel yağ miktarı da (6.29 g/kg) yine 6. gününde en yüksek seviyeye ulaşmıştır. Fermentasyonun 5. gününde glikoz tamamen tüketilmiştir. Şeker tüketimi 30.00 g/L maksimum üretim hızı 2.11 g/L/gün, maksimum gelişme hızı ise 2.63 g/L/gün olarak saptanmıştır.

Mortierella ramanniana ile gerçekleştirilen fermentasyonlar sonucunda %4.5 laktoz içeriğine sahip DP-PSP kullanılan üretimde biyokütle miktarı (12.78 g/kg) ve mikrobiyel yağ miktarı (5.52 g/kg) fermentasyon işleminin 9. gününde en yüksek seviyeye ulaşmış, fermentasyon işlemi sonucunda DP-PSP’de %1.07 laktoz kullanılmadan kalmış, laktozun yaklaşık %76’sı kullanılabilmiştir. Şeker tüketimi 34.32

g/L, maksimum üretim hızı 0.62 g/L/gün, maksimum gelişme hızı ise 1.45 g/L/gün olarak bulunmuştur. Laktoz içeriği %4.5 olan laktaz enzimi uygulanmış DP-PSP kullanılan üretimde biyokütle miktarı (15.89 g/kg) fermentasyon işleminin 9. gününde, mikrobiyel yağ miktarı da (6.62 g/kg) yine 9. gününde en yüksek seviyeye ulaşmış, fermentasyon işlemi sonucunda DP-PSP'de %0.73 laktoz ve %0.15 galaktoz kullanılmadan kalmış, glikoz ise 7. günde tamamen tüketilmiştir. Laktozun yaklaşık %32'si, galaktozun da %92'si kullanılabilmiştir. Her üç şeker dikkate alındığında toplam şekerin yaklaşık %75'inin kullanılabilirdiği görülmektedir. Şeker tüketimi 41.45 g/L, maksimum üretim hızı 0.75 g/L/gün, maksimum gelişme hızı ise 2.51 g/L/gün olarak belirlenmiştir.

%8 laktoz içeriğine sahip DP-PSP kullanılarak *Mortierella ramanniana* ile gerçekleştirilen üretimde biyokütle miktarı (15.85 g/kg) fermentasyon işleminin 9. gününde, mikrobiyel yağ miktarı (5.46 g/kg) 8. gününde en yüksek seviyeye ulaşmış, fermentasyon işlemi sonucunda DP-PSP'de % 3.38 laktoz kullanılmadan kalmış, laktozun yaklaşık %58'i kullanılabilmiştir. Şeker tüketimi 46.16 g/L, maksimum üretim hızı 0.89 g/L/gün, maksimum gelişme hızı ise 2.40 g/L/gün olarak bulunmuştur. Laktoz içeriği %8 olan laktaz enzimi uygulanmış DP-PSP kullanılan üretimde biyokütle miktarı (19.54 g/kg) fermentasyon işleminin 9. gününde, mikrobiyel yağ miktarı da (10.61 g/kg) 9. gününde en yüksek seviyeye ulaşmış, fermentasyon işlemi sonucunda DP-PSP'de %1.22 laktoz ve %0.14 galaktoz kullanılmadan kalmış, glikoz ise 9. günde tamamen tüketilmiştir. Laktozun yaklaşık %27'si, galaktozun da %95'ü kullanılabilmiştir. Her üç şeker dikkate alındığında toplam şekerin yaklaşık %74'ünün kullanılabilirdiği görülmektedir. Şeker tüketimi 62.46 g/L, maksimum üretim hızı 1.28 g/L/gün, maksimum gelişme hızı ise 2.62 g/L/gün olarak belirlenmiştir.

%12 laktoz içeriğine sahip DP-PSP kullanılarak *Mortierella ramanniana* ile gerçekleştirilen üretimde biyokütle miktarı (12.25 g/kg) fermentasyon işleminin 9. gününde, mikrobiyel yağ miktarı da (3.97 g/kg) yine 9. gününde en yüksek seviyeye ulaşmış, fermentasyon işlemi sonucunda DP-PSP'de %8.97 laktoz kullanılmadan kalmış, laktozun yaklaşık %25'i kullanılabilmiştir. Şeker tüketimi 30.32 g/L, maksimum üretim hızı 0.69 g/L/gün, maksimum gelişme hızı ise 1.71 g/L/gün olarak

saptanmıştır. Laktoz içeriği %12 olan laktaz enzimi uygulanmış DP-PSP kullanılan üretimde biyokütle miktarı (13.93 g/kg) fermentasyon işleminin 9. gününde, mikrobiyel yağ miktarı da (6.58 g/kg) 9. gününde en yüksek seviyeye ulaşmış, fermentasyon işlemi sonucunda DP-PSP’de %2.23 laktoz ve %2.38 glikoz ve %2.89 galaktoz kullanılmadan kalmıştır. Laktozun yaklaşık %16’sı, glikozun %49’u, galaktozun da %29’u kullanılabilmiştir. Her üç şeker dikkate alındığında toplam şekerin yaklaşık %31’inin kullanılabilirdiği görülmektedir. Şeker tüketimi 30.32 g/L, maksimum üretim hızı 0.69 g/L/gün, maksimum gelişme hızı ise 1.71 g/L/gün olarak belirlenmiştir.

%16 laktoz içeriğine sahip DP-PSP kullanılarak *Mortierella ramanniana* ile gerçekleştirilen üretimde biyokütle miktarı (6.81 g/kg) fermentasyon işleminin 9. gününde, mikrobiyel yağ miktarı da (0.92 g/kg) yine 9. gününde en yüksek seviyeye ulaşmış, fermentasyon işlemi sonucunda DP-PSP’de %14.46 laktoz kullanılmadan kalmış, laktozun yaklaşık %10’u kullanılabilmiştir. Şeker tüketimi 15.43 g/L, maksimum üretim hızı 0.16 g/L/gün, maksimum gelişme hızı ise 0.85 g/L/gün olarak bulunmuştur. Laktoz içeriği %16 olan laktaz enzimi uygulanmış DP-PSP kullanılan üretimde biyokütle miktarı (11.75 g/kg) fermentasyon işleminin 9. gününde, mikrobiyel yağ miktarı da (5.65 g/kg) yine 9. gününde en yüksek seviyeye ulaşmış, fermentasyon işlemi sonucunda DP-PSP’de %2.82 laktoz, %4.06 glikoz ve %3.84 galaktoz kullanılmadan kalmıştır. Laktozun yaklaşık %13’ü, glikozun %32’si, galaktozun da %22’si kullanılabilmiştir. Her üç şeker dikkate alındığında toplam şekerin yaklaşık %22’sinin kullanılabilirdiği görülmektedir. Şeker tüketimi 33.63 g/L, maksimum üretim hızı 1.08 g/L/gün, maksimum gelişme hızı ise 2.30 g/L/gün olarak tespit edilmiştir.

Kontrol besi ortamında *Mortierella ramanniana* ile yürütülen üretimde biyokütle miktarı (10.60 g/kg) fermentasyon işleminin 7. gününde, mikrobiyel yağ miktarı da (4.82 g/kg) yine 7. gününde en yüksek seviyeye ulaşmıştır. Fermentasyonun 7. gününde glikoz tamamen tüketilmiştir. Şeker tüketimi 30.00 g/L maksimum üretim hızı 0.91 g/L/gün, maksimum gelişme hızı ise 1.73 g/L/gün olarak saptanmıştır.

Hiruta vd’nin (1996a) gerçekleştirdiği çalışmada *Mortierella ramanniana* var. *angulispora* IFO 8187’nin farklı sıcaklıklarda geliştirilmesi (100 g glikoz içeren 400 ml

besi ortamında 5 gün süre ile çalkalamalı inkübatörde) durumunda üretilen biyokütle ve lipit miktarı ile yağ asitleri kompozisyonu belirlenmiştir. 20°C'de geliştirilen kültürlerde kuru biyokütle miktarı 1.6 g/L, yağ miktarı 0.96 g/L, kuru biyokütlerde yağ oranı %60; 25 °C'de geliştirilenlerde kuru biyokütle miktarı 8.2 g/L, yağ miktarı 3.9 g/L, kuru biyokütlerde yağ oranı %47.5; 30°C'de geliştirilenlerde ise kuru biyokütle miktarı 9.8 g/L, yağ miktarı 4.1 g/L, kuru biyokütlerde yağ oranı %41.8 olarak tespit edilmiştir. Araştırmacıların aynı çalışmasında *Mortierella ramanniana* var. *angulispora* IFO 8187 ve *Mortierella ramanniana* mutant MM 15-1'in (mutant bir suşu) 30°C'de sırayla 5 ve 6 günlük fermentasyonları sonucunda *Mortierella ramanniana* var. *angulispora* IFO 8187 için kuru biyokütle ağırlığı 9.7 g/L, mikrobiyel yağ miktarı 4.2 g/L; *Mortierella ramanniana* mutant MM 15-1 için kuru biyokütle ağırlığı 10.1 g/L, mikrobiyel yağ miktarı 3.6 g/L olarak tespit edilmiştir. Araştırma bulguları ile tez çalışmasında kullanılan *Mortierella ramanniana* (DSM 62752) ile gerçekleştirilen üretimler kıyaslandığında %16 laktoz içeren DP-PSP'nin fermentasyonu sonucunda düşük biyokütle (6.81 g/kg) ve yağ miktarı (0.92 g/kg) elde edildiği görülmektedir. Diğer üretimlerde yüksek biyokütle ve yağ miktarlarına ulaşılmıştır.

Hiruta vd'nin (1996b) *Mortierella ramanniana* mutant MM 15-1 ile yaptıkları çalışmada γ -linolenik asit düzeyinin artırılması amaçlanmış ve üretim için optimum koşullar belirlenmiştir. Buna göre 30 L'lik fermentörde gerçekleştirilen üretimde optimum başlangıç glikoz içeriğinin 300 g/L, optimum başlangıç pH değerinin 4.0 olduğu belirlenmiştir. Hücre konsantrasyonunun 62 ile 66 g/L arasında değiştiğini, yağ miktarının ise 30 g/L olduğu belirtilmiştir. Fermentasyon sıcaklığının etkisi incelenmiş, en yüksek lipit içeriğine (31.4 g/L) 30 °C sıcaklıkta ulaşıldığı belirtilmiş, aşılama kullanılan spor konsantrasyonunun 2.7×10^4 olması durumunda en yüksek biyokütle miktarına (81.2 g/L) ve mikrobiyel yağ miktarına (42.1 g/L) ulaşıldığı, 250 rpm karıştırma hızında en yüksek biyokütle (72.2 g/L) ve mikrobiyel yağ miktarına (37 g/L) ulaşıldığı belirtilmiştir. Araştırmada kullanılan mikroorganizma mutant bir suş olduğu için elde edilen biyokütle ve yağ miktarları oldukça yüksek bulunmuştur. Tez çalışmasında elde edilen bulgulara göre biyokütle ve yağ miktarına ait değerler mutant suşa göre daha düşük düzeydedir.

Wynn ve Ratledge'nin (2000) yaptığı çalışmada ticari olarak ARA üretiminde kullanılan *Mortierella alpina* ile glikoz (30 g/L), Tween 20 (16 g/L), Tween 40 (16 g/L) ve Tween 80 (16 g/L) içeren 200 ml'lik besi ortamının bulunduğu erlenlerde çalkalamalı inkübatörde (30°C'de, 145 rpm'de 4 gün) fermentasyonlar gerçekleştirilmiştir. Bu fermentasyonlar sonucunda glikozda yapılan üretimde kuru biyokütle miktarı 3.1 g/L, Tween 20'de 0.3 g/L, Tween 40'da 0.6 g/L ve Tween 80'de yapılan üretimde ise 0.7 g/L; kuru biyoküttele yağ oranları (w/w) ise sırayla % 19.3, %32.5, %35.5 ve %39.4 olarak bulunmuştur. Çalışma sonuçları ile tez çalışmasından elde edilen sonuçlar kıyaslandığında, tez çalışmasında daha yüksek biyokütle ve yağ oranlarına ulaşıldığı görülmektedir.

Kavadia vd (2001) *Zygorhynchus moelleri* BPIC 1703, *Zygorhynchus molleri* MUCL 1430, *Mortierella ramanniana* AHUM 2922, *Mortierella isabellina* ATHUM 2935, *Rhizopus stolonifer* LGAM (9)1, *Rhizopus stolonifer* BPIC 1676, *Mucor rouxianus* CBS 120-08 ve *Cunninghamella* sp. LGAM (9)2 ile 30 g/L glikoz içeren 50 ml besi ortamında (180 rpm, 28°C'de) GLA içeren mikrobiyel yağ üretimi amacıyla fermentasyonlar gerçekleştirmişlerdir. *Mortierella ramanniana* AHUM 2922 ile gerçekleştirilen üretimde 166 saatlik fermentasyon sonunda kuru biyokütle miktarı 6.1 g/L, yağ miktarı 1.19 g/L ve kuru biyoküttele yağ oranı %19.5 olarak tespit edilmiştir. *Mortierella isabellina* ATHUM 2935 ile gerçekleştirilen üretimde 140 saatlik fermentasyon sonunda kuru biyokütle miktarı 10.5 g/L, yağ miktarı 2.94 g/L, kuru biyoküttele yağ oranı %28.1 olarak tespit edilmiştir. Tez çalışmasında kontrol besi ortamında yürütülen fermentasyonda Kavadia vd'nin (2001) yaptıkları çalışma esas alınmıştır. Fakat tez çalışmasında *Mortierella isabellina* ATHUM 2935 yerine *Mortierella isabellina* (DSM 1414), *Mortierella ramanniana* AHUM 2922 yerine de *Mortierella ramanniana* (DSM 62752) kullanıldığı için aynı şartlarda farklı sonuçlar ortaya konulmuştur. Tez çalışmasında elde edilen sonuçlara göre *Mortierella isabellina* (DSM 1414)'nin biyokütle ve yağ miktarlarına ait değerlerin araştırmacıların sonuçları ile benzerlik ortaya koyduğu, *Mortierella ramanniana* (DSM 62752)'nin biyokütle ve yağ miktarına ait değerlerin ise daha yüksek olduğu görülmektedir.

Papanikolaou ve Aggelis'in (2002) yaptığı çalışmada saf gliserol ve endüstriyel gliserolle fermentasyonlar gerçekleştirilmiş ve *Yarrowia lipolytica* ile mikrobiyel yağ üretilmiştir. Konik erlenlerde çalkalamalı inkübatörde sınırlanmış azot ortamında gerçekleştirilen çalışmada başlangıç substrat oranı 30 g/L olarak ayarlanmış (C/N oranı 100), fermentasyon sonunda maksimum spesifik gelişme hızı $\mu_{max} = 0.21 \text{ h}^{-1}$ olarak bulunmuştur. Daha yüksek başlangıç substrat oranlarında (45, 80 ve 120 g/L) biyokütle oluşumunun 6.0 ile 7.5 g/L arasında değiştiği belirtilmiştir. Fakat erlenlerde gerçekleştirilen bu üretimlerde kuru biyokütlede yağ oranının düşük olduğunu (0.05-0.10 g/g) saptamışlardır. Bunun da sitrik asit oluşumundan kaynaklandığı, fermentasyon işleminin sürekli sistemde gerçekleştirilmesi durumunda biyokütle miktarının 8.1 g/L ve yağ miktarının da 3.5 g/L'ye kadar yükseldiğini belirlemişlerdir. Tez çalışmasından elde edilen bulgulara göre tez çalışmasındaki biyokütle ve yağ miktarına ait değerler daha yüksektir.

Papanikolaou vd'nin (2002) yaptıkları çalışmada substrat olarak doymuş yağ asitlerinden (stearin) oluşan endüstriyel bir yağda *Yarrowia lipolytica* ile gerçekleştirdikleri fermentasyonda, fermentasyon ortamının farklı başlangıç stearin konsantrasyonlarının oluşan biyokütle, yağ ve yağ asitleri üzerine etkileri belirlenmiştir. Başlangıç pH değerinin 6, sıcaklığın 28 °C, stearin/amonyum sülfat oranının 20 g/g, olduğu şartlarda 65-85 saat inkübasyon sonunda, farklı başlangıç stearin konsantrasyonlarında (4 g/L, 10 g/L, 14 g/L, 15 g/L, 16 g/L ve 20 g/L) kuru biyokütle miktarı sırayla 3.8 g/L, 8.7 g/L, 11.3 g/L, 12.5 g/L, 10.2 g/L ve 10.3 g/L olarak belirlenmiş, fermentasyon süresi içinde en yüksek mikrobiyel yağ oranları ise sırayla 1.0 g/L, 3.8 g/L, 5.7 g/L, 6.8 g/L, 5.0 g/L ve 5.1 g/L olarak saptanmıştır. Besi ortamında substrat olarak kullanılan stearin kalıntısı sırayla 0.4 g/L, 1.0 g/L, 3.2 g/L, 4.5 g/L, 5.0 g/L ve 9.9 g/L olarak tespit edilmiştir. Yapılan çalışma ile kıyaslandığında tez çalışmasında elde edilen biyokütle ve yağ miktarlarına ait değerlerin daha yüksek olduğu görülmektedir.

Papanikolaou vd'nin (2004) *Mortierella isabellina* (ATHUM 2935) ile gerçekleştirdikleri çalışmada fermentasyon ortamının başlangıç şeker konsantrasyonunun (45.0 g/L, 50.2 g/L, 60.5 g/L, 71.0 g/L ve 101.9 g/L) oluşan

biyokütle, mikrobiyel yağ ve yağ asitleri üzerine etkileri belirlenmiştir. Araştırmacılar 250 saatlik fermentasyon süresi sonunda başlangıç şeker konsantrasyonuna göre biyokütle miktarını sırasıyla 14.9 g/L, 17.2 g/L, 23.1 g/L, 24.1 g/L ve 35.9 g/L olarak, yağ miktarını ise sırayla 8.2 g/L, 9.1 g/L, 11.9 g/L, 13.0 g/L ve 18.1 g/L olarak bulmuşlardır. Kuru biyokütlerde yağ oranını sırayla 0.55 g/g, 0.53 g/g, 0.52 g/g, 0.54 g/g ve 0.50 g/g olarak saptamışlardır. Fermentasyon sonun da kullanılmadan kalan şeker miktarını sırayla 1.5 g/L, 1.8 g/L, 1.5 g/L, 1.1 g/L, 0.0 g/L olarak belirlemişlerdir. Araştırmacıların *Mortierella isabellina* (ATHUM 2935) için bulduğu sonuçlar tez çalışmasında *Mortierella isabellina* (DSM 1414) kullanılarak yapılan üretilere ait sonuçlarla benzerlik göstermektedir. Laktaz enzimi uygulanmış, glikoz içeren DP-PSP'lerde başlangıç kuru maddesinin artışı ile birlikte hem biyokütle miktarında hem de yağ miktarında artış gözlenmektedir. Araştırmacıların 45.0 g/L glikoz içeren besi ortamında gerçekleştirdiği üretilere ait sonuçları ile tez çalışmasında %4.5 (45 g/L) laktoz içeren laktaz enzimi uygulanmış DP-PSP ile gerçekleştirilen üretilerden elde edilen sonuçlar birbirine oldukça benzerlik göstermektedir.

Dong ve Walker'ın (2008) yaptığı çalışmada işlenmiş kanola pulçukları ve kekinin hem karbon hem de azot kaynağı olarak değerlendirilebileceği belirtilmiş ve 1.5 g kanola pulçukları, 1.5 g kanola keki ve 1.5 g glikoz içeren (kontrol besi ortamı) üç ayrı besi ortamında (50 ml erlenlerde) *Mortierella alpina* ve *Pythium irregulare* ile ayrı ayrı ve bunların karışık kültürleri ile gerçekleştirilen fermentasyonlar sonunda (20°C'de 150 rpm'de 7 gün) *Mortierella alpina*'nın yüksek yağ üretimi sağladığı, 1.5 g kanola pulçuğu içeren substratta 128.5 mg, kek içeren substratta 84.5 mg lipit ürettiği saptanmıştır. Tez çalışmasından elde edilen bulgularda biyokütle ve yağ miktarının daha yüksek olduğu anlaşılmaktadır.

4.5. Üretilen Mikrobiyel Yağların Yağ Asidi Kompozisyonları

Fermentasyonlarda üretilen biyokütlelerden ekstrakte edilen mikrobiyel yağların yağ asidi kompozisyonlarının GC kromatogramı üzerindeki % alan değerleri belirlenmiş ve bu değerler üzerine DP-PSP'lerin başlangıç kurumadde düzeylerinin, laktaz enzimi uygulamasının ve fermentasyon süresinin etkileri saptanmıştır.

4.5.1. *Mortierella isabellina* ile gerçekleştirilen fermentasyonlarda elde edilen mikrobiyel yağların yağ asidi kompozisyonları

Laktoz içeriği %4.5 olan DP-PSP kullanılarak *Mortierella isabellina* ile gerçekleştirilen üretimde fermentasyon süresince elde edilen mikrobiyel yağların yağ asidi kompozisyonlarının GC kromatogramı üzerindeki % alan değerlerine ait ortalama sonuçları Çizelge 4.22'de verilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, miristik asit ve eikosanoid (araşidik) asit değerlerinin bütün yağ asitleri içinde % 1'in altında olduğu tespit edilmiştir. Palmitoleik asit fermentasyonun 1. gününde en düşük değeri (%1.58) verirken, 5. gününde en yüksek düzeye (%3.22) ulaşmıştır. Palmitik asitin fermentasyonun 1. gününde en düşük değeri (%20.03) verdiği, 6. gününde ise en yüksek değeri (%27.34) gösterdiği tespit edilmiştir. Çoklu doymamış yağ asitlerinden olan γ -linolenik asitin fermentasyonun 1. gününde en yüksek değeri (%10.01) gösterdiği, fermentasyon süresince oluşan yağ miktarının artması ile birlikte azalarak 9. gününde en düşük değeri (%2.18) ortaya koyduğu belirlenmiştir. Linoleik asitin fermentasyonun 2. gününde (%14.58) en düşük düzeyinde iken, 1. gününde en yüksek değeri (%18.58) verdiği saptanmıştır. Fermentasyonun 1. gününden sonra azalma gösteren linoleik asitin fermentasyon sonlarına doğru tekrar artışa geçtiği görülmektedir. Bütün yağ asitleri içerisinde en fazla bulunan oleik asitin, fermentasyonun 1. gününde en düşük (%43.18) düzeyde olduğu, 2. gününde en yüksek (%49.15) düzeyine ulaştığı, diğer günlerde ise çok değişiklik göstermediği saptanmıştır. Stearik asitin fermentasyonun 1. gününde en yüksek düzeyde (%5.63) bulunduğu, daha sonra giderek azaldığı ve 8. gününde en düşük düzeyde (%3.06) olduğu belirlenmiştir. Fermentasyon süresince palmitoleik asit ve oleik asitin artış gösterdiği, γ -linolenik asit ve stearik asitin ise azalma ortaya koyduğu görülmektedir.

Çizelge 4.22. Laktoz içeriği %4.5 olan DP-PSP'de *Mortierella isabellina* ile gerçekleştirilen fermentasyonda elde edilen mikrobiyel yağın, yağ asidi bileşenlerinin GC kromatogramı üzerindeki ortalama % alan değerleri (X±SD)

Süre (gün)	Miristik asit	Palmitoleik asit	Palmitik asit	γ -Linolenik asit	Linoleik asit	Oleik asit	Stearik asit	Eikosanoid asit
1	0.92±0.15	1.58±0.14	20.03±1.39	10.01±0.87	18.58±0.04	43.18±0.38	5.63±0.01	0.09±0.02
2	0.60±0.15	2.19±0.01	24.27±1.50	3.49±0.06	14.58±1.29	49.15±0.49	5.25±0.17	0.49±0.04
3	0.76±0.10	2.56±0.26	25.93±0.52	3.45±0.21	15.31±0.33	46.96±1.66	4.66±0.34	0.39±0.04
4	0.81±0.06	2.70±0.11	26.13±0.67	3.18±0.15	15.70±0.01	46.81±0.85	4.29±0.15	0.40±0.01
5	0.76±0.07	3.22±0.33	25.55±0.13	3.17±0.37	16.98±0.63	46.40±1.73	3.58±0.25	0.36±0.08
6	0.92±0.03	2.93±0.04	27.34±0.35	2.57±0.08	15.63±0.12	46.83±0.30	3.55±0.11	0.25±0.06
7	0.82±0.01	3.15±0.11	25.91±0.17	2.24±0.11	16.29±0.19	47.98±0.37	3.34±0.10	0.29±0.03
8	0.70±0.02	3.13±0.14	24.64±0.52	2.84±0.40	18.44±1.00	46.86±1.53	3.06±0.31	0.34±0.08
9	0.80±0.03	3.00±0.04	25.80±0.01	2.18±0.04	16.21±0.13	48.56±0.26	3.20±0.04	0.27±0.00

X±SD: ortalama±standart sapma

Laktoz içeriği %4.5 olan laktaz enzimi uygulanmış DP-PSP kullanılarak *Mortierella isabellina* ile gerçekleştirilen üretimde fermentasyon süresince elde edilen mikrobiyel yağların yağ asidi kompozisyonlarının GC kromatogramı üzerindeki % alan değerlerine ait ortalama sonuçları izelge 4.23’de verilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, miristik asitin fermentasyonun 1. günü hariç diğer günlerinde ve eikosanoid asitin fermentasyonun bütün günlerinde, % 1’in altında değerler verdiği tespit edilmiştir. Palmitoleik asit değerinin fermentasyonun 2. gününde en düşük (%0.84) düzeyde olduğu, 1. gününde en yüksek seviyeye (%2.57) ulaştığı saptanmıştır. Palmitoleik asit değerlerinin fermentasyon sonlarında artış gösterdiği anlaşılmaktadır. Bu artışın kf hücrelerinin gelişme eğrisinde durağan faza girmesiyle birlikte fermentasyonda üretilen rezerve lipitlerin tüketilmeye başlanması ile paralellik ortaya koyduğu görülmektedir. Palmitik asit değerinin fermentasyonun 2. gününde en düşük seviyede (%20.93) olduğu, 5. gününde ise en yüksek dzeyeye (%26.02) ulaştığı tespit edilmiştir. Fermentasyonun 7. gününden sonraki durağan fazda palmitik asit düzeylerinde azalma olduğu görülmektedir. Çoklu doymamış yağ asitlerinden olan -linolenik asit değerinin fermentasyonun 2. gününde en yüksek seviyede (%10.22, 9. gününde ise en düşük (%3.23) düzeyde olduğu belirlenmiştir. Linoleik asit değerinin fermentasyonun 3. gününde (%14.20) en düşük düzeyinde iken, 7. gününde en yüksek (%20.60) seviyeyi ortaya koyduğu saptanmıştır. Fermentasyonun durağan fazında linoleik asit değerlerinde artışın olduğu dikkati çekmektedir. Bütün yağ asitleri içerisinde en fazla oranda bulunan oleik asitin, fermentasyonun 1. gününde en düşük (%41.31) düzeyde olduğu, 3. gününde en yüksek (%46.46) seviyeye ulaştığı belirlenmiştir. Stearik asit değerinin fermentasyonun 1. gününde en yüksek düzeyde (%11.80) bulunduğu, 9. gününde en düşük düzeyde (%4.39) olduğu belirlenmiştir. Fermentasyonun durağan fazında stearik asite ait değerlerin azalma ortaya koyduğu anlaşılmaktadır. Fermentasyon süresince palmitoleik asit ve linoleik asitin durağan fazda artış gösterdiği, palmitik asit ve stearik asitin ise azalma ortaya koyduğu görülmektedir.

Çizelge 4.23. Laktöz içeriği %4.5 olan laktaz enzimi uygulanmış DP-PSP'de *Mortierella isabellina* ile gerçekleştirilen fermentasyonda elde edilen mikrobiyel yağın, yağ asidi bileşenlerinin GC kromatogramı üzerindeki ortalama % alan değerleri (X±SD)

Süre (gün)	Miristik asit	Palmitoleik asit	Palmitik asit	γ -Linolenik asit	Linoleik asit	Oleik asit	Stearik asit	Eikosanoit asit
1	1.40±0.29	2.57±0.71	23.67±0.42	3.30±1.23	15.97±0.96	41.31±0.47	11.80±1.14	0.00±0.00
2	0.73±0.10	0.84±0.23	20.93±0.49	10.22±1.12	14.69±0.33	44.51±0.66	7.89±0.04	0.21±0.01
3	0.70±0.14	1.02±0.15	22.06±0.11	7.48±1.34	14.20±0.08	46.46±1.65	7.80±0.01	0.29±0.00
4	0.54±0.11	0.90±0.07	22.98±0.53	4.32±0.11	16.67±1.53	46.00±0.03	8.27±1.20	0.34±0.03
5	0.78±0.16	1.50±0.11	26.02±0.35	3.69±0.01	15.18±0.76	44.58±0.47	7.78±0.06	0.49±0.02
6	0.83±0.31	1.74±0.07	25.86±0.16	3.66±0.14	15.27±0.06	45.47±0.36	6.76±0.06	0.42±0.03
7	0.68±0.02	2.35±0.06	24.42±0.21	3.76±0.01	20.60±2.19	43.09±2.55	4.78±0.02	0.34±0.02
8	0.69±0.02	2.50±0.08	23.56±0.16	3.38±0.10	19.84±0.12	45.10±0.49	4.62±0.05	0.33±0.04
9	0.71±0.13	2.48±0.01	23.82±0.36	3.23±0.11	20.08±0.13	44.98±0.25	4.39±0.18	0.33±0.04

X±SD: ortalama±standart sapma

Laktoz içeriği %8 olan DP-PSP kullanılarak *Mortierella isabellina* ile gerçekleştirilen üretimde fermentasyon süresince elde edilen mikrobiyel yağların yağ asidi kompozisyonlarının GC kromatogramı üzerindeki % alan değerlerine ait ortalama sonuçları izelge 4.24’de verilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, miristik asit ve eikosanoid asit değerlerinin bütün yağ asitleri içinde % 1’in altında olduğu saptanmıştır. Palmitoleik asitin fermentasyonun 2. gününde (%0.23) en düşük değerini verdiği, 7. gününde (%2.50) ise en yüksek düzeye ulaştığı belirlenmiştir. Palmitik asit değerinin fermentasyonun 2. gününde (%20.94) en düşük düzeyde olduğu, 1. gününde (%28.77) ise en yüksek seviyede bulunduğu tespit edilmiştir. Çoklu doymamış yağ asitlerinden olan ̳-linolenik asit değerinin, fermentasyonun 1. gününde en düşük seviyede (%1.10) bulunduğu, 2. ve 3. gününde artış göstererek 3. gününde en yüksek düzeyine (%4.60) ulaştığı ve fermentasyon süresince oluşan yağ miktarının artması ile birlikte azalma gösterdiği belirlenmiştir. Linoleik asit değerini fermentasyonun 1. gününde (%11.02) en düşük düzeyinde iken, 5. gününde en yüksek seviyeye (%22.13) ulaştığı saptanmıştır. Bütün yağ asitleri içerisinde en fazla bulunan oleik asitin, fermentasyonun 4. gününde en düşük (%44.34), 1. gününde ise en yüksek (%52.37) düzeyde olduğu saptanmıştır. Stearik asitin fermentasyonun 1. gününde en yüksek düzeyde (%5.86) bulunduğu, 4. gününde en düşük düzeyde (%3.92) olduğu belirlenmiştir.

Çizelge 4.24. Laktöz içeriği %8 olan DP-PSP'de *Mortierella isabellina* ile gerçekleştirilen fermentasyonda elde edilen mikrobiyel yağın, yağ asidi bileşenlerinin GC kromatogramı üzerindeki ortalama % alan değerleri ($\bar{X} \pm SD$)

Süre (gün)	Miristik asit	Palmitoleik asit	Palmitik asit	γ -Linolenik asit	Linoleik asit	Oleik asit	Stearik asit	Eikosanoik asit
1	0.54±0.13	0.50±0.05	28.77±2.48	1.10±0.01	11.02±0.11	52.37±1.80	5.86±0.06	0.19±0.02
2	0.37±0.16	0.23±0.14	20.94±1.26	4.43±0.32	17.82±0.71	50.12±1.47	4.86±0.02	0.74±0.10
3	0.65±0.15	1.77±0.12	23.60±1.18	4.60±0.15	19.25±1.34	44.88±0.08	5.07±0.08	0.21±0.01
4	0.60±0.04	1.91±0.03	23.11±0.40	3.78±0.12	21.67±0.57	44.34±0.11	3.92±0.08	0.18±0.01
5	0.57±0.06	1.59±0.07	22.43±0.70	3.85±0.04	22.13±0.24	44.99±0.47	4.31±0.08	0.15±0.00
6	0.60±0.01	2.19±0.01	24.27±1.50	3.49±0.06	14.58±4.36	49.15±6.14	5.25±0.17	0.49±0.04
7	0.69±0.02	2.50±0.08	23.56±0.16	3.38±0.10	19.85±0.10	45.08±0.51	4.62±0.05	0.33±0.00
8	0.69±0.04	1.92±0.13	22.44±0.30	3.04±0.08	20.00±0.19	47.64±1.34	4.16±0.12	0.14±0.01
9	0.73±0.01	2.21±0.01	22.76±0.18	3.57±0.01	20.86±0.15	45.68±0.16	4.03±0.03	0.17±0.00

$\bar{X} \pm SD$: ortalama±standart sapma

Laktoz içeriği %8 olan laktaz enzimi uygulanmış DP-PSP kullanılarak *Mortierella isabellina* ile gerçekleştirilen üretimde fermentasyon süresince elde edilen mikrobiyel yağların yağ asidi kompozisyonlarının GC kromatogramı üzerindeki % alan değerlerine ait ortalama sonuçları izelge 4.25’de verilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, miristik asit değeri fermentasyonun 4. gününde en düşük düzeyinde (%0.81) iken, 1. gününde en yüksek seviyesinde (%1.54) bulunmuştur. Palmitoleik asit değerinin fermentasyonun 8. gününde en düşük (%1.06), 1. gününde ise en yüksek seviyede (%1.64) olduğu saptanmıştır. Palmitik asit değerinin fermentasyonun 1. gününde en düşük seviyede (%18.01) olduğu, 9. gününde ise en yüksek düzeye (%28.90) ulaştığı tespit edilmiştir. Çoklu doymamış yağ asitlerinden olan -linolenik asite ait değerin fermentasyonun 7. gününde en düşük (%0.28), 1. gününde ise en yüksek (%11.94) düzeyde olduğu belirlenmiştir. -Linolenik asit değerinin, özellikle durağan faz başlangıcı olan 8. ve 9. günlerde artış gösterdiği dikkati çekmektedir. Linoleik asit değerinin fermentasyonun 7. gününde (%4.00) en düşük düzeyinde iken, 1. gününde en yüksek (%17.94) seviyeyi ortaya koyduğu saptanmıştır. Linoleik asit değerinin de, özellikle durağan faz başlangıcı olan 8. ve 9. günlerde artış gösterdiği dikkati çekmektedir. En fazla oranda bulunan oleik asitin, fermentasyonun 1. gününde en düşük (%42.95) düzeyde olduğu, 6. gününde en yüksek (%56.17) seviyeye ulaştığı belirlenmiştir. Fermentasyonun durağan faz başlangıcı olan 8. ve 9. günlerde oleik asit değerinde azalma olduğu görülmektedir. Stearik asit değerinin fermentasyonun 2. gününde en yüksek düzeyde (%9.28) bulunduğu, 1. gününde ise en düşük düzeyde (%5.84) olduğu belirlenmiştir. Oleik asit değerlerine benzer şekilde stearik asit değerlerinde de fermentasyonun 8. ve 9. günlerinde azalma olduğu görülmektedir. Eikosanoid asit değerinin en düşük düzeyi (% 0.43) fermentasyonun 6. gününde ortaya konulurken, 2. gününde en yüksek seviyesine (%1.80) ulaşılmıştır.

Çizelge 4.25. Laktöz içeriği %8 olan laktaz enzimi uygulanmış DP-PSP'de *Mortierella isabellina* ile gerçekleştirilen fermentasyonda elde edilen mikrobiyel yağın, yağ asidi bileşenlerinin GC kromatogramı üzerindeki ortalama % alan değerleri (X±SD)

Süre (gün)	Miristik asit	Palmitoleik asit	Palmitik asit	γ -Linolenik asit	Linoleik asit	Oleik asit	Stearik asit	Eikosanoit asit
1	1.54±0.13	1.64±0.06	18.01±0.25	11.94±1.17	17.94±0.18	42.95±0.88	5.84±0.16	0.17±0.01
2	1.03±0.20	1.43±0.15	25.06±0.13	3.56±0.09	5.98±0.14	51.88±0.04	9.28±0.04	1.80±0.01
3	0.87±0.15	1.16±0.01	28.26±0.19	1.43±0.14	6.77±0.28	52.56±0.42	8.44±0.19	0.53±0.01
4	0.81±0.04	1.09±0.02	27.38±0.37	1.20±0.06	6.67±0.13	53.97±0.10	8.38±0.09	0.52±0.01
5	0.87±0.01	1.19±0.01	27.89±0.33	0.57±0.04	4.54±0.10	55.55±0.09	8.93±0.04	0.48±0.04
6	0.98±0.14	1.37±0.06	28.45±0.37	0.40±0.13	4.31±0.08	56.17±0.44	7.91±0.09	0.43±0.00
7	1.06±0.15	1.46±0.04	28.77±0.24	0.28±0.08	4.00±0.05	56.09±0.43	7.97±0.13	0.39±0.01
8	0.86±0.08	1.06±0.18	28.46±0.45	2.19±0.23	12.32±0.06	48.13±1.02	6.55±0.15	0.45±0.01
9	1.27±0.25	1.56±0.21	28.90±0.52	2.79±0.16	12.93±0.28	45.05±0.08	6.91±0.12	0.62±0.06

X±SD: ortalama±standart sapma

Laktoz içeriği %12 olan DP-PSP kullanılarak *Mortierella isabellina* ile gerçekleştirilen üretimde fermentasyon süresince elde edilen mikrobiyel yağların yağ asidi kompozisyonlarının GC kromatogramı üzerindeki % alan değerlerine ait ortalama sonuçları izelge 4.26'da verilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, miristik asit değerinin fermentasyonun 6. gününde en düşük (%0.48), 1. gününde en yüksek (%1.24) seviyede olduğu tespit edilmiştir. Palmitoleik asit değer i fermentasyonun 4. gününde en düşük (%0.99), 8. gününde ise en yüksek dzeyeye (%1.75) ulaşmıştır. Palmitik asitin, fermentasyonun 1. gününde en düşük (%17.78), 8. gününde ise en yüksek değer i (%23.10) gösterdiği tespit edilmiştir. Palmitik asitin fermentasyonun sonlarında daha yüksek değerler verdiği görülmektedir. ̳-Linolenik asitin fermentasyonun 1. gününde en yüksek değer i (%9.80) gösterdiği, fermentasyon süresince oluşan yağ miktarının artması ile birlikte azalarak 9. gününde en düşük değer i (%4.41) ortaya koyduğu belirlenmiştir. Linoleik asit değerinin fermentasyonun 1. gününde (%20.15) en düşük düzeyde iken, 5. gününde en yüksek seviyeye (%23.48) ulaştığı saptanmıştır. Bütün yağ asitleri içerisinde en fazla bulunan oleik asitin, fermentasyonun 5. gününde en düşük (%38.96), 6. gününde ise en yüksek (%43.68) düzeyde olduğu saptanmıştır. Stearik asitin, fermentasyonun 4. gününde en yüksek (%7.84), 9. gününde ise en düşük düzeyde (%5.59) olduğu belirlenmiştir. Eikosanoit asit değerinin fermentasyonun 9. gününde en yüksek (%0.22), 1. gününde ise en düşük düzeyde (%1.75) olduğu belirlenmiştir.

Çizelge 4.26. Laktoz içeriği %12 olan DP-PSP’de *Morituria isabellina* ile gerçekleştirilen fermentasyonda elde edilen mikrobiyel yağın, yağ asidi bileşenlerinin GC kromatogramı üzerindeki ortalama % alan değerleri ($\bar{X} \pm SD$)

Süre (gün)	Miristik asit	Palmitoleik asit	Palmitik asit	γ -Linolenik asit	Linoleik asit	Oleik asit	Stearik asit	Eikosanoik asit
1	1.24±0.19	1.72±0.08	17.78±0.75	9.80±0.10	20.15±0.28	40.19±0.40	7.39±0.16	1.75±1.64
2	1.00±0.01	1.12±0.08	21.07±0.04	9.66±0.24	20.29±0.09	39.11±0.65	6.68±0.41	1.08±0.14
3	0.67±0.01	1.31±0.04	21.31±0.21	7.12±0.04	20.48±0.01	41.80±0.42	7.06±0.14	0.28±0.00
4	0.53±0.16	0.99±0.39	19.92±1.85	7.48±0.07	21.81±1.59	40.99±7.08	7.84±3.98	0.46±0.18
5	0.74±0.04	1.21±0.06	20.39±0.17	7.36±0.13	23.48±0.03	38.96±0.18	7.27±0.15	0.61±0.01
6	0.48±0.06	1.17±0.03	19.79±0.81	5.31±0.06	21.57±0.24	43.68±0.27	6.90±0.30	1.11±0.15
7	0.76±0.01	1.36±0.04	22.25±0.04	5.60±0.09	22.41±0.26	40.57±0.55	6.75±0.11	0.33±0.01
8	0.91±0.11	1.75±0.17	23.10±1.09	4.94±0.16	21.77±0.02	40.94±1.41	6.33±0.08	0.28±0.01
9	0.89±0.02	1.62±0.07	22.71±0.04	4.41±0.15	21.65±0.21	42.94±0.75	5.59±0.29	0.22±0.02

$\bar{X} \pm SD$: ortalama±standart sapma

Laktoz içeriği %12 olan laktaz enzimi uygulanmış DP-PSP kullanılarak *Mortierella isabellina* ile gerçekleştirilen üretimde fermentasyon süresince elde edilen mikrobiyel yağların yağ asidi kompozisyonlarının GC kromatogramı üzerindeki % alan değerlerine ait ortalama sonuçları izelge 4.27’de verilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, miristik asit değeri fermentasyonun 7. gününde en yüksek düzeyde (%1.04) bulunmuş, diğer günlerinde ise %1’in altında seviyelerde tespit edilmiştir. Palmitoleik asit değerinin fermentasyonun 2. gününde en düşük (%0.70), 1. gününde ise en yüksek seviyede (%2.08) olduğu saptanmıştır. Palmitik asit değerinin fermentasyonun 2. gününde en düşük seviyede (%19.69) olduğu, 4. gününde ise en yüksek düzeye (%28.50) ulaştığı tespit edilmiştir. -Linolenik asite ait değerin fermentasyonun 6. gününde en düşük (%0.54), 2. gününde ise en yüksek (%6.75) düzeyde olduğu belirlenmiştir. Fermentasyonda 7. günden itibaren durağan faza girilmesiyle yağ üretiminde azalmanın meydana geldiği, özellikle 9. günde rezerve lipitlerin tüketildiği grlmştir. Söz konusu durağan fazda -linolenik asit değerlerinde büyük oranda artış olduğu dikkati çekmektedir. Linoleik asit değerinin fermentasyonun 6. gününde en düşük (%5.81) düzeyinde iken, 1. gününde en yüksek (%14.27) seviyeyi ortaya koyduğu saptanmıştır. Linoleik asit değerinin de, özellikle durağan fazda dikkate değer bir artış gösterdiği anlaşılmaktadır. Bütün yağ asitleri içerisinde en fazla oranda bulunan oleik asitin, fermentasyonun 7. gününde en düşük (%43.18), 1. gününde ise en yüksek (%53.28) seviyede olduğu belirlenmiştir. Fermentasyonun durağan fazında oleik asit değerinde azalma olduğu görülmektedir. Stearik asit değerinin fermentasyonun 3. gününde en yüksek düzeyde (%13.46) bulunduğu, 1. gününde ise en düşük düzeyde (%3.80) olduğu belirlenmiştir. Oleik asit değerlerine benzer Şekilde stearik asit değerlerinde de fermentasyonun 7., 8. ve 9. günlerinde azalma olduğu görülmektedir. Eikosanoid asit değerlerinin fermentasyonun bütün günlerinde %1’in altında düzeylerde bulunduğu saptanmıştır.

Çizelge 4.27. Laktöz içeriği %12 olan laktaz enzimi uygulanmış DP-PSP'de *Mortierella isabellina* ile gerçekleştirilen fermentasyonda elde edilen mikrobiyel yağın, yağ asidi bileşenlerinin GC kromatogramı üzerindeki ortalama % alan değerleri (X±SD)

Süre (gün)	Miristik asit	Palmitoleik asit	Palmitik asit	γ -Linolenik asit	Linoleik asit	Oleik asit	Stearik asit	Eikosanoit asit
1	0.74±0.03	2.08±0.11	23.19±1.66	2.54±0.14	14.27±1.32	53.28±0.68	3.80±0.03	0.11±0.02
2	0.90±0.04	0.70±0.14	19.69±0.66	6.75±0.40	8.57±0.11	53.14±0.25	10.10±0.05	0.18±0.02
3	0.99±0.01	0.97±0.04	26.72±0.27	2.26±0.38	7.68±1.12	47.30±0.23	13.46±0.14	0.63±0.04
4	0.96±0.01	1.04±0.03	28.50±0.13	1.36±0.28	8.07±0.05	47.89±0.51	11.56±0.01	0.64±0.01
5	0.92±0.01	1.08±0.14	28.32±0.20	0.81±0.01	5.92±0.07	50.16±0.08	12.15±0.17	0.65±0.02
6	0.87±0.11	1.10±0.22	27.13±0.70	0.54±0.16	5.81±0.64	52.59±2.46	11.39±0.50	0.59±0.13
7	1.04±0.01	0.98±0.01	26.33±0.54	3.46±0.14	16.54±0.30	43.18±0.26	7.73±0.26	0.76±0.10
8	0.95±0.01	1.09±0.04	26.56±0.53	3.24±0.08	16.52±0.11	43.32±0.23	7.60±0.08	0.75±0.01
9	0.80±0.01	0.89±0.14	25.84±1.30	3.30±0.21	15.90±0.15	44.69±1.27	7.80±0.22	0.80±0.01

X±SD: ortalama±standart sapma

Laktoz içeriği %16 olan DP-PSP kullanılarak *Mortierella isabellina* ile gerçekleştirilen üretimde fermentasyon süresince elde edilen mikrobiyel yağların yağ asidi kompozisyonlarının GC kromatogramı üzerindeki % alan değerlerine ait ortalama sonuçları izelge 4.28’de verilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, miristik asit değerinin fermentasyonun 1. gününde en yüksek (%1.11), 4. gününde ise en düşük düzeyde (%0.54) olduğu tespit edilmiştir. Palmitoleik asit değerinin fermentasyonun 4. gününde en düşük (%0.41), 3. gününde ise en yüksek seviyede (%0.95) olduğu saptanmıştır. Palmitik asit değerinin fermentasyonun 2. gününde en düşük seviyede (%18.93) olduğu, 7. gününde ise en yüksek düzeye (%23.68) ulaştığı tespit edilmiştir. Palmitik asite ait değerlerin fermentasyon süresince artış gösterdiği belirlenmiştir. ̳-Linolenik asite ait değerin fermentasyonun 9. gününde en düşük (%5.48), 2. gününde ise en yüksek (%13.85) düzeyde olduğu belirlenmiştir. Fermentasyon süresince yağ miktarındaki artışa karşı ̳-linolenik asit değerlerine azalma görülmüştür. Linoleik asit değerinin fermentasyonun 1. gününde en düşük (%17.40) düzeyde olduğu, 8. gününde ise en yüksek (%22.86) seviyeye ulaştığı saptanmıştır. Bütün yağ asitleri içerisinde en fazla oranda bulunan oleik asitin, fermentasyonun 3. gününde en düşük (%36.14), 1. gününde ise en yüksek (%44.04) seviyede olduğu belirlenmiştir. Stearik asit değerinin fermentasyonun 5. gününde en yüksek (%10.67), 2. gününde ise en düşük düzeyde (%7.99) olduğu belirlenmiştir. Stearik asit değerinin fermentasyonun 5. gününden sonra artış gösterdiği dikkati çekmektedir. Eikosanoid asit değerinin fermentasyonun 4. gününde en yüksek düzeyde (%1.05) olduğu, diğer bütün günlerinde %1’in altında seviyelerde bulunduğu saptanmıştır.

Çizelge 4.28. Laktöz içeriği %16 olan DP-PSP'de *Mortierella isabellina* ile gerçekleştirilen fermentasyonda elde edilen mikrobiyel yağın, yağ asidi bileşenlerinin GC kromatogramı üzerindeki ortalama % alan değerleri (X±SD)

Süre (gün)	Miristik asit	Palmitoleik asit	Palmitik asit	γ -Linolenik asit	Linoleik asit	Oleik asit	Stearik asit	Eikosanoit asit
1	1.11±0.01	0.76±0.12	19.14±0.14	8.54±0.03	17.40±0.23	44.04±0.28	8.05±0.01	0.98±0.01
2	1.04±0.06	0.81±0.01	18.93±0.25	13.85±1.39	17.56±0.02	38.89±1.60	7.99±0.06	0.95±0.02
3	1.01±0.00	0.95±0.05	20.64±1.22	11.57±0.87	21.31±0.79	36.14±2.89	8.13±0.06	0.27±0.10
4	0.54±0.16	0.41±0.40	20.74±0.11	8.24±0.12	21.58±0.20	38.96±0.30	8.49±0.01	1.05±0.12
5	0.65±0.01	0.72±0.01	21.19±0.06	7.53±0.00	22.76±0.24	36.15±0.24	10.67±0.02	0.34±0.01
6	0.65±0.01	0.64±0.14	21.75±0.01	6.54±0.03	22.18±0.09	37.52±0.03	10.34±0.04	0.39±0.01
7	0.75±0.14	0.75±0.01	23.68±3.26	5.89±0.05	21.07±2.22	37.04±0.99	10.43±0.13	0.41±0.02
8	0.71±0.01	0.72±0.03	22.04±0.17	5.63±0.12	22.86±0.49	37.33±0.03	10.38±0.52	0.35±0.03
9	0.77±0.01	0.78±0.03	22.50±0.19	5.48±0.02	22.43±0.06	37.60±0.22	10.08±0.01	0.38±0.01

X±SD: ortalama±standart sapma

Laktoz içeriği %16 olan laktaz enzimi uygulanmış DP-PSP kullanılarak *Mortierella isabellina* ile gerçekleştirilen üretimde fermentasyon süresince elde edilen mikrobiyel yağların yağ asidi kompozisyonlarının GC kromatogramı üzerindeki % alan değerlerine ait ortalama sonuçları izelge 4.29’da verilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, miristik asit değeri fermentasyonun 1. gününde en yüksek düzeyde (%1.81) bulunmuş, diğer günlerinde ise %1’in altında seviyelerde tespit edilmiştir. Palmitoleik asit değerinin fermentasyonun 6. gününde en düşük (%0.35), 1. gününde ise en yüksek seviyede (%2.77) olduğu saptanmıştır. Palmitik asit değerinin fermentasyonun 2. gününde en düşük seviyede (%18.34) olduğu, 9. gününde ise en yüksek düzeye (%25.30) ulaştığı tespit edilmiştir. ̳-Linolenik asite ait değerin fermentasyonun 6. gününde en düşük (%0.19), 2. gününde ise en yüksek (%7.57) düzeyde olduğu belirlenmiştir. Fermentasyonun 1., 2. ve 3. günlerinde üretilen yağ miktarının düşük seviyelerde olduğu, 5., 6. ve 7. günlerinde ise yağ üretim hızında artışın meydana geldiği; bu dönemlerin ̳-linolenik asit değerleri üzerine etkilerinin olduğu gözlenmiştir. Yağ miktarının düşük olduğu dönemde ̳-linolenik asit değerlerine bakıldığında, değişken olmakla birlikte yüksek düzeylerde seyrettiği, daha sonra oldukça azaldığı, yağ üretim hızında yükselmenin meydana geldiği 5., 6. ve 7. günlerinde ise tekrar artış gösterdiği anlaşılmakta ve oldukça dikkat çekici olarak değerlendirilmektedir. Linoleik asit değerinin fermentasyonun 6. gününde en düşük (%2.05) düzeyinde iken, 7. gününde en yüksek (%16.78) seviyeye ulaştığı saptanmıştır. Linoleik asit değerlerinin de ̳-linolenik asit değerlerine benzer şekilde gelişme gösterdiği anlaşılmaktadır. Üretilen yağ miktarının az olduğu fermentasyonun 1., 2. ve 3. günlerinde linoleik asit değerlerine bakıldığında, yüksek olmakla birlikte ilerleyen günlerde giderek azaldığı, yağ üretim hızında yükselmenin meydana geldiği 5., 6. ve 7. günlerinde ise tekrar artış gösterdiği görülmekte ve oldukça dikkat çekici olarak yorumlanmaktadır. En fazla oranda bulunan oleik asitin, fermentasyonun 9. gününde en düşük (%43.11), 3. gününde ise en yüksek (%52.78) seviyede olduğu belirlenmiştir. Oleik asit değerlerinin üretilen yağ miktarının az olduğu fermentasyonun 1., 2. ve 3. günlerinde yüksek düzeyde iken giderek azalma gösterdiği ve bu azalmanın yağ üretim hızında yükselmenin meydana geldiği 5., 6. ve 7. günlerinde oldukça belirgin hale geldiği görülmektedir. Stearik asit değerinin fermentasyonun 6. gününde en yüksek düzeyde (%23.45) bulunduğu, 8. gününde ise en düşük düzeyde (%8.98) olduğu belirlenmiştir. Stearik asite ait değerlerin de üretilen yağ

miktarının az olduğu fermentasyonun 1., 2. ve 3. günlerinde düşük seyrettiği, daha sonra artış gösterdiği ve yağ üretim hızında yükselmenin meydana geldiği 5., 6. ve 7. günlerinde tekrar azalarak oldukça düşük seviyelere indiği görölmektedir. Eikosanoid asit değerlerinin fermentasyonun bütün günlerinde %1'in altında düzeylerde bulunduğu, fermentasyon süresince artış gösterdiği saptanmıştır.

Çizelge 4.29. Laktöz içeriği %16 olan laktaz enzimi uygulanmış DP-PSP'de *Mortierella isabellina* ile gerçekleştirilen fermentasyonda elde edilen mikrobiyel yağın, yağ asidi bileşenlerinin GC kromatogramı üzerindeki ortalama % alan değerleri (X±SD)

Süre (gün)	Miristik asit	Palmitoleik asit	Palmitik asit	γ -Linolenik asit	Linoleik asit	Oleik asit	Stearik asit	Eikosanoit asit
1	1.81±0.02	2.77±0.19	21.43±1.15	1.76±0.12	16.04±0.46	47.23±0.41	8.98±0.18	0.00±0.00
2	0.94±0.02	0.45±0.16	18.34±1.43	7.57±1.48	8.69±0.04	52.20±0.28	11.71±0.00	0.12±0.01
3	0.94±0.00	0.73±0.12	22.26±0.01	3.49±0.08	5.27±0.07	52.78±0.01	14.20±0.04	0.34±0.01
4	0.81±0.02	0.47±0.04	24.95±0.39	0.56±0.16	3.29±0.07	49.89±0.72	19.49±0.02	0.57±0.02
5	0.73±0.01	0.38±0.13	24.95±0.08	0.32±0.02	2.16±0.07	48.65±0.08	22.24±0.16	0.59±0.04
6	0.73±0.00	0.35±0.13	24.28±0.19	0.19±0.13	2.05±0.05	48.48±0.25	23.45±0.13	0.50±0.03
7	0.76±0.02	0.42±0.01	24.85±0.08	2.80±0.06	16.78±0.03	43.55±0.29	10.05±0.06	0.81±0.03
8	0.77±0.01	0.44±0.01	25.27±0.10	2.75±0.14	16.25±0.05	43.26±0.10	10.46±0.09	0.82±0.02
9	0.80±0.01	0.55±0.02	25.30±0.04	2.93±0.11	16.11±0.08	43.11±0.09	10.40±0.04	0.82±0.03

X±SD: ortalama±standart sapma

Kontrol besi ortamı kullanılarak *Mortierella isabellina* ile gerçekleştirilen üretimde fermentasyon süresince elde edilen mikrobiyel yağların yağ asidi kompozisyonlarının GC kromatogramı üzerindeki % alan değerlerine ait ortalama sonuçları Çizelge 4.30'da verilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, miristik asit değeri fermentasyonun 1. gününde en yüksek düzeyde (%1.02) bulunmuş, diğer günlerinde ise %1'in altında seviyelerde tespit edilmiştir. Palmitoleik asit değerinin fermentasyonun 1. gününde en düşük (%1.15), 7. gününde ise en yüksek seviyede (%3.06) olduğu saptanmıştır. Palmitik asit değerinin fermentasyonun 1. gününde en düşük seviyede (%22.04) olduğu, 3. gününde ise en yüksek düzeye (%26.85) ulaştığı tespit edilmiştir. γ -Linolenik asit değerinin fermentasyonun 4. gününde en düşük (%1.77), 1. gününde ise en yüksek (%8.69) düzeyde olduğu belirlenmiştir. γ -Linolenik asit değerlerinin fermentasyonun logaritmik üreme fazının sonu olan 4. gününe kadar azalma ortaya koyduğu, 4. günden sonra durağan faza girilmesiyle birlikte giderek artış gösterdiği tespit edilmiştir. Linoleik asit değerinin fermentasyonun 2. gününde en düşük (%10.49) düzeyinde iken, 8. gününde en yüksek (%16.71) seviyeye ulaştığı saptanmıştır. Linoleik asit değerlerinin fermentasyonun durağan fazında artış ortaya koyduğu görülmektedir. En fazla oranda bulunan oleik asitin, fermentasyonun 7. gününde en düşük (%48.64), 5. gününde ise en yüksek (%51.54) seviyede olduğu belirlenmiştir. Stearik asit değerinin fermentasyonun 1. gününde en yüksek düzeyde (%6.37) bulunduğu, 6. gününde ise en düşük düzeyde (%3.20) olduğu belirlenmiştir. Eikosanoid asit değerlerinin fermentasyonun bütün günlerinde %1'in altında düzeylerde bulunduğu saptanmıştır.

Çizelge 4.30. Kontrol besi ortamında *Mortierella isabellina* ile gerçekleştirilen fermentasyonda elde edilen mikrobiyel yağın, yağ asidi bileşenlerinin GC kromatogramı üzerindeki ortalama % alan değerleri (X±SD)

Süre (gün)	Mirisitik asit	Palmitoleik asit	Palmitik asit	γ -Linolenik asit	Linoleik asit	Oleik asit	Stearik asit	Eikosanoid asit
1	1.02±0.03	1.15±0.09	22.04±0.11	8.69±0.08	11.47±0.56	48.87±0.11	6.37±0.04	0.40±0.00
2	0.76±0.03	1.64±0.10	24.97±0.28	4.23±0.18	10.49±0.33	50.84±1.09	6.20±0.17	0.90±0.04
3	0.75±0.06	2.17±0.21	26.85±0.86	2.31±0.17	11.92±0.33	50.61±1.73	4.58±0.09	0.83±0.02
4	0.82±0.04	2.62±0.23	26.53±0.36	1.77±0.18	12.95±0.49	49.77±1.55	4.88±0.20	0.68±0.05
5	0.65±0.01	2.41±0.01	24.14±0.47	2.60±0.04	14.49±0.12	51.54±0.18	3.37±0.03	0.81±0.02
6	0.65±0.01	2.48±0.06	23.72±0.40	2.74±0.04	14.96±0.03	51.53±0.47	3.20±0.04	0.74±0.03
7	0.71±0.04	3.06±0.11	24.66±0.07	2.77±0.21	15.71±0.71	48.64±1.18	3.67±0.20	0.75±0.06
8	0.59±0.03	2.29±0.03	22.50±0.06	3.70±0.02	16.71±0.08	49.94±0.04	3.46±0.01	0.83±0.01
9	0.58±0.07	2.85±0.22	23.08±0.66	3.01±0.11	16.25±0.24	50.12±1.39	3.31±0.07	0.82±0.03

X±SD: ortalama±standart sapma

Mortierella isabellina ile gerçekleştirilen fermentasyonlar sonucunda elde edilen mikrobiyel yağların yağ asidi kompozisyonlarının GC kromatogramı üzerindeki % alan değerlerine ait varyans analizi sonuçları izelge 4.31’de verilmiştir. Tüm ana faktörlerin (DP-PSP’lerin başlangıç kurumadde düzeyleri, laktaz enzimi uygulaması ve fermentasyon süresi) ve bunların interaksiyonlarının, rnekerin yağ asidi bileşenleri üzerine etkisi önemli ($P<0.01$) bulunmuştur.

Çizelge 4.31. Farklı bileşimlere sahip DP-PSP'lerde *Mortierella isabellina* ile gerçekleştirilen fermentasyonlar sonucunda elde edilen mikrobiyel yağların yağ asidi kompozisyonlarının GC kromatogramı üzerindeki % alan değerlerine ait varyans analizi sonuçları *

Varyasyon Kaynakları	SD	Miristik asit		Palmitoleik asit		Palmitik asit		γ -Linolenik asit		Linoleik asit		Oleik asit		Stearik asit		Eikosanoid asit	
		KO	F	KO	F	KO	F	KO	F	KO	F	KO	F	KO	F	KO	F
Kurumadde (K)	3	0.04	30.22	14.75	1766.80	54.86	342.60	30.46	2014.91	77.53	992.10	261.61	860.45	298.94	1262.45	1.11	27.98
Enzim (E)	1	0.97	659.10	4.21	503.66	196.82	1229.19	196.42	12993.6	2202.89	28188.5	345.50	1136.35	447.43	1889.51	0.46	11.66
Süre (S)	8	0.28	191.84	1.02	121.87	35.36	220.85	40.01	2646.48	79.02	1011.10	33.80	111.17	23.93	101.06	1.43	36.14
K x E	3	0.32	217.60	1.68	200.64	61.75	385.63	85.37	5647.10	280.76	3592.59	223.74	735.88	11.63	49.10	0.09	2.30
K x S	24	0.06	38.55	0.56	66.83	2.03	12.66	4.317	285.60	6.79	86.86	18.92	62.22	11.51	48.63	1.35	34.08
E x S	8	0.04	29.35	1.30	155.17	8.59	53.63	6.45	426.49	82.42	1054.66	39.74	130.72	20.01	84.50	1.52	38.32
K x E x S	24	0.08	51.18	0.37	44.23	13.10	81.79	13.50	893.10	19.24	246.17	13.63	44.81	7.60	32.08	0.46	11.47
Hata	72	0.00		0.01		0.16		0.02		0.08		0.30		0.24		0.04	

* Tüm faktörlerin ve interaksyonların etkisi $P < 0.01$ seviyesinde önemlidir

Farklı bileşimlere sahip DP-PSP'lerde *Mortierella isabellina* ile gerçekleştirilen fermentasyonlar sonucunda elde edilen mikrobiyel yağların yağ asidi kompozisyonlarının GC kromatogramı üzerindeki % alan değerleri ortalamalarına ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları Çizelge 4.32'de verilmiştir. Buna göre miristik asit değerleri %16 laktoz içeriğine sahip DP-PSP'nin fermentasyonu sonucunda en yüksek (%0.860), %4.5 laktoz içeriğine sahip DP-PSP'nin fermentasyonu sonucunda ise en düşük (%0.783) düzeyde bulunmuştur. %12 laktoz içeriğine sahip DP-PSP ile %16 laktoz içeriğine sahip DP-PSP'nin fermentasyonları sonucunda elde edilen miristik asit değerleri arasında farkın önemli düzeyde olmadığı ($P>0.05$), diğer DP-PSP'lerin fermentasyonları sonucunda elde edilen değerler arasında ise önemli düzeyde olduğu ($P<0.05$) bulunmuştur. Laktaz enzimi uygulamasının miristik asite ait değerler arasında önemli düzeyde ($P<0.05$) fark oluşturduğu, enzim uygulanmış örneklerin daha yüksek değer (%0.910) ortaya koyduğu saptanmıştır. Miristik asite ait değerlerin fermentasyonun bazı günleri arasında önemli düzeyde ($P<0.05$) farklılıklar gösterdiği, 1. gününde en yüksek (%1.159), 4. gününde ise en düşük seviyede (%0.698) olduğu belirlenmiştir. DP-PSP'lerin başlangıç kuru madde düzeylerinin palmitoleik asit değerleri üzerine etkileri önemli düzeyde ($P<0.05$) bulunmuştur. Palmitoleik asit değerleri %4.5 laktoz içeriğine sahip DP-PSP'nin fermentasyonu sonucunda en yüksek (%2.238), %16 laktoz içeriğine sahip DP-PSP'nin fermentasyonu sonucunda ise en düşük düzeyde (%0.724) belirlenmiştir. Laktaz enzimi uygulamasının palmitoleik asit değerleri üzerine önemli düzeyde ($P<0.05$) etkide bulunduğu, enzim uygulanmış örneklerde değerlerin azalma (%1.228) gösterdiği tespit edilmiştir. Palmitoleik asite ait değerlerin fermentasyonun bazı günleri arasında önemli düzeyde ($P<0.05$) farklılıklar gösterdiği, 1. gününde en yüksek (%1.699), 2. gününde ise en düşük seviyede (%0.963) olduğu belirlenmiştir. DP-PSP'lerin başlangıç kuru madde düzeylerinin palmitik asit değerleri üzerine önemli düzeyde ($P<0.05$) etkide bulunduğu belirlenmiştir. Palmitik asit değerlerinin %8 laktoz içeriğine sahip DP-PSP'nin fermentasyonu sonucunda en yüksek (%25.128), %16 laktoz içeriğine sahip DP-PSP'nin fermentasyonu sonucunda ise en düşük düzeyde (%22.311) olduğu belirlenmiştir. Laktaz enzimi uygulamasının palmitik asit değerleri üzerine önemli düzeyde ($P<0.05$) etkide bulunduğu, enzim uygulanmış örneklere ait değerlerin artış gösterdiği (%24.982) tespit edilmiştir. Palmitik asite ait değerlerin fermentasyonun bazı günleri arasında önemli düzeyde ($P<0.05$)

farklılıklar gösterdiği, 7. gününde en yüksek (%24.969), 2. gününde ise en düşük (%20.996) seviyede olduğu belirlenmiştir. DP-PSP'lerin başlangıç kuru madde düzeylerinin γ -linolenik asit değerleri üzerine önemli düzeyde ($P<0.05$) etkide bulunduğu belirlenmiştir. γ -Linolenik asit değerlerinin %16 laktoz içeriğine sahip DP-PSP'nin fermentasyonu sonucunda en yüksek (%5.280), %8 laktoz içeriğine sahip DP-PSP'nin fermentasyonu sonucunda ise en düşük (%3.128) düzeyde olduğu saptanmıştır. Laktaz enzimi uygulamasının γ -linolenik asit değerleri üzerine önemli düzeyde ($P<0.05$) etkide bulunduğu, enzim uygulaması ile değerlerin azalma (%3.196) gösterdiği tespit edilmiştir. γ -Linolenik asite ait değerlerin fermentasyonun bazı günleri arasında önemli düzeyde ($P<0.05$) farklılıklar gösterdiği, 7. gününde en yüksek (%3.418), 2. gününde ise en düşük (%7.477) seviyede olduğu belirlenmiştir. DP-PSP'lerin başlangıç kuru madde düzeylerinin linoleik asite ait değerler üzerine önemli düzeyde ($P<0.05$) etkide bulunduğu tespit edilmiştir. Linoleik asit değerlerinin %4.5 laktoz içeriğine sahip DP-PSP'nin fermentasyonu sonucunda en yüksek (%16.664), %8 laktoz içeriğine sahip DP-PSP'nin fermentasyonu sonucunda ise en düşük (%13.373) düzeyde olduğu saptanmıştır. Laktaz enzimi uygulamasının linoleik asit değerleri üzerine önemli düzeyde ($P<0.05$) etkide bulunduğu, enzim uygulamasının değerlerin azalmasına (%11.509) neden olduğu belirlenmiştir. Linoleik asite ait değerlerin fermentasyonun bütün günleri arasında önemli düzeyde ($P<0.05$) farklılıklar gösterdiği, 8. gününde en yüksek (%18.554), 6. gününde ise en düşük (%12.678) seviyede olduğu belirlenmiştir. DP-PSP'lerin başlangıç kuru madde düzeylerinin bütün yağ asitleri içerisinde en fazla oranda bulunan oleik asit değerleri üzerine önemli düzeyde ($P<0.05$) etkide bulunduğu saptanmıştır. Oleik asit değerlerinin %8 laktoz içeriğine sahip DP-PSP'nin fermentasyonu sonucunda en yüksek (%49.170), %16 laktoz içeriğine sahip DP-PSP'nin fermentasyonu sonucunda ise en düşük (%42.955) düzeyde olduğu belirlenmiştir. Laktaz enzimi uygulamasının oleik asit değerleri üzerine önemli düzeyde ($P<0.05$) etkide bulunduğu, enzim uygulaması ile değerlerin yükseldiği (%47.946) tespit edilmiştir. Oleik asite ait değerlerin fermentasyonun bazı günleri arasında önemli düzeyde ($P<0.05$) farklılıklar gösterdiği, 2. gününde en yüksek (%48.756), 9. gününde ise en düşük (%44.353) seviyede olduğu belirlenmiştir. DP-PSP'lerin başlangıç kuru madde içeriklerinin, stearik asit değerleri üzerine etkilerinin ($P<0.05$) önemli düzeyde olduğu saptanmıştır. Stearik asit değerlerinin %16 laktoz içeriğine sahip DP-PSP'nin

fermentasyonu sonucunda en yüksek (%11.954), %4.5 laktoz içeriğine sahip DP-PSP'nin fermentasyonu sonucunda ise en düşük (%5.567) düzeyde olduğu saptanmıştır. Laktaz enzimi uygulamasının stearik asite ait değerler üzerine önemli düzeyde ($P<0.05$) etkide bulunduğu, enzim uygulamasının değerin yükselmesine (%9.736) neden olduğu tespit edilmiştir. Stearik asite ait değerlerin fermentasyonun bazı günleri arasında önemli düzeyde ($P<0.05$) farklılıklar gösterdiği, 5. gününde en yüksek (%9.612), 9. gününde ise en düşük (%6.566) seviyede olduğu belirlenmiştir. DP-PSP'lerin başlangıç kuru madde içeriklerinin, eikosanoid asit değerleri üzerine etkide bulunduğu, ancak %8 ve %12 laktoz içeriğine sahip DP-PSP'lerin fermentasyonları sonucunda elde edilen eikosanoid asit değerleri arasındaki farkın önemli düzeyde olmadığı ($P>0.05$) tespit edilmiştir. Diğer DP-PSP'lerin fermentasyonları sonucunda elde edilen eikosanoid asit değerleri arasındaki farkın ise önemli düzeyde ($P<0.05$) olduğu saptanmıştır. Eikosanoid asit değerlerinin %8 laktoz içeriğine sahip DP-PSP'nin fermentasyonu sonucunda en yüksek (%0.720), %4.5 laktoz içeriğine sahip DP-PSP'nin fermentasyonu sonucunda ise en düşük (%0.311) düzeyde olduğu belirlenmiştir. Laktaz enzimi uygulamasının eikosanoid asite ait değerler üzerine önemli düzeyde ($P<0.05$) etkide bulunduğu, enzim uygulamasının değerin düşmesine (%0.493) neden olduğu tespit edilmiştir. Eikosanoid asite ait değerlerin fermentasyonun sadece 2. gününde diğer günlerinden önemli düzeyde ($P<0.05$) farklı olduğu saptanmış, fermentasyonun 2. gününde en yüksek (%1.337), 3. gününde ise en düşük (%0.366) seviyede olduğu belirlenmiştir. Ancak fermentasyonun 2. günü hariç diğer günlerinde eikosanoid değerleri arasında farklılıkların önemli düzeyde olmadığı ($P>0.05$) dikkati çekmektedir.

Sonuç olarak palmitik, oleik ve eikosanoid asit için en yüksek değerlere %8 laktozlu DP-PSP'nin fermentasyonu sonucunda ulaşılırken, palmitoleik ve linoleik asit için en yüksek değerler %4.5 laktozlu DP-PSP'nin fermentasyonu sonucunda elde edilmiştir. Miristik, γ -linolenik ve stearik asitler için ise en yüksek değerlere %16 laktozlu DP-PSP'nin fermentasyonu sonucunda ulaşılmıştır. Enzim uygulaması ile örneklerin miristik, palmitik, oleik ve stearik asit miktarları artmış, ancak palmitoleik, γ -linolenik, linoleik ve eikosanoid asit miktarları azalma göstermiştir. Fermentasyon süresine bağlı olarak da yağ asitleri değerlerinde önemli ölçüde ($P<0.05$) değişimler meydana gelmiştir. γ -Linolenik, oleik ve eikosanoid asit miktarları fermentasyonun 2.

gününde en yüksek düzeyde bulunmuştur. Fermentasyonun ilerleyen aşamalarında bu yağ asitlerinin düzeylerinde azalma görülmüştür. Linoleik asit ve palmitoleik asitlerin fermentasyonun son üç gününde artış gösterdiği, oleik asit ve stearik asitlerin ise azalma ortaya koyduğu saptanmıştır.

Çizelge 4.32. Farklı bileşimlere sahip DP-PSP'lerde *Mortierella isabellina* ile gerçekleştirilen fermentasyonlar sonucunda elde edilen mikrobiyel yağların yağ asidi kompozisyonlarının GC kromatogramı üzerindeki % alan değerleri ortalamalarına ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları ($X \pm SD$)

	Miristik asit	Palmitoleik asit	Palmitik asit	γ -Linolenik asit	Linoleik asit	Oleik asit	Stearik asit	Eikanoik asit
4.5	0.783 ^a \pm 0.030	2.238 ^a \pm 0.132	24.440 ^b \pm 0.322	4.277 ^a \pm 0.418	16.664 ^a \pm 0.345	45.720 ^c \pm 0.362	5.567 ^d \pm 0.376	0.311 ^e \pm 0.021
Kuru madde (N=36)	0.819 ^b \pm 0.047	1.485 ^b \pm 0.095	25.128 ^b \pm 0.563	3.128 ^b \pm 0.461	13.373 ^a \pm 1.093	49.170 ^a \pm 0.748	6.178 ^a \pm 0.312	0.720 ^a \pm 0.215
12	0.853 ^a \pm 0.031	1.147 ^c \pm 0.077	23.373 ^c \pm 0.562	4.769 ^b \pm 0.466	16.268 ^b \pm 1.037	47.742 ^b \pm 0.581	8.195 ^b \pm 0.429	0.630 ^a \pm 0.083
16	0.860 ^b \pm 0.046	0.724 ^d \pm 0.089	22.311 ^d \pm 0.379	5.280 ^b \pm 0.624	15.378 ^c \pm 1.246	42.955 ^d \pm 0.940	11.954 ^a \pm 0.785	0.536 ^b \pm 0.050
Enzim (N=72)	0.747 ^b \pm 0.022	1.569 ^a \pm 0.107	22.644 ^b \pm 0.298	5.532 ^a \pm 0.342	19.332 ^a \pm 0.364	44.848 ^b \pm 0.534	6.211 ^b \pm 0.274	0.606 ^b \pm 0.114
Var	0.910 ^a \pm 0.030	1.228 ^b \pm 0.079	24.982 ^a \pm 0.348	3.196 ^c \pm 0.328	11.509 ^b \pm 0.674	47.946 ^c \pm 0.522	9.736 ^c \pm 0.518	0.493 ^b \pm 0.038
1.	1.159 ^a \pm 0.102	1.699 ^a \pm 0.192	21.537 ^f \pm 0.916	6.289 ^b \pm 1.115	16.450 ^b \pm 0.687	46.833 ^c \pm 1.235	7.128 ^c \pm 0.578	0.409 ^b \pm 0.185
2.	0.830 ^b \pm 0.060	0.963 ^c \pm 0.150	20.996 ^g \pm 0.594	7.477 ^b \pm 0.897	13.209 ^b \pm 1.192	48.756 ^d \pm 1.164	7.828 ^d \pm 0.620	1.337 ^b \pm 0.453
3.	0.822 ^b \pm 0.036	1.305 ^c \pm 0.144	23.894 ^e \pm 0.691	5.111 ^c \pm 0.777	13.876 ^e \pm 1.574	46.411 ^e \pm 1.254	8.601 ^c \pm 0.848	0.366 ^b \pm 0.036
4.	0.698 ^c \pm 0.042	1.124 ^d \pm 0.195	24.211 ^d \pm 0.753	3.762 ^c \pm 0.690	14.493 ^c \pm 1.821	46.525 ^c \pm 1.063	9.026 ^d \pm 1.208	0.518 ^b \pm 0.063
5.	0.749 ^d \pm 0.028	1.359 ^c \pm 0.206	24.591 ^{bc} \pm 0.720	3.411 ^c \pm 0.691	14.081 ^f \pm 2.116	46.493 ^c \pm 1.340	9.612 ^c \pm 1.417	0.458 ^b \pm 0.041
6.	0.757 ^c \pm 0.043	1.309 ^c \pm 0.230	24.854 ^{ab} \pm 0.721	2.836 ^d \pm 0.572	12.678 ^g \pm 1.870	48.163 ^b \pm 1.328	9.441 ^a \pm 1.498	0.521 ^b \pm 0.063
7.	0.816 ^b \pm 0.036	1.618 ^b \pm 0.230	24.969 ^a \pm 0.491	3.418 ^c \pm 0.437	17.191 ^c \pm 1.404	45.140 ^d \pm 1.292	6.956 ^e \pm 0.624	0.456 ^b \pm 0.050
8.	0.782 ^c \pm 0.028	1.574 ^b \pm 0.224	24.501 ^c \pm 0.538	3.492 ^c \pm 0.282	18.554 ^d \pm 0.844	44.899 ^d \pm 0.887	6.604 ^d \pm 0.649	0.431 ^b \pm 0.057
9.	0.844 ^b \pm 0.043	1.635 ^{ab} \pm 0.212	24.763 ^{abc} \pm 0.566	3.477 ^c \pm 0.250	18.256 ^e \pm 0.828	44.353 ^c \pm 0.760	6.566 ^d \pm 0.662	0.449 ^b \pm 0.063

Değişik harfler $P < 0.05$ seviyesinde farklılık ifade eder.

Wynn ve Ratledge'nin (2000) yaptığı çalışmada ticari olarak ARA üretiminde kullanılan *Mortierella alpina* ile glikoz (30 g/L), Tween 20 (16 g/L), Tween 40 (16 g/L) ve Tween 80 (16 g/L) içeren 200 ml'lik besi ortamının bulunduğu erlenlerde çalkalamalı inkübatörde (30°C'de, 145 rpm'de 4 gün) fermentasyonlar gerçekleştirilmiştir. Bu fermentasyonlar sonucunda glikozda yapılan üretimde elde edilen mikrobiyel yağda %1.8 miristik asit, %15.9 palmitik asit, %13.1 stearik asit, %24.2 oleik asit, %7.6 linoleik asit, %4 γ -linolenik asit, %3 dihomo- γ -linolenik asit ve %18.2 araşidonik asit bulunduğu tespit edilmiştir. Mikroorganizma çeşidinin farklı olmasından dolayı yağ asidi bileşiminin tez çalışmasına ait bulgulardan farklılık ortaya koyduğu görülmektedir. *Mortierella alpina*'nın daha çok ARA ihtiva eden yağ üretiminde kullanıldığı bildirilmektedir.

Kavadia vd'nin (2001) 30 g/L glikoz içeren 50 ml besi ortamında (180 rpm, 28°C'de) GLA içeren mikrobiyel yağ üretimi amacıyla *Mortierella isabellina* ATHUM 2935 ile yaptığı fermentasyonda elde edilen mikrobiyel yağda GLA içeriği %4.3 olarak tespit edilmiştir. Araştırmacıların çalışma sonuçları ile tez çalışmasında elde edilen GLA içerisine ati değerler benzerlik göstermektedir.

Papanikolaou vd'nin (2002) yaptığı çalışmada substrat olarak endüstriyel gliserol-stearin karışımından oluşan besi ortamında *Yarrowia lipolytica* ile gerçekleştirdikleri fermentasyonda 140 saat sonunda elde edilen mikrobiyel yağın yağ asidi kompozisyonunu %17 palmitik asit, %76 stearik asit, %4.5 oleik asit, %1 linoleik asit olarak saptamışlardır. Görüldüğü gibi mayalarla üretilen mikrobiyel yağın yağ asidi kompozisyonu küflerle üretilen yağdan oldukça farklılık göstermektedir.

Papanikolaou vd'nin (2004) *Mortierella isabellina* (ATHUM 2935) ile gerçekleştirdiği çalışmada fermentasyon ortamının başlangıç şeker konsantrasyonunun (45.0 g/L, 50.2 g/L, 60.5 g/L, 71.0 g/L ve 101.9 g/L) oluşan biyokütle, mikrobiyel yağ ve yağ asitleri üzerine etkisini belirlemişlerdir. 250 saatlik fermentasyon süresi sonunda başlangıç şeker konsantrasyonuna göre elde edilen mikrobiyel yağlardaki yağ asidi kompozisyonları saptanmıştır. Başlangıç glikoz düzeyi ve fermentasyon süresinden etkilenmeksizin yağ asidi kompozisyonlarının benzer sonuçlar ortaya koyduğu tespit

edilmiştir. Elde edilen bulgulara göre yağ asitleri içerisinde yaklaşık %50 düzeylerinde olan oleik asitin en fazla oranda bulunan yağ asidi olduğu, bunu yaklaşık %22 oranı ile palmitik asitin takip ettiği, yaklaşık %15 düzeylerinde linoleik asit, %3 dolaylarında palmitoleik asit, %3.5 γ -linolenik asit ve yaklaşık %1.5 düzeylerinde stearik asitin yer aldığı saptanmıştır. Araştırmacıların *Mortierella isabellina* (ATHUM 2935) için bulunduğu sonuçlar tez çalışmasında *Mortierella isabellina* (DSM 1414) kullanılarak yapılan üretimlere ait sonuçlarla benzerlik göstermektedir. Tez çalışmasında tespit edilen palmitoleik asit düzeylerinin araştırmacıların değerlerinden daha düşük, stearik asit değerlerinin ise daha yüksek olduğu görülmektedir. Başlangıç laktoz düzeyleri dikkate alındığında %4.5, %12 ve %16 laktoz içeriğine sahip DP-PSP'lere ait örnekler ile laktaz enzimi uygulanmamış gruba ait örneklerin γ -linolenik asit düzeylerinin araştırmacıların γ -linolenik asite ait bulgularından daha yüksek olduğu anlaşılmaktadır. Ayrıca araştırmacıların bildirdiğine göre değişik çalışmalarda farklı besi ortamlarında ve farklı mikroorganizmalarla yürütülen üretimler sonucunda farklı γ -linolenik asit değerlerine ulaşıldığı ifade edilmiştir. Konu ile ilgili olarak yapılan üretimlerde; kesikli kültürde glikoz kullanılarak geliştirilmiş *M. circinelloides* ile üretilen yağda γ -linolenik asit oranının %4.8, kesikli kültürde glikoz kullanılarak geliştirilmiş *M. ramanniana* ile üretilen yağda γ -linolenik asit oranının %12.0, sürekli kültürde glikoz kullanılarak geliştirilmiş *M. rouxii* ile üretilen yağda γ -linolenik asit oranının %32.4, kesikli kültürde nişasta kullanılarak geliştirilmiş *C. echinulata* ile üretilen yağda γ -linolenik asit oranının %12.1, kesikli kültürde glikoz ve yağ kullanılarak geliştirilmiş *M. mucedo* ile üretilen yağda γ -linolenik asit oranının %3.4, kesikli kültürde glikoz ve yağ kullanılarak geliştirilmiş *C. echinulata* ile üretilen yağda γ -linolenik asit oranının %3.8, kesikli kültürde nişasta kullanılarak geliştirilmiş *C. echinulata* ile üretilen yağda γ -linolenik asit oranının %11.7, geri beslemeli kesikli kültürde glikoz kullanılarak geliştirilmiş *M. ramanniana* ile üretilen yağda γ -linolenik asit oranının %17.6, geri beslemeli kesikli kültürde asetik asit kullanılarak geliştirilmiş *M. circinelloides* ile üretilen yağda γ -linolenik asit oranının %19.4, kesikli kültürde glikoz kullanılarak geliştirilmiş *Z. moelleri* ile üretilen yağda γ -linolenik asit oranının %15.1, kesikli kültürde glikoz kullanılarak geliştirilmiş *C. echinulata* ile üretilen yağda γ -linolenik asit oranının %16.4 ve kesikli kültürde glikoz kullanılarak geliştirilmiş *M. isabellina* ile üretilen yağda γ -linolenik asit oranının %4.4 olduğu bildirilmiştir.

Dong ve Walker'ın (2008) yaptığı çalışmada işlenmiş kanola pulçukları ve kekinin hem karbon hem de azot kaynağı olarak değerlendirilebileceği belirtilmiş ve 1.5 g kanola pulçukları, 1.5 g kanola keki ve 1.5 g glikoz içeren (kontrol besi ortamı) üç ayrı besi ortamında (50 ml erlenlerde) *Mortierella alpina* ve *Pythium irregulare* ile ayrı ayrı ve bunların karışık kültürleri ile gerçekleştirilen fermentasyonlar sonunda (20°C'de 150 rpm'de 7 gün) *Mortierella alpina*'nın yüksek yağ üretimi sağladığı, 1.5 g kanola pulçuğu içeren substratta geliştirilen örnekte %20.3 ARA ve %3.3 EPA, 1.5 g kanola keki içeren substratta geliştirilen örnekte %12.5 ARA ve %2.7 EPA ve glikoz içeren substratta geliştirilen örneklerde %20.1 ARA ve %0.3 EPA saptanmıştır. *Mortierella alpina*'nın özellikle ARA ve EPA bakımından zengin bir yağ ürettiği görülmektedir. Aynı mikroorganizma ile DP-PSP'de üretimlerin denenmesi dikkat çekici sonuçların elde edilmesini sağlayabilir.

4.5.2. *Mortierella ramanniana* ile gerçekleştirilen fermentasyonlarda elde edilen mikrobiyel yağların yağ asidi kompozisyonları

Laktoz içeriği %4.5 olan DP-PSP kullanılarak *Mortierella ramanniana* ile gerçekleştirilen üretimde fermentasyon süresince elde edilen mikrobiyel yağların yağ asidi kompozisyonlarının GC kromatogramı üzerindeki % alan değerlerine ait ortalama sonuçları Çizelge 4.33'de verilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, miristik asit değeri fermentasyonun 5. gününde en yüksek düzeyi (%1.48) verirken, 9. gününde en düşük seviyede (%0.17) saptanmıştır. Palmitoleik asit fermentasyonun 1. gününde en yüksek değeri (%1.02) verirken, diğer günlerinde ise hiç (%0.00) tespit edilememiştir. Palmitik asitin fermentasyonun 9. gününde en düşük (%19.29), 1. gününde ise en yüksek değeri (%27.80) ortaya koyduğu tespit edilmiştir. Fermentasyon sırasında biyokütle ve yağ üretim hızında artışın gözlendiği 2., 6. ve 9. günlerde palmitik asit değerlerinde azalmanın olması dikkati çekmektedir. Çoklu doymamış yağ asitlerinden olan γ -linolenik asitin fermentasyonun 4. gününde en yüksek değerine (%3.72) ulaştığı, 8. gününde ise en düşük seviyede (%1.88) olduğu, fermentasyon süresince yağ üretim hızının düşük olduğu 3., 4. ve 5. günlerde yüksek değerler verdiği görülmektedir. Linoleik asit değerinin fermentasyonun 1. gününde (%8.27) en düşük düzeyinde iken, fermentasyon süresince artış göstererek 9. gününde en yüksek seviyeye (%20.62)

ulaştığı saptanmıştır. Fermentasyon sırasında biyokütle ve yağ üretim hızında artışın gözlemlendiği 2., 6. ve 9. günlerde linoleik asit değerlerinde artışın olduğu dikkati çekmektedir. Bütün yağ asitleri içerisinde en fazla oranda bulunan oleik asitin, fermentasyonun 5. gününde en düşük (%47.84) seviyede olduğu, 2. gününde ise en yüksek (%57.91) düzeyine ulaştığı saptanmıştır. Stearik asitin fermentasyonun 5. gününde en yüksek düzeyde (%8.47) bulunduğu, 2. gününde en düşük düzeyde (%2.87) olduğu belirlenmiştir. Fermentasyon sırasında biyokütle ve yağ üretim hızında artışın gözlemlendiği 2., 6. ve 9. günlerde stearik asit değerlerinde azalmaların meydana geldiği görülmektedir. Eikosanoid (araşidik) asite ait değerler fermentasyonun 2. gününde en yüksek düzeyde (%1.82), 3. ve 5. günlerinde ise en düşük seviyede (%0.13) olduğu belirlenmiştir.

Çizelge 4.33. Laktoz içeriği %4.5 olan DP-PSP'de *Mortierella ramanniana* ile gerçekleştirilen fermentasyonda elde edilen mikrobiyel yağın, yağ asidi bileşenlerinin GC kromatogramı üzerindeki ortalama % alan değerleri (X±SD)

Süre (gün)	Miristik asit	Palmitoleik asit	Palmitik asit	γ -Linolenik asit	Linoleik asit	Oleik asit	Stearik asit	Eikosanoit asit
1	0.64±0.02	1.02±0.10	27.80±0.33	2.36±0.20	8.27±0.25	54.36±0.54	5.35±0.25	0.22±0.05
2	0.36±0.03	0.00±0.00	21.85±0.66	2.57±0.13	12.63±0.13	57.91±0.83	2.87±1.64	1.82±0.15
3	0.44±0.01	0.00±0.00	20.08±0.01	3.41±0.06	13.46±0.12	54.04±0.04	8.46±0.15	0.13±0.01
4	0.54±0.01	0.00±0.00	20.46±0.37	3.72±0.33	14.72±0.25	51.95±0.23	8.28±0.02	0.35±0.02
5	1.48±0.01	0.00±0.00	24.17±0.32	3.29±0.17	14.64±0.02	47.84±0.47	8.47±0.05	0.13±0.01
6	0.24±0.04	0.00±0.00	19.87±1.55	2.47±0.33	18.23±0.64	53.17±0.59	5.87±0.04	0.17±0.00
7	0.31±0.04	0.00±0.00	20.42±0.70	2.32±0.07	17.18±0.03	53.61±0.57	5.96±0.18	0.22±0.03
8	0.20±0.04	0.00±0.00	19.44±0.86	1.88±0.16	17.75±0.39	55.20±0.62	5.38±0.21	0.17±0.06
9	0.17±0.00	0.00±0.00	19.29±0.36	2.15±0.22	20.62±0.52	52.96±0.20	4.68±0.13	0.15±0.05

X±SD: ortalama±standart sapma

Laktoz içeriği %4.5 olan laktaz enzimi uygulanmış DP-PSP kullanılarak *Mortierella ramanniana* ile gerçekleştirilen üretimde fermentasyon süresince elde edilen mikrobiyel yağların yağ asidi kompozisyonlarının GC kromatogramı üzerindeki % alan değerlerine ait ortalama sonuçları izelge 4.34’de verilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, miristik asit değeri fermentasyonun 1. gününde en yüksek düzeyi (%1.90) verirken, 9. gününde en düşük seviyede (%0.59) belirlenmiştir. Palmitoleik asit değerinin fermentasyonun 3. gününde en düşük (%0.14) düzeyde, 1. gününde en yüksek seviyede (%3.13) olduğu saptanmıştır. Palmitik asit değerinin fermentasyonun 9. gününde en düşük seviyede (%20.84), 1. gününde ise en yüksek düzeyde (%27.49) olduğu tespit edilmiştir. Palmitik asit değerlerinin fermentasyon süresince azalma gösterdiği anlaşılmaktadır. Çoklu doymamış yağ asitlerinden olan ̳-linolenik asit değerinin fermentasyonun 2. gününde en yüksek seviyede (%8.56), 7. gününde ise en düşük (%4.49) düzeyde olduğu belirlenmiştir. Fermentasyon süresince ̳-linolenik asite ait değerlerin en yüksek ve en düşük olduğu günler hariç fazla değişiklik göstermediği, ancak fermentasyon sırasında glikozun tükenmiş olduğu 7. günde en düşük seviyede olması dikkat çekmektedir. Linoleik asit değerinin fermentasyonun 7. gününde (%15.53) en düşük düzeyinde iken, 9. gününde en yüksek (%18.46) seviyeyi ortaya koyduğu saptanmıştır. Fermentasyon sırasında biyokütle ve yağ üretim hızının en fazla olduğu 5. günde linoleik asite ait değerin artış gösterdiği anlaşılmaktadır. Bütün yağ asitleri içerisinde en fazla oranda bulunan oleik asitin, fermentasyonun 1. gününde en düşük (%38.99) düzeyde olduğu, 8. gününde en yüksek (%46.94) seviyeye ulaştığı belirlenmiştir. Stearik asit değerinin fermentasyonun 7. gününde en yüksek düzeyde (%10.81) bulunduğu, 1. gününde ise en düşük düzeyde (%6.03) olduğu belirlenmiştir. Fermentasyon sırasında 6. ve 7. günler arasında glikozun tükendiği, söz konusu bu günlerde stearik asit değerlerinin yükseldiği göze çarpmaktadır. Eikosanoid asit değeri fermentasyonun 9. gününde en yüksek düzeyde (%1.04) ulaşmıştır. Fermentasyonun 1. gününde eikosanoid asit tespit edilememiştir (%0.00).

Çizelge 4.34. Laktöz içeriği %4.5 olan laktaz enzimi uygulanmış DP-PSP’de *Morrierella ramanniana* ile gerçekleştirilen fermentasyonda elde edilen mikrobiyel yağın, yağ asidi bileşenlerinin GC kromatogramı üzerindeki ortalama % alan değerleri (X±SD)

Süre (gün)	Miristik asit	Palmitoleik asit	Palmitik asit	γ -Linolenik asit	Linoleik asit	Oleik asit	Stearik asit	Eikosanoit asit
1	1.90±0.04	3.13±0.05	27.49±0.21	5.33±0.19	17.16±0.04	38.99±0.40	6.03±0.05	0.00±0.00
2	1.58±0.06	0.44±0.03	23.00±0.11	8.56±0.23	16.93±0.12	40.54±0.69	8.79±0.11	0.18±0.03
3	0.86±0.01	0.14±0.12	21.65±0.35	5.38±0.42	15.90±1.45	46.81±2.79	8.91±0.22	0.39±0.25
4	0.82±0.05	0.22±0.01	21.86±0.05	5.60±0.11	16.85±0.11	45.13±0.42	9.01±0.07	0.54±0.04
5	0.91±0.14	0.27±0.14	22.07±0.21	5.34±0.06	17.21±0.08	44.70±0.13	8.71±0.13	0.80±0.06
6	1.10±0.02	0.22±0.03	21.94±0.25	5.27±0.22	15.58±0.24	45.22±1.01	10.02±0.20	0.67±0.05
7	0.91±0.15	0.20±0.01	21.37±0.06	4.49±0.08	15.53±0.05	45.71±0.40	10.81±0.02	1.01±0.03
8	0.64±0.15	0.20±0.00	21.12±0.04	5.49±0.08	16.29±0.09	46.94±0.37	8.46±0.03	0.89±0.01
9	0.59±0.14	0.20±0.00	20.84±0.16	5.13±0.14	18.46±0.07	45.39±0.11	8.37±0.01	1.04±0.01

X±SD: ortalama±standart sapma

Laktoz içeriği %8 olan DP-PSP kullanılarak *Mortierella ramanniana* ile gerçekleştirilen üretimde fermentasyon süresince elde edilen mikrobiyel yağların yağ asidi kompozisyonlarının GC kromatogramı üzerindeki % alan değerlerine ait ortalama sonuçları izelge 4.35’de verilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, miristik asit değerini fermentasyonun 1. gününde en yüksek düzeyi (%1.45) verirken, 6. gününde en düşük seviyede (%0.61) belirlenmiştir. Palmitoleik asitin fermentasyonun 2., 3., 5. ve 8. günlerinde en düşük değerini (%0.23) verdiği, 1. gününde ise en yüksek düzeyde (%1.08) olduğu belirlenmiştir. Palmitik asit değerinin fermentasyonun 7. gününde en düşük düzeyde (%19.06) olduğu, 1. gününde ise en yüksek seviyede (%22.62) bulunduğu tespit edilmiştir. Çoklu doymamış yağ asitlerinden olan -linolenik asit değerinin, fermentasyonun 5. gününde en düşük seviyede (%4.42) bulunduğu, 1. gününde en yüksek düzeyde (%11.21) olduğu belirlenmiştir. Linoleik asit değerinin fermentasyonun 5. gününde (%14.49) en düşük düzeyde iken, 1. gününde en yüksek seviyede (%19.87) olduğu saptanmıştır. Bütün yağ asitleri içerisinde en fazla oranda bulunan oleik asite ait değerini, fermentasyonun 1. gününde en düşük (%37.37), 5. gününde ise en yüksek (%47.94) düzeyine ulaştığı saptanmıştır. Stearik asitin fermentasyonun 4. gününde en yüksek düzeyde (%9.81) bulunduğu, 1. gününde en düşük düzeyde (%6.31) olduğu belirlenmiştir. Eikosanoit asit değerinin fermentasyonun 1. gününde en düşük seviyesinde (%0.11) iken fermentasyon süresince artış gösterdiği ve 9. gününde en yüksek düzeyde (%1.91) ulaştığı belirlenmiştir.

Çizelge 4.35. Laktoz içeriği %8 olan DP-PSP'de *Mortierella ramanniana* ile gerçekleştirilen fermentasyonda elde edilen mikrobiyel yağın, yağ asidi bileşenlerinin GC kromatogramı üzerindeki ortalama % alan değerleri (X±SD)

Süre (gün)	Miristik asit	Palmitoleik asit	Palmitik asit	γ -Linolenik asit	Linoleik asit	Oleik asit	Stearik asit	Eikosanoit asit
1	1.45±0.16	1.08±0.08	22.62±0.59	11.21±0.24	19.87±0.11	37.37±0.04	6.31±0.32	0.11±0.04
2	0.91±0.01	0.23±0.01	20.76±0.13	5.88±0.11	15.15±0.06	47.52±0.31	8.99±0.01	0.58±0.01
3	0.95±0.07	0.23±0.00	20.75±0.57	5.48±0.05	15.05±0.20	47.79±0.06	9.01±0.24	0.75±0.10
4	1.05±0.14	0.25±0.02	21.07±0.49	5.21±0.02	15.00±0.01	46.61±0.25	9.81±0.08	1.02±0.04
5	0.95±0.14	0.23±0.02	21.18±0.33	4.42±0.23	14.49±0.56	47.94±0.83	9.72±0.35	1.10±0.15
6	0.61±0.01	0.24±0.02	19.70±0.12	5.33±0.21	19.74±1.10	46.53±0.71	6.72±1.59	1.16±0.11
7	0.71±0.01	0.26±0.03	19.06±0.14	5.28±0.01	17.77±0.02	46.98±0.10	8.48±0.01	1.48±0.06
8	0.71±0.01	0.23±0.03	20.07±0.10	5.00±0.06	17.22±0.06	47.02±0.04	8.32±0.04	1.45±0.01
9	0.62±0.16	0.24±0.03	19.37±0.14	5.24±0.11	18.38±0.15	46.54±0.10	7.72±0.08	1.91±0.09

X±SD: ortalama±standart sapma

Laktoz içeriği %8 olan laktaz enzimi uygulanmış DP-PSP kullanılarak *Mortierella ramanniana* ile gerçekteştirilen üretimde fermentasyon süresince elde edilen mikrobiyel yağların yağ asidi kompozisyonlarının GC kromatogramı üzerindeki % alan değerlerine ait ortalama sonuçları Çizelge 4.36'da verilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, miristik asit değeri fermentasyonun 1. gününde en yüksek seviyesinde (%1.26) iken, azalarak 9. gününde en düşük düzeyine (%0.42) gerilemiştir. Palmitoleik asit değerinin fermentasyonun 1. gününde en yüksek (%1.20), 8. gününde ise en düşük (%0.06) seviyede olduğu saptanmıştır. Palmitik asit değerinin fermentasyonun 1. gününde en yüksek seviyede (%25.47) iken, fermentasyon süresince azalarak 9. gününde en düşük düzeye (%17.11) indiği tespit edilmiştir. Çoklu doymamış yağ asitlerinden olan γ -linolenik asite ait değerin fermentasyonun 6. gününde en düşük (%3.00), 2. gününde ise en yüksek (%9.72) düzeyde olduğu belirlenmiştir. Linoleik asit değerinin fermentasyonun 5. gününde (%14.16) en düşük düzeyinde iken, 2. gününde en yüksek (%20.25) seviyeyi ortaya koyduğu saptanmıştır. Fermentasyonun ilk iki günü ile son iki günlerinde linoleik asit değerlerinin yüksek olduğu görölmektedir. En fazla oranda bulunan oleik asitin, fermentasyonun 2. gününde en düşük (%37.71) düzeyde olduğu, 7. gününde ise en yüksek (%49.89) seviyeye ulaştığı belirlenmiştir. Üretilen yağ miktarının düşük olduğu fermentasyonun 1. ve 2. günlerinde oleik asite ait değerlerin daha düşük olduğu görölmektedir. Stearik asit değerinin fermentasyonun 6. gününde en yüksek düzeyde (%13.53) bulunduğu, 8. gününde ise en düşük düzeyde (%8.65) olduğu belirlenmiştir. Oleik asit değerlerine benzer şekilde stearik asit değerlerinde de fermentasyonun 1. ve 2. günlerinde azalma olduğu görölmektedir. Stearik asit değerlerinde ayrıca fermentasyonun 8. ve 9. günlerinde de azalma göze çarpmaktadır. Eikosanoid asit değerlerinin fermentasyonun 9. günü hariç (%1.13) diğer günlerinde %1'in altında düzeylerde olduğu görölmektedir.

Çizelge 4.36. Laktaz içeriği %8 olan laktaz enzimi uygulanmış DP-PSP'de *Mortierella ramanniana* ile gerçekleştirilen fermentasyonda elde edilen mikrobiyel yağın, yağ asidi bileşenlerinin GC kromatogramı üzerindeki ortalama % alan değerleri (X±SD)

Süre (gün)	Miristik asit	Palmitoleik asit	Palmitik asit	γ -Linolenik asit	Linoleik asit	Oleik asit	Stearik asit	Eikosanoid asit
1	1.26±0.08	1.20±0.05	25.47±0.12	4.50±0.16	16.95±0.09	41.69±0.41	8.79±0.10	0.16±0.01
2	1.01±0.01	0.36±0.04	21.52±0.23	9.72±0.16	20.25±1.32	37.71±1.24	9.24±0.08	0.21±0.02
3	0.77±0.01	0.11±0.01	21.30±0.37	4.56±0.06	15.12±0.27	45.95±0.20	11.69±0.18	0.51±0.05
4	0.75±0.01	0.14±0.02	20.97±0.28	3.66±0.12	14.17±0.20	47.66±0.73	12.08±0.08	0.59±0.01
5	0.84±0.04	0.14±0.01	20.18±0.08	3.16±0.19	14.16±0.45	48.68±1.01	12.27±0.40	0.59±0.08
6	0.87±0.16	0.16±0.00	19.40±0.06	3.00±0.07	14.40±0.16	48.12±0.21	13.53±0.18	0.54±0.02
7	0.81±0.04	0.15±0.03	20.11±0.52	3.24±0.11	15.12±0.17	49.89±0.93	10.25±0.06	0.44±0.00
8	0.45±0.01	0.06±0.01	17.48±0.35	4.71±0.06	20.18±0.14	47.75±0.64	8.65±0.04	0.73±0.01
9	0.42±0.16	0.08±0.03	17.11±0.07	4.79±0.04	20.20±0.16	46.65±0.47	9.62±0.03	1.13±0.01

X±SD: ortalama±standart sapma

Laktoz içeriği %12 olan DP-PSP kullanılarak *Mortierella ramanniana* ile gerçekleştirilen üretimde fermentasyon süresince elde edilen mikrobiyel yağların yağ asidi kompozisyonlarının GC kromatogramı üzerindeki % alan değerlerine ait ortalama sonuçları izelge 4.37’de verilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, miristik asit değerinin fermentasyonun 2. günü hariç (%1.15) diğer günlerinde %1’in altında düzeylerde bulunduğu saptanmıştır. Palmitoleik asit değerlerinin fermentasyonun bütün günlerinde %1’in altında seviyelerde bulunduğu belirlenmiştir. Palmitik asitin, fermentasyonun 6. gününde en düşük (%20.06), 3. gününde ise en yüksek değer (%21.38) gösterdiği tespit edilmiştir. -Linolenik asitin fermentasyonun 2. gününde en yüksek değer (%9.64) gösterdiği, 5. gününde ise en düşük değer (%3.33) ortaya koyduğu belirlenmiştir. Linoleik asit değerinin fermentasyonun 5. gününde en düşük düzeyde (%18.89) iken, 9. gününde en yüksek seviyeye (%21.74) ulaştığı saptanmıştır. Bütün yağ asitleri içerisinde en fazla oranda bulunan oleik asitin, fermentasyonun 2. gününde en düşük (%39.61), 5. gününde ise en yüksek (%49.68) düzeyde olduğu saptanmıştır. Stearik asit değerinin, fermentasyonun 4. gününde en yüksek (%7.51) düzeye ulaştığı, sonraki günlerde azalma göstererek 9. gününde en düşük düzeye (%5.32) indiği belirlenmiştir. Eikosanoid asit değerinin fermentasyonun 6. gününden sonra artış göstererek 9. gününde en yüksek düzeye ulaştığı (%1.14), diğer günlerinde ise %1’in altında seviyelerde kaldığı belirlenmiştir.

Çizelge 4.37. Laktoz içeriği %12 olan DP-PSP'de *Mortierella ramanniana* ile gerçekleştirilen fermentasyonda elde edilen mikrobiyel yağın, yağ asidi bileşenlerinin GC kromatogramı üzerindeki ortalama % alan değerleri (X±SD)

Süre (gün)	Miristik asit	Palmitoleik asit	Palmitik asit	γ -Linolenik asit	Linoleik asit	Oleik asit	Stearik asit	Eikosanoid asit
1	0.70±0.04	0.15±0.14	21.06±0.37	5.37±0.35	19.77±0.06	45.18±0.01	7.25±0.10	0.53±0.05
2	1.15±0.30	0.27±0.01	20.79±0.42	9.64±0.31	21.64±0.30	39.61±0.78	6.52±0.18	0.40±0.28
3	0.83±0.16	0.09±0.13	21.38±0.21	5.17±0.43	20.17±0.18	45.80±0.79	6.57±0.33	0.00±0.00
4	0.72±0.01	0.14±0.01	20.74±0.09	5.96±0.10	19.59±0.16	44.96±0.59	7.51±0.53	0.41±0.01
5	0.44±0.28	0.00±0.00	20.41±0.01	3.33±0.13	18.89±0.65	49.68±0.89	6.98±0.26	0.28±0.16
6	0.55±0.04	0.13±0.01	20.06±0.47	5.00±0.06	20.45±0.20	46.83±0.12	6.37±0.52	0.62±0.03
7	0.54±0.02	0.15±0.01	20.59±0.30	4.96±0.16	20.36±0.28	46.61±0.18	5.99±0.02	0.82±0.08
8	0.53±0.01	0.18±0.02	20.40±0.23	5.24±0.16	21.46±0.08	45.86±0.52	5.36±0.19	0.99±0.01
9	0.45±0.13	0.14±0.02	20.35±0.20	5.13±0.20	21.74±0.01	45.75±0.18	5.32±0.43	1.14±0.10

X±SD: ortalama±standart sapma

Laktoz içeriği %12 olan laktaz enzimi uygulanmış DP-PSP kullanılarak *Mortierella ramanniana* ile gerçekleştirilen üretimde fermentasyon süresince elde edilen mikrobiyel yağların yağ asidi kompozisyonlarının GC kromatogramı üzerindeki % alan değerlerine ait ortalama sonuçları izelge 4.38’de verilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, miristik asit değeri fermentasyonun 2. gününde en yüksek (%1.65), 8. ve 9. günlerinde en düşük seviyede (%0.46) bulunmuştur. Miristik asit değerleri fermentasyonun ilk iki gününde yüksek iken fermentasyon süresince sürekli azalma göstermiştir. Palmitoleik asit değerinin fermentasyonun 1. gününde en yüksek (%1.27) düzeyde bulunduğu, diğer günlerinde ise %1’in altında seviyelerde kaldığı tespit edilmiştir. Palmitik asit değerinin fermentasyonun 1. gününde en yüksek seviyede (%22.23) olduğu, fermentasyon süresince azalarak 9. gününde en düşük düzeye (%16.98) indiği tespit edilmiştir. -Linolenik asite ait değerin fermentasyonun 6. gününde en düşük (%2.44), 2. gününde ise en yüksek (%7.02) düzeyde olduğu belirlenmiştir. -Linolenik asite ait değerlerin üretilen yağ miktarının oldukça düşük olduğu fermentasyonun ilk üç gününde yüksek düzeyde olduğu, daha sonra azalma gösterdiği, fermentasyonun son iki gününde ise tekrar artış ortaya koyduğu görülmektedir. Linoleik asit değerinin fermentasyonun 5. gününde en düşük (%13.23) düzeyinde iken, 9. gününde en yüksek (%21.92) seviyeyi ortaya koyduğu saptanmıştır. Linoleik asit değerlerinin de fermentasyon ortalarında azalma gösterdiği, fakat son iki günde artış ortaya koyduğu görülmektedir. Bütün yağ asitleri içerisinde en fazla oranda bulunan oleik asitin, fermentasyonun 2. gününde en düşük (%39.97), 7. gününde ise en yüksek (%48.20) seviyede olduğu belirlenmiştir. Oleik asit değerlerinin fermentasyonun son iki gününde düşük düzeylerde olduğu gözlenmektedir. Stearik asit değerinin fermentasyonun 6. gününde en yüksek düzeyde (%17.85) bulunduğu, 1. gününde ise en düşük düzeyde (%7.01) olduğu belirlenmiştir. Stearik asit değerlerinin fermentasyonun ortalarında artış gösterdiği, son iki gününde azalma ortaya koyduğu görülmektedir. Eikosanoit asit değerlerinin fermentasyonun bütün günlerinde %1’in altında düzeylerde bulunduğu saptanmıştır.

Çizelge 4.38. Laktöz içeriği %12 olan laktaz enzimi uygulanmış DP-PSP'de *Mortierella ramanniana* ile gerçekleştirilen fermentasyonda elde edilen mikrobiyel yağın, yağ asidi bileşenlerinin GC kromatogramı üzerindeki ortalama % alan değerleri (X±SD)

Süre (gün)	Miristik asit	Palmitoleik asit	Palmitik asit	γ -Linolenik asit	Linoleik asit	Oleik asit	Stearik asit	Eikosanoit asit
1	1.13±0.06	1.27±0.11	22.23±0.56	2.76±0.16	17.61±0.22	47.95±0.94	7.01±0.17	0.07±0.09
2	1.65±0.28	0.80±0.16	20.75±0.35	7.02±0.54	19.76±0.44	39.97±0.14	9.89±0.13	0.16±0.00
3	0.76±0.30	0.06±0.02	20.84±0.14	5.01±0.07	17.49±0.09	41.87±0.22	13.72±0.04	0.27±0.02
4	0.62±0.03	0.07±0.01	20.12±0.08	3.79±0.19	15.76±0.43	44.81±0.98	14.28±0.17	0.57±0.07
5	0.62±0.01	0.05±0.01	19.20±0.20	2.73±0.01	13.23±0.04	47.15±0.31	16.39±0.09	0.65±0.02
6	0.62±0.01	0.04±0.01	18.02±0.11	2.44±0.01	13.28±0.60	47.18±0.17	17.85±0.86	0.59±0.04
7	0.59±0.02	0.06±0.01	18.03±0.08	3.10±0.05	14.93±0.03	48.20±0.26	14.50±0.06	0.61±0.01
8	0.46±0.03	0.03±0.00	17.41±0.28	4.53±0.01	21.57±0.02	41.90±0.28	13.27±0.06	0.85±0.01
9	0.46±0.01	0.03±0.00	16.98±0.18	4.88±0.04	21.92±0.15	42.24±0.53	12.68±0.13	0.83±0.01

X±SD: ortalama±standart sapma

Laktoz içeriği %16 olan DP-PSP kullanılarak *Mortierella ramanniana* ile gerçekleştirilen üretimde fermentasyon süresince elde edilen mikrobiyel yağların yağ asidi kompozisyonlarının GC kromatogramı üzerindeki % alan değerlerine ait ortalama sonuçları Çizelge 4.39’da verilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, miristik asit değerinin fermentasyonun 3. gününde en yüksek (%2.04), 8. gününde ise en düşük düzeyde (%0.39) olduğu tespit edilmiştir. Miristik asite ait değerlerin fermentasyonun son üç gününde azalma gösterdiği belirlenmiştir. Palmitoleik asit fermentasyonun 1. gününde tespit edilememiş (%0.00), 3. gününde ise değerinin en yüksek seviyede (%1.75) olduğu saptanmıştır. Palmitik asit değerinin fermentasyonun 1. gününde en yüksek seviyede (%28.72) olduğu, fermentasyon süresince azalarak 9. gününde en düşük düzeye (%18.51) indiği tespit edilmiştir. γ -Linolenik asite ait değer fermentasyonun 1. gününde en düşük (%1.47), 4. gününde ise en yüksek (%9.62) düzeyde olduğu belirlenmiştir. Üretilen yağ miktarının çok düşük düzeylerde olduğu bu fermentasyon işleminde γ -linolenik asit değerlerinin fermentasyonun bütün günlerinde yüksek seviyelerde olması dikkat çekmektedir. Bilindiği gibi fermentasyonda üretilen yağ miktarının düşük olması γ -linolenik asit oranının artmasına sebep olmaktadır. Fermentasyon işleminin ortalarında γ -linolenik asit değerlerinin daha yüksek olduğu görülmektedir. Linoleik asit değerinin fermentasyonun 1. gününde en düşük (%18.39) düzeyde olduğu, 4. gününde ise en yüksek (%24.45) seviyeye ulaştığı saptanmıştır. Fermentasyon işleminin ortalarında linoleik asit değerlerinin daha yüksek olduğu görülmektedir. Bütün yağ asitleri içerisinde en fazla oranda bulunan oleik asitin, fermentasyonun 4. gününde en düşük (%34.25), 9. gününde ise en yüksek (%47.01) seviyede olduğu belirlenmiştir. Oleik asit değerleri fermentasyon işleminin ilk üç gününde yüksek iken azalma göstermiş, sonra tekrar son üç gününde artış ortaya koyarak en yüksek düzeyine ulaşmıştır. Stearik asit değerinin fermentasyonun 7. gününde en yüksek (%9.80), 8. ve 9. günlerinde ise en düşük düzeyde (%5.09) olduğu belirlenmiştir. Stearik asit değerlerinin fermentasyonun 8. ve 9. günlerinde azalma gösterdiği dikkati çekmektedir. Eikosanoit asit değerlerinin fermentasyonun bütün günlerinde %1’in altında düzeylerde bulunduğu, son iki gününde artış gösterdiği belirlenmiştir.

Çizelge 4.39. Laktoz içeriği %16 olan DP-PSP'de *Mortierella ramanniana* ile gerçekleştirilen fermentasyonda elde edilen mikrobiyel yağın, yağ asidi bileşenlerinin GC kromatogramı üzerindeki ortalama % alan değerleri (X±SD)

Süre (gün)	Mirisitik asit	Palmitoleik asit	Palmitik asit	γ -Linolenik asit	Linoleik asit	Oleik asit	Stearik asit	Eikosanoit asit
1	1.49±0.16	0.00±0.00	28.72±1.05	1.47±0.11	18.39±0.28	42.98±0.62	6.96±1.68	0.00±0.00
2	1.67±0.01	0.88±0.36	25.92±0.27	4.72±0.62	21.54±0.16	38.59±1.02	6.69±0.14	0.00±0.00
3	2.04±0.15	1.75±0.15	24.00±0.39	6.58±0.04	21.13±0.30	35.77±0.18	8.62±0.16	0.13±0.01
4	1.71±0.06	0.50±0.11	21.92±0.20	9.62±0.46	24.45±0.00	34.25±0.52	7.41±0.17	0.16±0.05
5	1.78±0.04	0.44±0.06	24.94±0.10	7.12±0.14	23.01±0.06	34.78±0.26	7.87±0.07	0.08±0.01
6	1.98±0.10	1.13±0.96	23.17±0.54	8.18±1.95	22.77±2.13	34.88±1.17	7.86±1.16	0.13±0.04
7	0.58±0.08	1.20±0.69	21.97±1.04	7.39±0.21	22.31±0.88	35.78±0.29	9.80±1.20	0.29±0.06
8	0.39±0.09	0.26±0.14	18.79±0.25	7.46±0.04	20.81±0.18	46.58±0.30	5.09±0.09	0.61±0.02
9	0.41±0.06	0.22±0.06	18.51±0.86	6.66±0.55	21.60±0.69	47.01±2.63	5.09±0.31	0.51±0.10

X±SD: ortalama±standart sapma

Laktoz içeriği %16 olan laktaz enzimi uygulanmış DP-PSP kullanılarak *Mortierella ramanniana* ile gerçekleştirilen üretimde fermentasyon süresince elde edilen mikrobiyel yağların yağ asidi kompozisyonlarının GC kromatogramı üzerindeki % alan değerlerine ait ortalama sonuçları izelge 4.40'da verilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, miristik asit değeri fermentasyonun 1. gününde en yüksek düzeyde (%3.21) iken, fermentasyon süresince azalma göstererek 8. günde en düşük seviyeye (%0.51) inmiştir. Palmitoleik asit değerinin fermentasyonun 2. gününde en yüksek düzeyde (%6.51) olduğu bulunmuştur. Palmitoleik asit, fermentasyonun kalan günlerinde hızla azalma göstermiş, 8. ve 9. günlerinde tespit edilememiştir (%0.00). Palmitik asit değerinin fermentasyonun 1. gününde en yüksek seviyesinde (%31.20) iken, fermentasyon süresince azalarak 9. gününde en düşük düzeye (%17.50) indiği tespit edilmiştir. Palmitik asit değerlerinin fermentasyonun 6. gününden sonra kf hücrelerinin durağan faza girmeye başlaması ile birlikte azalma gösterdiği dikkati çekmektedir. Fermentasyonun 1. gününde γ -linolenik asit tespit edilememiştir (%0.00). γ -Linolenik asite ait değerin fermentasyonun 3. gününde en yüksek (%5.47) düzeyde olduğu bulunmuştur. γ -Linolenik asit değerleri fermentasyonun 6. gününden sonra kf hücrelerinin durağan faza girmeye başlaması ile birlikte azalma göstermiştir. Linoleik asit değerinin fermentasyonun 1. gününde en düşük (%9.97) düzeyinde iken, artış gösterdiği, bu artışın fermentasyonun 6. gününden sonra kf hücrelerinin durağan faza girmeye başlaması ile birlikte hızlandığı ve 9. gününde en yüksek (%20.48) seviyeye ulaştığı saptanmıştır. En fazla oranda bulunan oleik asitin, fermentasyonun 3. gününde en düşük (%35.75), 1. gününde ise en yüksek (%45.46) seviyede olduğu belirlenmiştir. Oleik asit değerlerinin fermentasyonun durağan faza yöneldiği 7., 8. ve 9. günlerinde azalma gösterdiği tespit edilmiştir. Stearik asit değerinin fermentasyonun 1. gününde en düşük düzeyde (%6.96) bulunduğu, fermentasyon süresince artış göstererek 8. gününde en yüksek düzeye (%18.90) ulaştığı belirlenmiştir. Eikosanoid asit değerlerinin fermentasyonun bütün günlerinde %1'in altında düzeylerde bulunduğu, fermentasyon süresince artış gösterdiği saptanmıştır.

Çizelge 4.40. Laktöz içeriği %16 olan laktaz enzimi uygulanmış DP-PSP'de *Mortierella ramanniana* ile gerçekleştirilen fermentasyonda elde edilen mikrobiyel yağın, yağ asidi bileşenlerinin GC kromatogramı üzerindeki ortalama % alan değerleri ($\bar{X} \pm SD$)

Süre (gün)	Miristik asit	Palmitoleik asit	Palmitik asit	γ -Linolenik asit	Linoleik asit	Oleik asit	Stearik asit	Eikosanoit asit
1	3.21±0.76	3.21±0.14	31.20±0.89	0.00±0.00	9.97±0.29	45.46±0.95	6.96±0.55	0.00±0.00
2	2.00±0.72	6.51±4.91	24.56±2.06	1.08±0.04	18.23±0.86	40.20±0.45	7.44±0.78	0.00±0.00
3	1.29±0.16	0.96±0.13	22.30±0.35	5.47±0.40	19.52±0.00	35.75±0.25	14.52±1.43	0.21±0.14
4	1.03±0.40	0.61±0.67	21.06±0.88	4.84±1.21	18.93±1.14	37.51±2.72	15.69±1.46	0.36±0.11
5	0.74±0.05	0.09±0.06	19.42±0.47	4.47±0.81	18.48±0.53	39.43±0.75	16.91±0.10	0.47±0.03
6	0.65±0.01	0.05±0.03	18.59±0.23	3.79±1.36	15.83±3.99	42.07±2.88	18.64±2.57	0.40±0.15
7	0.54±0.14	0.01±0.00	17.88±0.17	3.69±0.08	19.77±0.07	38.53±0.28	18.82±0.16	0.78±0.02
8	0.51±0.01	0.00±0.00	17.66±0.27	3.58±0.06	19.82±0.09	38.79±0.32	18.90±0.11	0.76±0.01
9	0.54±0.01	0.00±0.00	17.50±0.16	3.91±0.06	20.48±0.49	38.00±0.71	18.78±0.02	0.81±0.01

$\bar{X} \pm SD$: ortalama±standart sapma

Kontrol besi ortamı kullanılarak *Mortierella ramanniana* ile gerçekleştirilen üretimde fermentasyon süresince elde edilen mikrobiyel yağların yağ asidi kompozisyonlarının GC kromatogramı üzerindeki % alan değerlerine ait ortalama sonuçları Çizelge 4.41’de verilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, miristik asit değeri fermentasyonun 1. gününde en yüksek düzeyde (%1.21) bulunmuş, diğer günlerinde ise %1’in altında seviyelerde tespit edilmiştir. Palmitoleik asit değerinin fermentasyonun 1. gününde en yüksek düzeyde (%1.38), diğer günlerinde ise %1’in altında seviyelerde olduğu belirlenmiştir. Palmitik asit değerinin fermentasyonun 1. gününde en yüksek seviyede (%26.39), 7. gününde ise en düşük düzeyde (%18.51) olduğu tespit edilmiştir. Palmitik asit değerlerinin fermentasyon süresince azalma ortaya koyduğu ancak fermentasyonun durağan fazı olan 7., 8. ve 9. günlerinde bir miktar yükseldiği görülmektedir. γ -Linolenik asit değerinin fermentasyonun 6. gününde en düşük (%6.18), 2. gününde ise en yüksek (%9.86) düzeyde olduğu belirlenmiştir. γ -Linolenik asit değerlerinin fermentasyonun 1., 2. ve 3. günlerinde yüksek olduğu, 4., 5. ve 6. günlerinde azalma gösterdiği, fermentasyonun durağan faza girdiği 7., 8. ve 9. günlerinde tekrar arttığı, durağan fazdaki bu artışı, özellikle glikozun tükendiği ve karbon kaynağı olarak rezerve lipitlerin kullanılmaya başlandığı 8. ve 9. günlerde daha yüksek olduğu dikkati çekmektedir. Linoleik asit değerinin fermentasyonun 3. gününde en düşük (%16.61) düzeyde olduğu, 7. gününde en yüksek (%21.60) seviyeye ulaştığı saptanmıştır. Linoleik asit değerlerinin fermentasyonun durağan fazında artış ortaya koyduğu görülmektedir. En fazla oranda bulunan oleik asitin, fermentasyonun 1. gününde en düşük (%35.97), 3. gününde ise en yüksek (%47.23) seviyede olduğu belirlenmiştir. Stearik asit değerinin fermentasyonun 2. gününde en yüksek düzeyde (%7.17) bulunduğu, 8. gününde ise en düşük düzeyde (%5.01) olduğu saptanmıştır. Fermentasyonun durağan fazında stearik asit değerlerinde azalma olduğu görülmektedir. Eikosanoid asit değerlerinin fermentasyonun bütün günlerinde %1’in altında düzeylerde bulunduğu saptanmıştır. Eikosanoid asit değerlerinin fermentasyonun durağan fazında daha düşük seviyelere düştüğü görülmektedir.

Çizelge 4.41. Kontrol besi ortamında *Mortierella ramanniana* ile gerçekleştirilen fermentasyonda elde edilen mikrobiyel yağın, yağ asidi bileşenlerinin GC kromatogramı üzerindeki ortalama % alan değerleri (X±SD)

Süre (gün)	Mirisitik asit	Palmitoleik asit	Palmitik asit	γ -Linolenik asit	Linoleik asit	Oleik asit	Stearik asit	Eikosanoit asit
1	1.21±0.04	1.38±0.08	26.39±0.39	9.11±0.16	19.69±0.12	35.97±0.16	6.27±0.14	0.00±0.00
2	0.72±0.01	0.24±0.06	21.29±0.50	9.86±0.33	17.27±0.07	43.14±1.19	7.17±0.42	0.32±0.21
3	0.58±0.14	0.18±0.14	19.35±0.03	8.67±0.08	16.61±0.49	47.23±0.12	7.06±0.42	0.34±0.01
4	0.44±0.02	0.22±0.01	19.70±0.01	6.30±0.12	19.16±0.08	47.15±0.37	6.43±0.07	0.62±0.05
5	0.47±0.03	0.26±0.05	20.07±0.37	6.55±0.46	18.90±0.66	46.20±1.95	6.88±0.29	0.69±0.10
6	0.43±0.02	0.21±0.01	19.44±0.15	6.18±0.07	19.32±0.02	47.19±0.53	6.54±0.28	0.72±0.02
7	0.41±0.06	0.22±0.06	18.51±0.86	6.66±0.55	21.60±0.69	47.01±2.63	5.09±0.31	0.51±0.10
8	0.40±0.02	0.24±0.03	18.61±0.10	7.14±0.23	20.93±0.32	47.08±0.86	5.01±0.10	0.61±0.06
9	0.42±0.14	0.26±0.14	18.69±0.11	7.46±0.04	20.81±0.18	46.68±0.16	5.09±0.09	0.61±0.02

X±SD: ortalama±standart sapma

Mortierella ramanniana ile gerçekleştirilen fermentasyonlar sonucunda elde edilen mikrobiyel yağların yağ asidi kompozisyonlarının GC kromatogramı üzerindeki % alan değerlerine ait varyans analizi sonuçları izelge 4.42’de verilmiştir. Tüm ana faktörlerin (DP-PSP’lerin başlangıç kurumadde düzeyleri, laktaz enzimi uygulaması ve fermentasyon süresi) ve bunların interaksiyonlarının, örneklerin yağ asidi bileşenleri üzerine etkisi önemli ($P<0.01$) bulunmuştur.

Çizelge 4.42. Farklı bileşimlere sahip DP-PSP'lerde *Mortierella ramanniana* ile gerçekleştirilen fermentasyonlar sonucunda elde edilen mikrobiyel yağların yağ asidi kompozisyonlarının GC kromatogramı üzerindeki % alan değerlerine ait varyans analizi sonuçları *

Varyasyon Kaynakları	SD	Mirisitik asit		Palmitleik asit		Palmitik asit		γ -Linolenik asit		Linoleik asit		Oleik asit		Stearik asit		Eikosanoit asit	
		KO	F	KO	F	KO	F	KO	F	KO	F	KO	F	KO	F	KO	F
Kurumadde (K)	3	2.51	165.78	8.45	288.77	36.13	214.26	7.83	54.79	113.17	289.66	597.97	928.96	862.89	3690.40	1.45	307.89
Enzim (E)	1	0.25	16.23	5.62	191.90	14.34	85.05	20.05	140.30	72.36	185.22	199.80	310.38	11.86	50.73	0.03	7.13
Süre (S)	8	1.86	122.51	5.77	197.14	77.42	459.16	7.00	48.99	28.16	72.08	24.07	37.40	182.74	781.53	1.00	211.20
K x E	3	1.05	69.21	2.17	74.05	16.87	100.03	60.63	424.30	59.93	153.39	174.64	271.30	556.09	2378.26	1.10	234.20
K x S	24	0.28	18.74	2.72	92.95	7.94	47.08	9.77	68.40	12.91	33.06	33.69	52.33	113.49	485.38	0.16	34.87
E x S	8	0.60	39.35	4.46	152.25	6.51	38.58	3.79	26.52	16.11	41.24	30.61	47.55	56.63	242.21	0.20	43.06
K x E x S	24	0.29	19.23	2.64	90.32	2.85	16.93	2.60	18.20	7.98	20.43	14.39	22.35	118.93	508.64	0.21	44.71
Hata	72	0.02		0.03		0.17		0.14		0.39		0.64		0.23		0.01	

* Tüm faktörlerin ve interaksyonların etkisi $P < 0.01$ seviyesinde önemlidir

Farklı bileşimlere sahip DP-PSP'lerde *Mortierella ramanniana* ile gerçekleştirilen fermentasyonlar sonucunda elde edilen mikrobiyel yağların yağ asidi kompozisyonlarının GC kromatogramı üzerindeki % alan değerleri ortalamalarına ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları Çizelge 4.43'de verilmiştir. Buna göre miristik asit değerleri %16 laktoz içeriğine sahip DP-PSP'nin fermentasyonu sonucunda en yüksek (%1.287), %12 laktoz içeriğine sahip DP-PSP'nin fermentasyonu sonucunda ise en düşük (%0.711) düzeyde bulunmuştur. Ancak %4.5 laktoz içeriğine sahip DP-PSP ile %12 laktoz içeriğine sahip DP-PSP'nin fermentasyonları sonucunda elde edilen miristik asit değerleri arasında farkın önemli düzeyde olmadığı ($P>0.05$), diğer DP-PSP'lerin fermentasyonları sonucunda elde edilen değerler arasında ise önemli düzeyde olduğu ($P<0.05$) bulunmuştur. Laktaz enzimi uygulamasının miristik asite ait değerler arasında önemli düzeyde ($P<0.05$) fark oluşturduğu, enzim uygulanmış örneklerin daha yüksek değer (%0.940) ortaya koyduğu saptanmıştır. Miristik asite ait değerlerin fermentasyonun bazı günleri arasında önemli düzeyde ($P<0.05$) farklılıklar gösterdiği, 1. gününde en yüksek (%1.531), 9. gününde ise en düşük seviyede (%0.456) olduğu belirlenmiştir. DP-PSP'lerin başlangıç kuru madde içeriklerinin palmitoleik asit değerleri üzerine etkide bulunduğu, fakat %4.5 laktoz içeriğine sahip DP-PSP ile %8 laktoz içeriğine sahip DP-PSP'nin fermentasyonları sonucunda elde edilen palmitoleik asit değerleri arasında farkın önemli düzeyde olmadığı ($P>0.05$), diğer DP-PSP'lerin fermentasyonları sonucunda elde edilen değerler arasında ise önemli düzeyde olduğu ($P<0.05$) saptanmıştır. Palmitoleik asit değerleri %16 laktoz içeriğine sahip DP-PSP'nin fermentasyonu sonucunda en yüksek (%1.238), %12 laktoz içeriğine sahip DP-PSP'nin fermentasyonu sonucunda ise en düşük düzeyde (%0.196) belirlenmiştir. Laktaz enzimi uygulamasının palmitoleik asit değerleri üzerine önemli düzeyde ($P<0.05$) etkide bulunduğu, enzim uygulanmış örneklerde değerlerin artış (%0.714) gösterdiği tespit edilmiştir. Palmitoleik asite ait değerlerin fermentasyonun bazı günleri arasında önemli düzeyde ($P<0.05$) farklılıklar gösterdiği, 2. gününde en yüksek (%1.621), 9. gününde ise en düşük seviyede (%0.113) olduğu belirlenmiştir. DP-PSP'lerin başlangıç kuru madde düzeylerinin palmitik asit değerleri üzerine önemli düzeyde ($P<0.05$) etkide bulunduğu belirlenmiştir. Palmitik asit değerlerinin %16 laktoz içeriğine sahip DP-PSP'nin fermentasyonu sonucunda en yüksek (%22.112), %12 laktoz içeriğine sahip DP-PSP'nin fermentasyonu sonucunda ise en düşük düzeyde (%20.095) olduğu

belirlenmiştir. Laktaz enzimi uygulamasının palmitik asit değerleri üzerine önemli düzeyde ($P<0.05$) etkide bulunduğu, enzim uygulanmış örnekler için değerlerin azalma gösterdiği (%20.807) tespit edilmiştir. Palmitik asite ait değerlerin fermentasyonun bazı günleri arasında önemli düzeyde ($P<0.05$) farklılıklar gösterdiği, 1. gününde en yüksek (%26.009), 9. gününde ise en düşük (%18.609) seviyede olduğu belirlenmiştir. Fermentasyon süresince değerlerin azalma gösterdiği anlaşılmaktadır. DP-PSP'lerin başlangıç kuru madde içeriklerinin γ -linolenik asit değerleri üzerine önemli düzeyde ($P<0.05$) etkide bulunduğu belirlenmiştir. γ -Linolenik asit değerlerinin %8 laktoz içeriğine sahip DP-PSP'nin fermentasyonu sonucunda en yüksek (%5.241), %4.5 laktoz içeriğine sahip DP-PSP'nin fermentasyonu sonucunda ise en düşük (%4.151) düzeyde olduğu saptanmıştır. Laktaz enzimi uygulamasının γ -linolenik asit değerleri üzerine önemli düzeyde ($P<0.05$) etkide bulunduğu, enzim uygulaması ile değerlerin azalma (%4.424) gösterdiği tespit edilmiştir. γ -Linolenik asite ait değerlerin fermentasyonun bazı günleri arasında önemli düzeyde ($P<0.05$) farklılıklar gösterdiği, 2. gününde en yüksek (%6.210), 1. gününde ise en düşük (%4.124) seviyede olduğu belirlenmiştir. DP-PSP'lerin başlangıç kuru madde düzeylerinin linoleik asite ait değerler üzerine önemli düzeyde ($P<0.05$) etkide bulunduğu tespit edilmiştir. Linoleik asit değerlerinin %16 laktoz içeriğine sahip DP-PSP'nin fermentasyonu sonucunda en yüksek (%19.750), %4.5 laktoz içeriğine sahip DP-PSP'nin fermentasyonu sonucunda ise en düşük (%15.853) düzeyde olduğu saptanmıştır. Laktaz enzimi uygulamasının linoleik asit değerleri üzerine önemli düzeyde ($P<0.05$) etkide bulunduğu, enzim uygulamasının değerlerin azalmasına (%17.091) neden olduğu belirlenmiştir. Linoleik asite ait değerlerin fermentasyonun bazı günleri arasında önemli düzeyde ($P<0.05$) farklılıklar gösterdiği, 9. gününde en yüksek (%20.392), 1. gününde ise en düşük (%16.089) seviyede olduğu belirlenmiştir. DP-PSP'lerin başlangıç kuru madde düzeylerinin bütün yağ asitleri içerisinde en fazla oranda bulunan oleik asit değerleri üzerine önemli düzeyde ($P<0.05$) etkide bulunduğu saptanmıştır. Oleik asit değerlerinin %4.5 laktoz içeriğine sahip DP-PSP'nin fermentasyonu sonucunda en yüksek (%48.839), %16 laktoz içeriğine sahip DP-PSP'nin fermentasyonu sonucunda ise en düşük (%39.140) düzeyde olduğu belirlenmiştir. Laktaz enzimi uygulamasının oleik asit değerleri üzerine önemli düzeyde ($P<0.05$) etkide bulunduğu, enzim uygulaması ile değerlerin azaldığı (%43.530) tespit edilmiştir. Oleik asite ait değerlerin fermentasyonun bazı günleri arasında önemli

düzeyde ($P<0.05$) farklılıklar gösterdiği, 8. gününde en yüksek (%46.146), 2. gününde ise en düşük (%41.994) seviyede olduğu belirlenmiştir. DP-PSP'lerin başlangıç kuru madde içeriklerinin, stearik asit değerleri üzerine etkilerinin ($P<0.05$) önemli düzeyde olduğu saptanmıştır. Stearik asit değerlerinin %12 laktoz içeriğine sahip DP-PSP'nin fermentasyonu sonucunda en yüksek (%18.658), %4.5 laktoz içeriğine sahip DP-PSP'nin fermentasyonu sonucunda ise en düşük (%7.410) düzeyde olduğu saptanmıştır. Laktaz enzimi uygulamasının stearik asite ait değerler üzerine önemli düzeyde ($P<0.05$) etkide bulunduğu, enzim uygulamasının değerin yükselmesine (%11.973) neden olduğu tespit edilmiştir. Stearik asite ait değerlerin fermentasyonun bazı günleri arasında önemli düzeyde ($P<0.05$) farklılıklar gösterdiği, 6. gününde en yüksek (%15.904), 1. gününde ise en düşük (%6.894) seviyede olduğu belirlenmiştir. DP-PSP'lerin başlangıç kuru madde içeriklerinin, eikosanoid asit değerleri üzerine etkilerinin ($P<0.05$) önemli düzeyde olduğu saptanmıştır. Eikosanoid asit değerlerinin %8 laktoz içeriğine sahip DP-PSP'nin fermentasyonu sonucunda en yüksek (%0.801), %16 laktoz içeriğine sahip DP-PSP'nin fermentasyonu sonucunda ise en düşük (%0.315) düzeyde olduğu belirlenmiştir. Laktaz enzimi uygulamasının eikosanoid asite ait değerler üzerine önemli düzeyde ($P<0.05$) etkide bulunduğu, enzim uygulamasının değerin düşmesine (%0.520) neden olduğu tespit edilmiştir. Eikosanoid asite ait değerlerin fermentasyonun bazı günleri arasında önemli düzeyde ($P<0.05$) farklılıklar gösterdiği, 9. gününde en yüksek (%0.938), 1. gününde ise en düşük (%0.134) seviyede olduğu belirlenmiştir.

Sonuç olarak γ -linolenik asit ve eikosanoid asit için en yüksek değerlere %8 laktozlu DP-PSP'nin fermentasyonu sonucunda ulaşılırken, oleik asit için en yüksek değerler %4.5 laktozlu DP-PSP'nin fermentasyonu sonucunda elde edilmiştir. Miristik, palmitoleik, palmitik ve linoleik asitler için ise en yüksek değerlere %16 laktozlu DP-PSP'nin fermentasyonu sonucunda ulaşılmıştır. Enzim uygulaması ile örneklerin miristik, palmitoleik ve stearik asit değerleri artmış, ancak palmitik, γ -linolenik, linoleik, oleik ve eikosanoid asit miktarları azalma göstermiştir. Fermentasyon süresine bağlı olarak da yağ asitleri değerlerinde önemli ölçüde ($P<0.05$) değişimler meydana gelmiştir. Palmitoleik ve γ -linolenik asit değerleri fermentasyonun 2. gününde en yüksek düzeyde bulunmuştur. Linoleik ve eikosanoid asitlerin fermentasyonun son üç gününde artış gösterdiği saptanmıştır.

Çizelge 4.43. Farklı bileşimlere sahip DP-PSP'lerde *Mortierella ramanniana* ile gerçekleştirilen fermentasyonlar sonucunda elde edilen mikrobiyel yağların yağ asidi kompozisyonlarının GC kromatogramı üzerindeki % alan değerleri ortalamalarına ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları (X±SD)

	Mirisfik asit	Palmitoleik asit	Palmitik asit	γ -Linolenik asit	Linoleik asit	Oleik asit	Stearik asit	Eikosanoit asit
4.5	0.758 ^c ± 0.081	0.334 ^b ± 0.122	21.839 ^b ± 0.406	4.151 ^d ± 0.289	15.853 ^d ± 0.474	48.839 ^a ± 0.880	7.410 ^d ± 0.369	0.490 ^c ± 0.077
8	0.840 ^b ± 0.042	0.297 ^b ± 0.052	20.443 ^c ± 0.306	5.241 ^a ± 0.344	16.840 ^c ± 0.392	46.020 ^b ± 0.577	9.509 ^c ± 0.313	0.801 ^a ± 0.081
12	0.711 ^c ± 0.051	0.196 ^c ± 0.053	20.095 ^d ± 0.282	4.807 ^c ± 0.291	18.757 ^b ± 0.482	44.825 ^c ± 0.509	18.658 ^a ± 2.503	0.536 ^b ± 0.054
16	1.287 ^b ± 0.138	1.238 ^a ± 0.398	22.112 ^a ± 0.679	4.991 ^b ± 0.431	19.750 ^a ± 0.539	39.140 ^d ± 0.713	11.168 ^b ± 0.892	0.315 ^d ± 0.047
Enzim (N=72)	0.857 ^b ± 0.063 0.940 ^b ± 0.070	0.319 ^b ± 0.053 0.714 ^b ± 0.212	21.438 ^a ± 0.288 20.807 ^b ± 0.364	5.170 ^a ± 0.269 4.424 ^b ± 0.212	18.509 ^a ± 0.419 17.091 ^b ± 0.315	45.886 ^a ± 0.731 43.530 ^b ± 0.490	11.399 ^b ± 1.446 11.973 ^a ± 0.460	0.551 ^a ± 0.062 0.520 ^b ± 0.036
1.	1.531 ^a ± 0.235	1.505 ^a ± 0.349	26.009 ^a ± 0.953	4.124 ^c ± 0.829	16.089 ^f ± 1.016	44.453 ^{cd} ± 1.319	6.894 ^e ± 0.275	0.134 ^e ± 0.043
2.	1.227 ^b ± 0.111	1.621 ^a ± 0.822	22.073 ^b ± 0.454	6.210 ^b ± 0.783	17.839 ^c ± 0.952	41.994 ^e ± 1.708	7.246 ^f ± 0.639	0.416 ^c ± 0.146
3.	0.991 ^c ± 0.117	0.403 ^b ± 0.151	21.816 ^c ± 0.346	5.111 ^b ± 0.220	17.094 ^{de} ± 0.651	44.190 ^d ± 1.499	10.099 ^a ± 0.711	0.296 ^f ± 0.061
4.	0.904 ^c ± 0.093	0.238 ^{cd} ± 0.067	21.015 ^d ± 0.167	5.296 ^b ± 0.481	17.413 ^{cd} ± 0.833	44.132 ^d ± 1.380	10.506 ^d ± 0.769	0.498 ^d ± 0.062
5.	0.969 ^c ± 0.108	0.152 ^{cd} ± 0.037	21.548 ^c ± 0.509	4.231 ^{de} ± 0.356	16.691 ^e ± 0.787	44.971 ^{bc} ± 1.269	10.843 ^d ± 0.955	0.497 ^d ± 0.087
6.	0.815 ^d ± 0.123	0.246 ^{cd} ± 0.108	20.091 ^c ± 0.425	4.433 ^d ± 0.492	17.452 ^{cd} ± 0.866	45.428 ^b ± 1.294	15.904 ^a ± 3.202	0.531 ^d ± 0.079
7.	0.708 ^e ± 0.092	0.252 ^c ± 0.105	19.926 ^c ± 0.370	4.305 ^{de} ± 0.386	17.870 ^c ± 0.659	45.546 ^b ± 1.410	15.549 ^b ± 3.095	0.705 ^c ± 0.100
8.	0.489 ^f ± 0.037	0.119 ^{cd} ± 0.026	19.014 ^d ± 0.348	4.732 ^c ± 0.386	19.359 ^b ± 0.486	46.146 ^a ± 1.158	14.114 ^a ± 3.191	0.803 ^b ± 0.087
9.	0.456 ^f ± 0.034	0.113 ^d ± 0.024	18.609 ^d ± 0.331	4.735 ^c ± 0.315	20.392 ^a ± 0.335	45.516 ^b ± 1.043	14.021 ^c ± 3.237	0.938 ^a ± 0.125

Değişik harfler $P < 0.05$ seviyesinde farklılık ifade eder.

Hiruta vd'nin (1996a) gerçekleştirdiği çalışmada *Mortierella ramanniana* var. *angulispora* IFO 8187'nin farklı sıcaklıklarda geliştirilmesi (100 g glikoz içeren 400 ml besi ortamında 5 gün süre ile çalkalamalı inkübatörde) durumunda üretilen biyokütle ve lipit miktarı ile yağ asitleri kompozisyonu belirlenmiştir. 20°C'de geliştirilen kültürlerde elde edilen mikrobiyel yağların yağ asidi kompozisyonu %27.0 palmitik asit (C16:0), %4.1 stearik asit (C18:0), %39.6 oleik asit (C:18:1), %15.3 linoleik asit (C18:2) ve %12.7 γ -linolenik asit (C18:3); 25 °C'de geliştirilenlerde %24.0 palmitik asit (C16:0), %4.8 stearik asit (C18:0), %48.5 oleik asit (C:18:1), %12.0 linoleik asit (C18:2) ve %9.6 γ -linolenik asit (C18:3); 30°C'de geliştirilenlerde ise %23.2 palmitik asit (C16:0), %5.1 stearik asit (C18:0), %53.0 oleik asit (C:18:1), %10.5 linoleik asit (C18:2) ve %7.2 γ -linolenik asit (C18:3) olarak tespit edilmiştir. Araştırmacıların aynı çalışmasında *Mortierella ramanniana* var. *angulispora* IFO 8187 ve *Mortierella ramanniana* mutant MM 15-1'in (mutant bir suşu) 30°C'de sırayla 5 ve 6 günlük fermentasyonları sonucunda *Mortierella ramanniana* var. *angulispora* IFO 8187 için elde edilen mikrobiyel yağların yağ asidi kompozisyonu %24.5 palmitik asit (C16:0), %3.6 stearik asit (C18:0), %51.0 oleik asit (C:18:1), %10.2 linoleik asit (C18:2) ve %7.0 γ -linolenik asit (C18:3); *Mortierella ramanniana* mutant MM 15-1 için %26.5 palmitik asit (C16:0), %4.8 stearik asit (C18:0), %39.0 oleik asit (C:18:1), %13.4 linoleik asit (C18:2) ve %13.9 γ -linolenik asit (C18:3) olarak tespit edilmiştir. Araştırmacıların bulguları ile tez çalışmasında *Mortierella ramanniana* (DSM 62752) ile gerçekleştirilen üretimlerden elde edilen mikrobiyel yağların yağ asidi kompozisyonları ortalamalarına ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları kıyaslandığında (Çizelge 4.43), tez çalışmasında saptanan palmitik asit değerlerinin, fermentasyonun 1. gününe ait olanlar dışında araştırmacıların tespit ettiği palmitik asit değerlerinden daha düşük düzeylerde olduğu görülmektedir. Tez çalışmasında tespit edilen stearik asit değerlerinin daha yüksek olduğu anlaşılmaktadır. Oleik asit değerlerine bakıldığında, araştırmacıların 20°C'de *Mortierella ramanniana* var. *angulispora* IFO 8187 ile gerçekleştirdiği üretime ait örnek ile 30°C'de *Mortierella ramanniana* mutant MM 15-1 ile gerçekleştirdikleri üretime ait örneğin tez çalışmasındaki %16 laktöz içeriğine sahip DP-PSP'lerde gerçekleştirilen üretime ait örneklerin değeri ile benzerlik gösterdiği (~%39), tez çalışmasındaki diğer örneklere ait değerlerin araştırmacıların tespit ettiği değerlerden daha düşük düzeylerde olduğu gözlenmektedir. Linoleik asit değerleri bakımından

araştırcıların 20°C’de *Mortierella ramanniana* var. *angulispora* IFO 8187 ile gerçekleştirdiği üretimde ait örnek ile tez çalışmasındaki %4.5 laktoz içeriğine sahip DP-PSP’lerden elde edilen örneklerle benzerlik gösterdiği (~%15), tez çalışmasındaki diğer örneklerin daha yüksek olduğu görülmektedir. Tez çalışmasındaki γ -linolenik asit değerlerinin araştırcıların bulgularına göre daha düşük olduğu anlaşılmaktadır.

Hiruta vd’nin (1996b) *Mortierella ramanniana* mutant MM 15-1 ile yaptıkları çalışmada γ -linolenik asit düzeyinin artırılması amaçlanmış ve üretim için optimum koşullar belirlenmiştir. Çalışmada fermentasyon sıcaklığının etkisi incelenmiş, en yüksek γ -linolenik asit içeriğine (%17.6) 20 °C sıcaklıkta ulaşıldığı ifade edilmiş, aşılamada kullanılan spor konsantrasyonunun 1×10^3 olması durumunda pellet formundaki misellerden en yüksek γ -linolenik asit miktarına (%18.9) ulaşıldığı, 320 rpm karıştırma hızında en yüksek γ -linolenik asit miktarının (%18.1) elde edildiği belirtilmiştir. Bu karıştırma hızında yağ asitleri bileşimi; %0.5 miristik asit, %29.4 palmitik asit, %2.9 palmitoleik asit, %2.1 stearik asit, %32.6 oleik asit %13.2 linoleik asit ve %18.1 γ -linolenik asit olarak belirlenmiştir. Araştırmada kullanılan mikroorganizma mutant bir suş olduğu için elde edilen mikrobiyel yağdaki γ -linolenik asit değerleri oldukça yüksek düzeylerde bulunmuştur. Tez çalışmasında kullanılan *Mortierella ramanniana* (DSM 62752) ile gerçekleştirilen fermentasyonlardan elde edilen mikrobiyel yağların γ -linolenik asit içeriğinden yaklaşık 4 kat daha yüksek düzeyde olduğu görülmektedir. Tez çalışmasında elde edilen miristik asit, stearik asit, oleik asit ve linoleik asit değerlerinin araştırcıların elde ettiği değerlerden daha yüksek olduğu, palmitik asit ve palmitolek asit değerlerinin daha düşük, γ -linolenik asit değerlerinin ise oldukça düşük seviyelerde olduğu anlaşılmaktadır.

Kavadia vd’nin (2001) 30 g/L glikoz içeren 50 ml besi ortamında (180 rpm, 28°C’de) GLA içeren mikrobiyel yağ üretimi amacıyla *Mortierella ramanniana* ATHUM 2922 ile yaptığı fermentasyonda elde edilen mikrobiyel yağda GLA içeriği %9.7 olarak tespit edilmiştir. Tez çalışmasında kontrol besi ortamında *Mortierella ramanniana* (DSM 62752) ile yapılan fermentasyonla araştırcıların sonuçları benzerlik göstermektedir. Ancak DP-PSP’lerde gerçekleştirilen fermentasyonlarda GLA içeriği daha düşük bulunmuştur.

Papanikolaou vd'nin (2004) bildirdiğine göre değişik çalışmalarda farklı besi ortamlarında ve farklı mikroorganizmalarla yürütülen üretimler sonucunda farklı γ -linolenik asit değerlerine ulaşıldığı ifade edilmiştir. Konu ile ilgili olarak yapılan üretimlerde; kesikli kültürde glikoz kullanılarak geliştirilmiş *M. circinelloides* ile üretilen yağda γ -linolenik asit oranının %4.8, kesikli kültürde glikoz kullanılarak geliştirilmiş *M. ramanniana* ile üretilen yağda γ -linolenik asit oranının %12.0, sürekli kültürde glikoz kullanılarak geliştirilmiş *M. rouxii* ile üretilen yağda γ -linolenik asit oranının %32.4, kesikli kültürde nişasta kullanılarak geliştirilmiş *C. echinulata* ile üretilen yağda γ -linolenik asit oranının %12.1, kesikli kültürde glikoz ve yağ kullanılarak geliştirilmiş *M. mucedo* ile üretilen yağda γ -linolenik asit oranının %3.4, kesikli kültürde glikoz ve yağ kullanılarak geliştirilmiş *C. echinulata* ile üretilen yağda γ -linolenik asit oranının %3.8, kesikli kültürde nişasta kullanılarak geliştirilmiş *C. echinulata* ile üretilen yağda γ -linolenik asit oranının %11.7, geri beslemeli kesikli kültürde glikoz kullanılarak geliştirilmiş *M. ramanniana* ile üretilen yağda γ -linolenik asit oranının %17.6, geri beslemeli kesikli kültürde asetik asit kullanılarak geliştirilmiş *M. circinelloides* ile üretilen yağda γ -linolenik asit oranının %19.4, kesikli kültürde glikoz kullanılarak geliştirilmiş *Z. moelleri* ile üretilen yağda γ -linolenik asit oranının %15.1, kesikli kültürde glikoz kullanılarak geliştirilmiş *C. echinulata* ile üretilen yağda γ -linolenik asit oranının %16.4 ve kesikli kültürde glikoz kullanılarak geliştirilmiş *M. isabellina* ile üretilen yağda γ -linolenik asit oranının %4.4 olduğu bildirilmiştir.

4.6. Üretilen Mikrobiyel Yağların Bazı Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri

Mikrobiyel yağ üretimi amacıyla gerçekleştirilen fermentasyonlar sonucunda elde edilen mikrobiyel yağlara ait bazı fiziksel ve kimyasal özellikler belirlenmiş ve bu özelliklere ait değerler karşılaştırılmıştır.

4.6.1. *Mortierella isabellina* ile gerçekleştirilen fermentasyonlar sonucunda elde edilen mikrobiyel yağların bazı fiziksel ve kimyasal özellikleri

Mortierella isabellina ile gerçekleştirilen fermentasyonlar sonucunda elde edilen mikrobiyel yağların bazı fiziksel ve kimyasal özelliklerine ait değerlerin ortalama

sonuçları Çizelge 4.44’de verilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre mikrobiyel yağ örneklerine ait öz ağırlık değerinin %12 laktozlu laktaz enzimi uygulanmış DP-PDP’nin fermentasyonu sonucunda elde edilende en yüksek düzeyde (0.896 g/ml), %16 laktoz içeriğine sahip DP-PSP’nin fermentasyonu sonucunda elde edilende ise en düşük seviyede (0.812 g/ml) olduğu saptanmıştır. Bu değerlerin kontrol besi ortamının fermentasyonu sonucunda elde edilen örneğe ait değer (0.838 g/ml) ile yakın olduğu belirlenmiştir. Laktaz enzimi uygulanmış örnekler için değerlerin yüksek olduğu görülmüştür.

Kırılma indisine ait değerlerin %12 ve %16 laktoz içeren DP-PSP’lerin fermentasyonu sonucunda elde edilen mikrobiyel yağ örneklerinde en yüksek düzeyde (1.471), % 8 laktozlu laktaz enzimi uygulanmış DP-PSP’nin fermentasyonu sonucunda elde edilen mikrobiyel yağ örneğinde ise en düşük düzeyde (1.468) olduğu tespit edilmiştir. Bu değerlerin kontrol besi ortamının fermentasyonu sonucunda elde edilen mikrobiyel yağ örneğine ait değer ile paralellik gösterdiği anlaşılmaktadır.

Sabunlaşma sayısına ait değerlerin %16 laktoz içeriğine sahip DP-PSP’nin fermentasyonu sonucunda elde edilen mikrobiyel yağ örneğinde en yüksek düzeyde (187), %8 ve %12 laktozlu DP-PSP ile %8 laktozlu laktaz enzimi uygulanmış DP-PSP’lerin fermentasyonu sonucunda elde edilen mikrobiyel yağ örneklerinde ise en düşük düzeyde (184) olduğu tespit edilmiştir. Bu değerlerin kontrol besi ortamının fermentasyonu sonucunda elde edilen mikrobiyel yağ örneğine ait değer (186) ile paralellik gösterdiği anlaşılmaktadır. %8 laktoz içeriğine sahip laktaz enzimi uygulanmış ve uygulanmamış DP-PSP’lere ait değerlerin diğer örneklerden daha düşük, %16 laktoz içeriğine sahip laktaz enzimi uygulanmış ve uygulanmamış DP-PSP’lere ait olanlarda ise daha yüksek düzeyde olduğu görülmektedir.

Serbest yağ asitleri miktarının %4.5 laktoz içeriğine sahip DP-PSP’nin fermentasyonu sonucunda elde edilen mikrobiyel yağ örneğinde en yüksek düzeyde (%1.61), %16 laktozlu laktaz enzimi uygulanmış DP-PSP’nin fermentasyonu sonucunda elde edilen mikrobiyel yağ örneğinde ise en düşük düzeyde (%1.20) olduğu belirlenmiştir. Örnekler için serbest yağ asitleri miktarının kontrol besi ortamının

fermentasyonu sonucunda elde edilen mikrobiyel yağ örneğinin serbest yağ miktarı (%1.38) ile benzer değerler ortaya koyduğu görülmektedir. %12 laktoz içeriğine sahip DP-PSP'ye ait yağ örnekleri hariç diğer örneklerde laktaz enzimi uygulanmış olanların daha düşük değerler ortaya koyduğu anlaşılmaktadır.

Peroksit sayısının %4.5 laktoz içeriğine sahip DP-PSP'nin fermentasyonu sonucunda elde edilen mikrobiyel yağ örneğinde en yüksek düzeyde (20.99), %8 laktoz içeriğine sahip DP-PSP'nin fermentasyonu sonucunda elde edilen mikrobiyel yağ örneğinde ise en düşük düzeyde (15.30) olduğu belirlenmiştir. DP-PSP'lerin fermentasyonu sonucunda elde edilen mikrobiyel yağ örneklerine ait peroksit sayısı değerlerinin kontrol besi ortamının fermentasyonu sonucunda elde edilen mikrobiyel yağ örneğinin peroksit sayısı değerine (14.18) göre daha yüksek seviyelerde olduğu dikkati çekmektedir. Ayrıca %4.5 laktoz içeriğine sahip DP-PSP'ye ait mikrobiyel yağ örnekleri hariç diğer örneklerde laktaz enzimi uygulamasının peroksit sayısında artış ortaya koyduğu anlaşılmaktadır.

%8 laktoz içeriğine sahip laktaz enzimi uygulanmış DP-PSP'nin fermentasyonu sonucunda elde edilen mikrobiyel yağ örneğinde iyot sayısının en yüksek (85), %16 laktoz içeriğine sahip DP-PSP'nin fermentasyonu sonucunda elde edilen mikrobiyel yağ örneğinde ise en düşük düzeyde (80) olduğu belirlenmiştir. DP-PSP'lerin fermentasyonu sonucunda elde edilen mikrobiyel yağ örneklerine ait iyot sayısı değerlerinin kontrol besi ortamının fermentasyonu sonucunda elde edilen mikrobiyel yağ örneğinin iyot sayısı değeri (82) ile benzerlik ortaya koyduğu görülmektedir. %16 laktoz içeriğine sahip laktaz enzimi uygulanmış ve uygulanmamış DP-PSP'lerin fermentasyonu sonucunda elde edilen mikrobiyel yağ örneklerinde iyot sayısının diğer örneklere göre daha düşük olduğu görülmektedir.

Çizelge 4.44. Farklı bileşimlere sahip DP-PSP'lerde ve kontrol besi ortamında *Morierella isabellina* ile gerçekleştirilen fermentasyonlarda üretilen mikrobiyel yağların bazı fiziksel ve kimyasal özelliklerine ait ortalama değerler ($\bar{X} \pm SD$)

Fiziksel ve kimyasal özellikler	DP-PSP'nin laktoz içeriği										Kontrol %3 glüköz
	%4.5 laktoz		%8 laktoz		%12 laktoz		%16 laktoz		%3 glüköz		
	Laktaz enzimi uygulaması Yok	Var	Laktaz enzimi uygulaması Yok	Var	Laktaz enzimi uygulaması Yok	Var	Laktaz enzimi uygulaması Yok	Var	Laktaz enzimi uygulaması Yok	Var	
Öz ağırlık (g/ml)	0.833±0.033	0.845±0.006	0.814±0.003	0.845±0.005	0.818±0.002	0.896±0.008	0.812±0.004	0.894±0.010	0.838±0.007	---	
Kırılma indisi	1.470±0.000	1.469±0.001	1.470±0.000	1.468±0.001	1.471±0.001	1.469±0.002	1.471±0.000	1.469±0.000	1.470±0.001	---	
Sabunlaşma sayısı	186±4	185±4	184±2	184±5	184±2	185±5	187±4	186±4	186±3	---	
Serbest yağ asitleri (%)	1.61±0.69	1.25±0.32	1.40±0.23	1.25±0.35	1.26±0.26	1.35±0.26	1.27±0.25	1.20±0.29	1.38±0.24	---	
Peroksit sayısı	20.99±6.59	16.97±1.64	15.30±0.16	18.48±3.49	16.33±1.83	17.26±3.99	16.88±4.14	18.32±4.48	14.18±2.17	---	
İyot sayısı	84±1	83±2	82±2	85±1	84±3	82±2	80±1	81±7	82±0	---	

---: Laktaz enzimi uygulaması yok

Mortierella isabellina ile gerçekleştirilen fermentasyonlar sonucunda elde edilen mikrobiyel yağların bazı fiziksel ve kimyasal özelliklerin değerlerine ait varyans analizi sonuçları Çizelge 4.45’de verilmiştir. DP-PSP’lerin başlangıç kuru madde düzeylerinin, laktaz enzimi uygulanmasının ve bunların interaksiyonunun örneklerin öz ağırlık değerleri üzerine etkisi önemli ($P<0.01$) bulunmuştur. DP-PSP’lere laktaz enzimi uygulamasının örneklerin kırılma indisi değerleri üzerine etkisinin önemli ($P<0.01$) olduğu saptanmıştır. Bu parametrelerin, örneklerin diğer kimyasal özellikleri üzerine etkisinin önemli düzeyde olmadığı ($P>0.01$) belirlenmiştir.

Farklı bileşimlere sahip DP-PSP’lerde *Mortierella isabellina* ile gerçekleştirilen fermentasyonlar sonucunda elde edilen mikrobiyel yağların bazı fiziksel ve kimyasal özelliklerin değerlerinin ortalamalarına ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları Çizelge 4.46’da verilmiştir. Buna göre öz ağırlık değerleri %16 laktoz içeriğine sahip DP-PSP’nin fermentasyonu sonucunda en yüksek (0.857 g/ml), %12 laktoz içeriğine sahip DP-PSP’nin fermentasyonu sonucunda ise en düşük (0.830 g/ml) düzeyde bulunmuştur. DP-PSP’lerin başlangıç kurumadde düzeylerinin öz ağırlık değerleri üzerine etkide bulunduğu ancak bu etkinin %12 ile %16 laktoz içeriğine sahip DP-PSP’ler, %16 ile %4.5 laktoz içeriğine sahip DP-PSP’ler ve %4.5 ile %8 laktoz içeriğine sahip DP-PSP’ler arasında önemli düzeyde olmadığı ($P>0.05$) belirlenmiştir. DP-PSP’lere laktaz enzimi uygulamasının elde edilen mikrobiyel yağ örneklerinin öz ağırlık değerleri üzerine önemli düzeyde ($P<0.05$) etkide bulunduğu, enzim uygulanmış örneklerde bu değerlerin daha yüksek (0.870g/ml) bulunduğu belirlenmiştir. DP-PSP’lere laktaz enzimi uygulanmasının örneklerin kırılma indisine ait değerler üzerine önemli düzeyde ($P<0.05$) etkide bulunduğu, enzim uygulanmış örneklerde bu değerlerin daha düşük düzeyde (1.469) olduğu saptanmıştır. DP-PSP’lerin başlangıç kurumadde içeriklerinin örneklerin kırılma indisi değerleri üzerine etkisinin önemli düzeyde olmadığı ($P>0.05$) belirlenmiştir. Bunun dışında DP-PSP’lerin başlangıç kurumadde düzeylerinin ve DP-PSP’lere laktazn enzimi uygulamasının örneklerin sabunlaşma sayısı, serbest yağ asitleri, peroksit sayısı ve iyot sayısı değerleri üzerine etkisinin önemli olmadığı ($P>0.05$) görülmektedir.

Çizelge 4.45. Farklı bileşimlere sahip DP-PSP'lerde *Mortierella isabellina* ile gerçekleştirilen fermentasyonlar sonucunda elde edilen mikrobiyel yağların bazı fiziksel ve kimyasal değerlerine ait varyans analizi sonuçları

Varyasyon Kaynakları	SD	Öz ağırlık		Kırılma indisi		Sabunlaşma sayısı		Serbest yağ asitleri		Peroksit sayısı		İyot sayısı	
		KO	F	KO	F	KO	F	KO	F	KO	F	KO	F
Kurumadde (K)	3	0.000949	5.59**	0.000001	1.15	6.152778	0.44	0.038015	0.30	6.102678	0.43	13.000000	1.33
Enzim (E)	1	0.015708	92.51**	0.000020	25.91**	0.041667	0.00	0.095004	0.74	0.874017	0.06	1.500000	0.15
K x E	3	0.001799	10.59**	0.000000	0.61	0.486111	0.03	0.054771	0.43	14.327717	1.00	5.611111	0.57
Hata	16	0.000170		0.000001		14.12500		0.128338		14.33027		9.79167	

** : $P < 0.01$ seviyesinde önemlidir

Çizelge 4.46. Farklı bileşimlere sahip DP-PSP'lerde *Mortierella isabellina* ile gerçekleştirilen fermentasyonlar sonucunda elde edilen mikrobiyel yağların bazı fiziksel ve kimyasal özelliklerine ait değerlerin ortalamalarına ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları ($\bar{X} \pm SD$)

Kuru madde (N=6)	Enzim (N=12)	Öz ağırlık		Kırılma indisi		Sabunlaşma sayısı		Serbest yağ asitleri		Peroksit sayısı		İyot sayısı	
		$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$
4.5	8	0.839 ^{bc} ± 0.009	0.830 ^c ± 0.007	1.469 ^a ± 0.000	1.469 ^a ± 0.001	186 ^b ± 1.5	184 ^a ± 1.4	1.43 ^a ± 0.21	1.33 ^a ± 0.11	18.98 ^a ± 1.97	16.89 ^a ± 1.15	84 ^a ± 0.7	84 ^a ± 0.9
12	16	0.857 ^a ± 0.018	0.853 ^{ab} ± 0.019	1.470 ^a ± 0.001	1.470 ^a ± 0.000	185 ^a ± 1.3	187 ^a ± 1.3	1.31 ^a ± 0.10	1.24 ^a ± 0.10	16.80 ^a ± 1.15	17.60 ^a ± 1.61	83 ^a ± 1.1	81 ^a ± 1.8
Yok	Var	0.819 ^b ± 0.005	0.870 ^a ± 0.008	1.470 ^a ± 0.000	1.469 ^b ± 0.000	186 ^b ± 0.8	185 ^a ± 1.1	1.39 ^a ± 0.11	1.26 ^a ± 0.08	17.40 ^a ± 1.18	17.76 ^a ± 0.90	83 ^a ± 0.7	83 ^a ± 1.0

Değişik harfler $P < 0.05$ seviyesinde farklılık ifade eder

4.6.2. *Mortierella ramanniana* ile gerçekleştirilen fermentasyonlar sonucunda elde edilen mikrobiyel yağların bazı fiziksel ve kimyasal özellikleri

Mortierella ramanniana ile gerçekleştirilen fermentasyonlar sonucunda elde edilen mikrobiyel yağların bazı fiziksel ve kimyasal özelliklerine ait değerlerin ortalama sonuçları Çizelge 4.47’de verilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre mikrobiyel yağ örneklerine ait öz ağırlık değerinin %12 laktozlu laktaz enzimi uygulanmış DP-PDP’nin fermentasyonu sonucunda elde edilende en yüksek düzeyde (0.855 g/ml), %12 laktoz içeriğine sahip DP-PSP’nin fermentasyonu sonucunda elde edilende ise en düşük seviyede (0.813 g/ml) olduğu saptanmıştır. Bu değerlerin kontrol besi ortamının fermentasyonu sonucunda elde edilen örneğe ait değer (0.828 g/ml) ile yakın olduğu belirlenmiştir. Laktaz enzimi uygulamasının DP-PSP’lerin fermentasyonu sonucunda elde edilen bütün mikrobiyel yağ örneklerinde öz ağırlık değerlerinde artışa neden olduğu görülmektedir.

Kırılma indisine ait değerlerin %12 ve %16 laktoz içeren DP-PSP’ler ile %4.5, %8 ve %12 laktoz içeriğine sahip laktaz enzimi uygulanmış DP-PSP’lerin fermentasyonu sonucunda elde edilen mikrobiyel yağ örneklerinde en yüksek düzeyde (1.471), %4.5 laktoz içeriğine sahip DP-PSP’nin fermentasyonu sonucunda elde edilen mikrobiyel yağ örneğinde ise en düşük düzeyde (1.468) olduğu tespit edilmiştir. Bu değerlerin kontrol besi ortamının fermentasyonu sonucunda elde edilen mikrobiyel yağ örneğine ait değer (1.471) ile paralellik gösterdiği anlaşılmaktadır.

Sabunlaşma sayısına ait değerlerin %8 laktoz içeriğine sahip DP-PSP’nin fermentasyonu sonucunda elde edilen mikrobiyel yağ örneğinde en yüksek düzeyde (187), %12 ve %16 laktozlu laktaz enzimi uygulanmış DP-PSP’lerin fermentasyonu sonucunda elde edilen mikrobiyel yağ örneklerinde ise en düşük düzeyde (183) olduğu tespit edilmiştir. Bu değerlerin kontrol besi ortamının fermentasyonu sonucunda elde edilen mikrobiyel yağ örneğine ait değerden (189) daha düşük olduğu görülmektedir. Laktaz enzimi uygulanmış örneklerde sabunlaşma sayısına ait değerlerin daha düşük bulunduğu görülmektedir.

Serbest yağ asitleri miktarının %16 laktoz içeriğine sahip laktaz enzimi uygulanmış DP-PSP'nin fermentasyonu sonucunda elde edilen mikrobiyel yağ örneğinde en yüksek düzeyde (%1.39), %8 laktozlu DP-PSP'nin fermentasyonu sonucunda elde edilen mikrobiyel yağ örneğinde ise en düşük düzeyde (%1.26) olduğu belirlenmiştir. DP-PSP'lere ait örneklerin serbest yağ asidi miktarlarının kontrol besi ortamının fermentasyonu sonucunda elde edilen mikrobiyel yağ örneğinin serbest yağ asidi miktarından (%1.26) yüksek değerler ortaya koyduğu görülmektedir.

Peroksit sayısının %8 laktoz içeriğine sahip laktaz enzimi uygulanmış DP-PSP'nin fermentasyonu sonucunda elde edilen mikrobiyel yağ örneğinde en yüksek düzeyde (21.18), %8 laktoz içeriğine sahip DP-PSP'nin fermentasyonu sonucunda elde edilen mikrobiyel yağ örneğinde ise en düşük düzeyde (14.65) olduğu belirlenmiştir. DP-PSP'lerin fermentasyonu sonucunda elde edilen mikrobiyel yağ örneklerine ait peroksit sayısı değerleri kontrol besi ortamının fermentasyonu sonucunda elde edilen mikrobiyel yağ örneğinin peroksit sayısı değeri (14.18) ile benzerlik göstermektedir. Ayrıca %16 laktoz içeriğine sahip DP-PSP'ye ait mikrobiyel yağ örnekleri hariç diğer örneklerde laktaz enzimi uygulamasının peroksit sayısında artış ortaya koyduğu anlaşılmaktadır.

%16 laktoz içeriğine sahip DP-PSP ile %4.5, %8, %12 ve %16 laktoz içeriğine sahip laktaz enzimi uygulanmış DP-PSP'lerin fermentasyonu sonucunda elde edilen mikrobiyel yağ örneklerinde iyot sayısının en yüksek (85), %4.5 laktoz içeriğine sahip DP-PSP'nin fermentasyonu sonucunda elde edilen mikrobiyel yağ örneğinde ise en düşük düzeyde (80) olduğu belirlenmiştir. DP-PSP'lerin fermentasyonu sonucunda elde edilen mikrobiyel yağ örneklerine ait iyot sayısı değerlerinin kontrol besi ortamının fermentasyonu sonucunda elde edilen mikrobiyel yağ örneğinin iyot sayısı değeri (85) ile benzerlik ortaya koyduğu görülmektedir

Çizelge 4.47. Farklı bileşimlere sahip DP-PSP’lerde ve kontrol besi ortamında *Mortierella ramanniana* ile gerçekleştirilen fermentasyonlarda üretilen mikrobiyel yağların bazı fiziksel ve kimyasal özelliklerine ait ortalama değerler ($\bar{X} \pm SD$)

Fiziksel ve kimyasal özellikler	DP-PSP'nin laktoz içeriği						Kontrol %3 glüköz		
	%4.5 laktoz		%8 laktoz		%12 laktoz			%16 laktoz	
	Laktaz enzimi uygulaması Yok	Var	Laktaz enzimi uygulaması Yok	Var	Laktaz enzimi uygulaması Yok	Var		Laktaz enzimi uygulaması Yok	Var
Öz ağırlık (g/ml)	0.817±0.003	0.848±0.004	0.814±0.004	0.853±0.005	0.813±0.002	0.855±0.002	0.816±0.006	0.846±0.003	---
Kırılma indisi	1.468±0.001	1.471±0.001	1.470±0.000	1.471±0.001	1.471±0.001	1.471±0.001	1.471±0.001	1.469±0.001	1.471±0.001
Sabunlaşma sayısı	186±3	185±4	187±1	184±1	185±4	183±2	186±5	183±3	189±4
Serbest yağ asitleri (%)	1.31±0.26	1.32±0.25	1.26±0.32	1.43±0.23	1.33±0.22	1.36±0.20	1.36±0.26	1.39±0.22	1.26±0.27
Peroksit sayısı	15.37±1.68	18.79±1.48	14.65±0.62	21.18±7.76	17.30±3.19	18.65±2.88	18.09±3.01	15.31±1.02	15.49±1.78
İyot sayısı	80±1	85±4	83±4	85±3	83±2	85±3	85±1	85±3	85±2

---: Laktaz enzimi uygulaması yok

Mortierella ramanniana ile gerçekleştirilen fermentasyonlar sonucunda elde edilen mikrobiyel yağların bazı fiziksel ve kimyasal özelliklerin değerlerine ait varyans analizi sonuçları Çizelge 4.48’de verilmiştir. DP-PSP’lere laktaz enzimi uygulanmasının örneklerin öz ağırlık değerleri üzerine etkisi önemli ($P<0.01$) bulunmuştur. DP-PSP’lerin başlangıç kuru madde düzeyleri ile laktaz enzimi uygulanması interaksiyonunun örneklerin kırılma indisi değerleri üzerine etkisinin önemli ($P<0.01$) olduğu saptanmıştır. Bu parametrelerin, örneklerin diğer kimyasal özellikleri üzerine etkisinin önemli düzeyde olmadığı ($P>0.01$) belirlenmiştir.

Farklı bileşimlere sahip DP-PSP’lerde *Mortierella ramanniana* ile gerçekleştirilen fermentasyonlar sonucunda elde edilen mikrobiyel yağların bazı fiziksel ve kimyasal özelliklerin değerlerinin ortalamalarına ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları Çizelge 4.49’da verilmiştir. Buna göre laktaz enzimi uygulanmış DP-PSP’lerin fermentasyonları sonucunda elde edilen mikrobiyel yağların öz ağırlık değerleri daha yüksek düzeyde (0.851 g/ml) bulunmuştur. DP-PSP’lerin başlangıç kurumadde düzeylerinin örneklerin kırılma indisi değerleri üzerine etkili olduğu, bu etkinin %12 ile %16 laktoz içeriğine sahip DP-PSP’ler ve %4.5 ile %12 laktoz içeren DP-PSP’lere ait örnekler arasında önemli düzeyde ($P<0.05$) olduğu diğer durumlarda önemli düzeyde olmadığı ($P>0.05$) saptanmıştır. Laktaz enzimi uygulanmasının örneklerin iyot sayısı üzerine önemli düzeyde ($P<0.05$) etkili olduğu, enzim uygulanmış örneklerde değerlerin daha yüksek (85) bulunduğu tespit edilmiştir. Bunun dışında DP-PSP’lerin başlangıç kurumadde düzeylerinin ve DP-PSP’lere laktaz enzimi uygulamasının örneklerin sabunlaşma sayısı, serbest yağ asitleri ve peroksit sayısı değerleri üzerine etkisinin önemli olmadığı ($P>0.05$) görülmektedir.

Çizelge 4.48. Farklı bileşimlere sahip DP-PSP'lerde *Mortierella ramanniana* ile gerçekleştirilen fermentasyonlar sonucunda elde edilen mikrobiyel yağların bazı fiziksel ve kimyasal değerlerine ait varyans analizi sonuçları

Varyasyon Kaynakları	SD	Öz ağırlık		Kırılma indisi		Sabunlaşma sayısı		Serbest yağ asitleri		Peroksit sayısı		İyot sayısı	
		KO	F	KO	F	KO	F	KO	F	KO	F	KO	F
Kurumadde (K)	3	0.000010	0.67	0.000002	3.99*	2.486111	0.23	0.004271	0.07	2.365961	0.20	5.819444	0.75
Enzim (E)	1	0.007633	487.19**	0.000000	0.19	30.37500	2.83	0.022204	0.36	27.17882	2.31	40.04167	5.17*
K x E	3	0.000060	3.81*	0.000004	6.90**	0.708333	0.07	0.009126	0.15	22.86861	1.94	5.819444	0.75
Hata	16	0.000016		0.000001		10.75000		0.061075		11.76962		7.750000	

** : $P < 0.01$ seviyesinde önemlidir

Çizelge 4.49. Farklı bileşimlere sahip DP-PSP'lerde *Mortierella ramanniana* ile gerçekleştirilen fermentasyonlar sonucunda elde edilen mikrobiyel yağların bazı fiziksel ve kimyasal özelliklerine ait değerlerin ortalamalarına ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları ($\bar{X} \pm SD$)

Kuru madde (N=6)	Enzim (N=12)	Öz ağırlık		Kırılma indisi		Sabunlaşma sayısı		Serbest yağ asitleri		Peroksit sayısı		İyot sayısı	
		\bar{X}	SD	\bar{X}	SD	\bar{X}	SD	\bar{X}	SD	\bar{X}	SD	\bar{X}	SD
4.5	8	0.832 ^a ± 0.007	0.007	1.470 ^b ± 0.001	0.001	186 ^b ± 1.4	1.4	1.31 ^a ± 0.09	0.09	17.08 ^a ± 0.96	0.96	83 ^a ± 1.6	1.6
8	12	0.834 ^a ± 0.009	0.009	1.471 ^{ab} ± 0.000	0.000	186 ^b ± 0.8	0.8	1.35 ^a ± 0.11	0.11	17.91 ^a ± 2.49	2.49	84 ^a ± 1.3	1.3
12	16	0.834 ^a ± 0.009	0.009	1.471 ^a ± 0.000	0.000	185 ^a ± 1.2	1.2	1.35 ^a ± 0.08	0.08	17.97 ^a ± 1.15	1.15	84 ^a ± 1.1	1.1
16	Var	0.831 ^a ± 0.007	0.007	1.470 ^b ± 0.001	0.001	185 ^a ± 1.7	1.7	1.38 ^a ± 0.09	0.09	16.70 ^a ± 1.03	1.03	85 ^a ± 0.8	0.8
Yok		0.815 ^b ± 0.001	0.001	1.470 ^a ± 0.000	0.000	186 ^b ± 0.9	0.9	1.32 ^a ± 0.07	0.07	16.35 ^a ± 0.72	0.72	83 ^b ± 0.8	0.8
Var		0.851 ^a ± 0.001	0.001	1.470 ^a ± 0.000	0.000	184 ^a ± 0.7	0.7	1.38 ^a ± 0.06	0.06	18.48 ^a ± 1.22	1.22	85 ^a ± 0.8	0.8

Değişik harfler $P < 0.05$ seviyesinde farklılık ifade eder

4.6.3. *Mortierella isabellina* ve *Mortierella ramanniana* ile gerçekleştirilen fermentasyonlar sonucunda elde edilen mikrobiyel yağların bazı fiziksel ve kimyasal özelliklerinin kıyaslanması

Çizelge 4.44 ve Çizelge 4.47 incelendiğinde *Mortierella isabellina* ve *Mortierella ramanniana* ile gerçekleştirilen fermentasyonlar sonucunda elde edilen mikrobiyel yağların bazı fiziksel ve kimyasal özelliklerine ait değerler Nas vd'in (2001) bildirdiği bitkisel kaynaklı kimi yağların fiziksel ve kimyasal özelliklerine ait değerler ile kıyaslandığında; elde edilen mikrobiyel yağların öz ağırlık değerlerinin palm çekirdeği yağı (0.863-0.873) ve palm yağının (891) özgül ağırlık değerleri ile; kırılma indisi değerlerinin pamuk tohum yağı (1.468-1.472), yer fıstığı yağı (1.467-1.470) ve zeytin yağı (1.469-1.470) değerleri ile; sabunlaşma sayısı değerlerinin yer fıstığı yağı (188-195), zeytin yağı (188-195), ayçiçeği yağı (188-194), susam yağı (188-195), mısır yağı (187-193), aspir yağı (186-197) ve kolza tohumu yağı (170-180) değerleri ile; iyot sayısına ait değerlerin zeytin yağı (80-88) değeri ile benzerlik ortaya koyduğu görülmektedir.

TSE “Yemeklik Zeytinyağının Saflık Özellikleri (TS 341)” (Anonim 1982) standardında “Natürel” zeytinyağı için peroksit sayısı en çok 20, Natürel Extra-Extra” zeytinyağı için serbest yağ asitleri miktarı en çok %1.5 olarak (oleik asit cinsinden) verilmiştir. Tez çalışmasında elde edilen mikrobiyel yağların serbest yağ asitleri ve peroksit sayısına ait değerlerin standartta verilen değerlere yakın olduğu anlaşılmaktadır.

5. SONUÇ

Çoklu doymamış yağ asitlerini içeren tek hücre yağlarının diğer bitkisel ve hayvansal kaynaklı yağlara göre bazı avantajları vardır. Bitkisel yağlarda bulunmayan ve beslenmede büyük önem taşıyan çoklu doymamış yağ asitlerini içeren yağ üretiminde yağlı mikroorganizmalar kullanılarak nitelik ve nicelik bakımından tatmin edici bir düzeyde yağ üretilmekte, üretime bütün bir yıl boyunca devam edilebilmekte, mevsime ya da iklime bağımlılık gösterilmemektedir. Spesifik enzimlerdeki (desaturazlar gibi) mutant değişimler, istenilen özellikteki yağların üretilmesine imkan vermektedir. Ayrıca üretim şartlarındaki değişikliklerle, lipit veriminin ve profilinin istenilen şekilde değiştirilip düzenlenmesi mümkün olabilmektedir.

Yapılan çalışmalarda mikrobiyel yağ üretiminde daha çok glikoz, nişasta ya da yağ sanayi artıkları (gliserol, stearin vs.) gibi karbon kaynaklarının substrat olarak kullanıldığı görülmektedir. Peyniraltı suyunun substrat olarak düşünüldüğü, özellikle küflerle yapılan çalışmaya rastlanılmamıştır. Oysaki peyniraltı suyu içerdiği organik maddeler nedeniyle önemli bir çevre kirliliğine yol açmakta ve mikrobiyel yağ üretiminde değerlendirilebilmesi oldukça cazip görülmektedir. Peyniraltı suyunun 1 litresinin doğrudan atık sulara karışmasıyla ortaya çıkan kirliliğin, ortalama bir kişinin bir günde oluşturduğu kirliliğe eşdeğer olduğu ifade edilmektedir. Ülkemizde yaklaşık 220.000 ton beyaz peynir üretimi sırasında ortaya çıkan yaklaşık 880.000 ton peyniraltı suyunun ne kadar büyük bir çevre kirliliğine yol açtığı görülmektedir.

Ülkemizde en fazla üretilen süt ürünlerinden birisi olan peynirin üretimi sırasında açığa çıkan peyniraltı suyunun değerlendirilerek ekonomik değeri yüksek bir ürün elde edilmesi amaçlanan araştırmada, peyniraltı suyunun içerdiği azot, mineral madde, vitaminler ve özellikle laktoz bakımından son derece zengin bir ürün olduğu, mikrobiyel yağ üretimi için uygun bir substrat olabileceği görülmüştür. Dünya çapında γ -linolenik asit talebinin 2000 tonun üzerinde olduğu ve bu yağ asidinin de 1 kg satış fiyatının yaklaşık 100 \$ olduğu düşünüldüğünde ekonomik açıdan ne kadar önemli olduğu ortaya çıkmaktadır. Bu sebeple birçok ülkede mikrobiyel kaynaklı yağ üretimine ilgi giderek artmaktadır. Ülkemizde ise ticari anlamda böyle bir girişim yoktur. Bu

çalışma ile atık konumda olan peyniraltı suyu değerlendirilerek çok değerli ve besleme değeri son derece yüksek olan bir ürünün ekonomiyi kazandırılması amaçlanmıştır.

Araştırmada kullanılan peyniraltı suyunun ısıtma işlemiyle proteinleri çöktürülmüş ve filtrasyonla ayrılarak deproteinize peyniraltı suyu permeatı (DP-PSP) elde edilmiştir. DP-PSP'nin içerdiği kurumadde düzeyinin ve laktaz enzimi uygulaması ile ihtiva ettiği laktozun kısmen hidroliz edilmesinin, gerçekleştirilen fermentasyonlar süresince üretilen biyokütle ve mikrobiyel yağ miktarları ile elde edilen mikrobiyel yağlarda yağ asidi kompozisyonu üzerine etkileri belirlenmiştir. Ayrıca fermentasyonların verimi ve maliyeti açısından kullanılmadan kalan şeker düzeyleri de tespit edilmiştir. Fermentasyon süresince şeker kullanımına karşı üretilen biyokütle ve mikrobiyel yağ düzeyleri ile yağ asidi kompozisyonları karşılaştırılmıştır. Bu amaçla yüksek oranlarda GLA ürettiği bilinen iki ayrı küf ile üretimler yapılmıştır. Ayrıca üretilen mikrobiyel yağlarda son olarak bazı fiziksel ve kimyasal özellikler belirlenmiştir. Araştırma sonunda elde edilen sonuçlar şu şekilde özetlenmiştir:

1. *Mortierella isabellina* küfü ile gerçekleştirilen fermentasyonlarda DP-PSP'lerin başlangıç kurumadde düzeylerinin üretilen biyokütle ve yağ miktarları üzerine çok etkili olmadığı ancak enzim uygulanmış DP-PSP'lerde enzim uygulanmamış olanlara göre değerlerin çok yüksek olduğu ve enzim uygulanmış DP-PSP'lerde başlangıç kurumadde düzeyinin artışı ile birlikte biyokütle ve yağ miktarlarının da yükselme gösterdiği bulunmuştur. Şeker tüketimine ait değerlerde de benzer bir eğilimin olduğu belirlenmiştir. Fermentasyonlara ait verim, maksimum üretim ve maksimum gelişme hızlarının da enzim uygulanmış DP-PSP'lerde yüksek değerler ortaya koyduğu anlaşılmıştır. Enzim uygulanmış DP-PSP'lerde gerçekleştirilen fermentasyonlarda glikozun tükenmesi ile durağan faza girildiği ve bu aşamada rezerve lipitlerin tüketildiği bulunmuştur. Enzim uygulanmamış DP-PSP'lerde gerçekleştirilen fermentasyonlarda ortamdaki laktoz kullanımı yüksek iken enzim uygulanmış DP-PSP'lerde laktoz kullanımı çok düşmüştür. Fermentasyon süresince enzim uygulanmış DP-PSP'lerde glikoz ve galaktoz tamamen tükense bile küf hücreleri laktozu kullanamamış, hatta rezerve lipitleri kullanmaya yönelmiştir. İstatiksel olarak en yüksek GLA oranına %16 laktoz içeriğine sahip DP-PSP'lerin fermentasyonu sonunda

ulaşılırken, enzim uygulanmamış DP-PSP'lerin fermentasyonunda GLA içerikleri daha yüksek bulunmuştur. Enzim uygulaması GLA oranının düşmesine sebep olmuştur.

2. *Mortierella ramanniana* küfü ile gerçekleştirilen fermentasyonlarda DP-PSP'lerin başlangıç kurumadde düzeylerinin üretilen biyokütle ve yağ miktarları üzerine etkili olduğu, %8 başlangıç laktoz düzeyine kadar biyokütle ve mikrobiyel yağ miktarında artışın olduğu ancak başlangıç kurumadde düzeyindeki daha fazla artışın biyokütle ve mikrobiyel yağ değerlerinin azalmasına sebep olduğu görülmektedir. Laktaz enzimi uygulanmış DP-PSP'lerde de benzer eğilim görülmektedir. Bunun dışında enzim uygulanmış DP-PSP'lerde üretilen biyokütle ve mikrobiyel yağ miktarları enzim uygulanmamış olanlardan daha yüksek düzeylerde bulunmuştur. Şeker tüketimine ait değerlere bakıldığında da yine enzim uygulanmış ve uygulanmamış %8 laktoz içeriğine sahip DP-PSP'lerin fermentasyonu sonunda değerlerin en yüksek seviyede olduğu anlaşılmıştır. Fermentasyonlara ait verim, maksimum üretim ve maksimum gelişme hızlarının da enzim uygulanmış DP-PSP'lerde yüksek değerler ortaya koyduğu görülmüştür. %8 laktoz içeriğine sahip laktaz enzimi uygulanmamış DP-PSP'nin fermentasyonu sırasında durağan faza girilmiş ve sadece bu fermentasyonda rezerve lipitler tüketilmeye başlanmıştır. Enzim uygulanmış DP-PSP'lerin fermentasyonunda laktoz kullanımı azalmıştır. Mikroorganizma diğer şekerleri kullanmaya adapte olmuştur. İstatiksel olarak en yüksek GLA oranına %8 laktoz içeriğine sahip DP-PSP'lerin fermentasyonu sonunda ulaşılırken, enzim uygulanmamış DP-PSP'lerin GLA içerikleri daha yüksek bulunmuştur. Enzim uygulaması GLA oranının düşmesine sebep olmuştur. *Mortierella ramanniana* için en başarılı fermentasyonlar enzim uygulanmış ve uygulanmamış %8 başlangıç laktoz içeriğine sahip DP-PSP'lerde gerçekleşmiştir. Kurumadde düzeyindeki daha fazla artışa mikroorganizma adapte olamamıştır.

3. *Mortierella isabellina* ile DP-PSP'lerde gerçekleştirilen fermentasyonlara bakıldığında enzim uygulanmış grubun kontrol besi ortamına göre daha başarılı olduğu anlaşılmaktadır. Laktaz enzimi uygulanması *Mortierella isabellina* fermentasyonlarının başarısını artırmıştır. *Mortierella ramanniana* ile gerçekleştirilen fermentasyonlarda laktaz enzimi uygulaması olmayan %12 ve %16 laktoz içeriğine

sahip DP-PSP'lerin başarısı kontrol besi ortamında gerçekleştirilen fermentasyonlara göre daha düşüktür. DP-PSP'lerde gerçekleştirilen fermentasyonların glikozda gerçekleştirilen fermentasyonlar ile biyokütle ve yağ miktarları bakımından rekabet edebilir durumda olduğu ancak GLA içerikleri bakımından nispeten daha düşük değerler ortaya koyduğu anlaşılmıştır. Fakat peyniraltı suyunun maliyeti göz önüne alındığında yine de daha avatajlı olduğu düşünülebilir.

4. Durağan faza girilmeyen fermentasyonların sürelerinin yetersiz olduğu anlaşılmıştır. Bu fermentasyonların sürelerinin uzatılmasının gerektiği görülmektedir. Durağan faza girilen fermentasyonlarda ise kalan şekerlerin kullanılabilmesi üzerine araştırmaların yapılması gerekmektedir.

5. DP-PSP'lere aşılama yapılmadan önce ön kültürde geliştirme aşamasında ön kültür besi ortamının içeriğindeki glikoz yerine aşılamanın yapılacağı besi ortamında bulunan şekerlerin olmasının adaptasyon sürelerinin kısalmasını sağlayacağı tahmin edilmektedir. Özellikle *Mortierella ramannina*'da adaptasyon döneminin uzun sürdüğü dikkati çekmekte, bu şekilde bu sürecin kısaltılabileceği düşünülmektedir.

6. *Mortierella isabellina* ile gerçekleştirilen fermentasyonların verim, şeker kullanımı, biyokütle ve yağ üretimleri bakımından *Mortierella ramanniana*'dan daha başarılı olduğu, GLA içeriği bakımından ise birbirine yakın değerler ortaya koyduğu anlaşılmıştır. *Mortierella ramanniana*'nın fermentasyonlarda daha uzun sürelere ihtiyaç duyduğu düşünülmektedir.

7. Sonuç olarak en yüksek biyokütle ve yağ miktarına %16 laktoz içeriğine sahip laktaz uygulanmış DP-PSP'nin *Mortierella isabellina* ile fermentasyonu sonucunda ulaşılmış, en düşük biyokütle ve yağ miktarları ise %16 laktoz içeriğine sahip laktaz enzimi uygulanmamış DP-PSP'nin *Mortierella ramanniana* ile fermentasyonu sonunda elde edilmiştir. Ancak %16 laktoz içeriğine sahip laktaz uygulanmış DP-PSP'nin *Mortierella isabellina* ile fermentasyonunda en düşük GLA içerikleri ortaya konulurken %16 laktoz içeriğine sahip laktaz enzimi uygulanmamış DP-PSP'nin *Mortierella ramanniana* ile fermentasyonunda yüksek GLA içeriklerine ulaşılmıştır. Genel bir kaide

olarak yağ miktarının artması ile GLA içeriğinin azaldığı doğrulanmıştır. Örnekler tek tek incelendiğinde yağ miktarı yüksek olanların GLA bakımından düşük içeriğe sahip olduğu dikkati çekmektedir.

Sonuç olarak peyniraltı suyu kullanılarak *Mortierella isabellina* ve *Mortierella ramanniana* küfleri ile başarılı bir şekilde mikrobiyel yağ üretilmesi görülmüştür.

6. KAYNAKLAR

- AIDIL, A.H., ROSLI, M.I. and WAN-MOHTAR, W.Y. 2005. The Effect of Carbon and Nitrogen Ratios and Temperature on Lipid and γ -linolenic Acid (GLA) Yield In Four Fungal Isolates. *Malays. Appl. Biol.*, 34(1):15-19.
- AKBULUT, N., YAYGIN, H. ve KINIK, Ö. 1991. A research on the utilization of permeate and cheese whey for alcoholic beverages production. *Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, Cilt:28 Sayı:2-3 Sayfa: 107-119.
- AKPINAR BAYİZİT, A. ve ÖZCAN YILSAY, T. 2004. Peyniraltı suyundan mikrobiyel yağ üretimi. *Akademik Gıda*, 10: 15-17.
- AKŞİT, S. 2009. Çocuk Beslenmesinde Omega-3 Yağ Asitleri. 45. Türk Pediatri Kongresi 16-21 Haziran 2009 Kapadokya.
- ALONSO, D. L. and MAROTO, F. G. 2000. Plants as ‘chemical factories’ for the production of polyunsaturated fatty acids. *Biotechnology Advances*, 18: 481-497.
- ANDRÉ, A., DIAMANTOPOULOU, P., PHILIPPOUSSIS, A., SARRIS, D., KOMAITIS M. and PAPANIKOLAOU, S. 2010. Biotechnological conversions of bio-diesel derived waste glycerol into added-value compounds by higher fungi: production of biomass, single cell oil and oxalic acid. *Industrial Crops and Products*, doi:10.1016/j.indcrop.2009.12.011.
- ANONİM 1982. TS 341 “Yemeklik Zeytinyağının Saflık Özellikleri” Standardı, TSE, Ankara, 10 ss.
- ANONİM 2004. Tarımsal Yapı (Üretim, Fiyat, Değer) 2002. T.C. Başbakanlık Devlet İstatistik Enstitüsü Yayınları.
- ANONYMOUS 2000. Official Methods of Analysis of AOAC International, 17th edition. AOAC INTERNATIONAL 481 N. Frederick Ave., Suite 500 Gaithersburg, MD 20877-2417.
- ANONYMOUS 2009. The World Dairy Situation 2009. *Bulletin of The International Dairy Federation*, 438/2009 ISSN: 0250-5118 pp 107.
- ATRA, R., VATAI, G., BEKASSY-MOLNAR, E. and BALINT, A. 2005. Investigation of ultra-and nanofiltration for utilization of whey protein and lactose. *Journal of Food Engineering*, 67: 325-332.
- ATTWOOD, M. M. 1970. Presence of β -carotene in cultures of *Mortierella ramanniana* var. *ramanniana*. *Phytochemistry*, 9: 2415-2416.
- BEOPOULOS, A., CESCUT, J., HADDOUCHE, R., URIBELARREA, J.-L., MOLINA-JOUVE, C. and NICAUD, J.-M. 2009. *Yarrowia lipolytica* as a model for bio-oil production. *Progress in Lipid Research*, 48: 375-387.

- BIGOGNO, C., KHOZIN-GOLDBERG, I., BOUSSIBA, S., VONSHAK, A. and COHEN, Z. 2002. Lipid and fatty acid composition of the green oleaginous alga *Parietochloris incisa*, the richest plant source of arachidonic acid. *Phytochemistry*, 60: 497-503.
- BROCK, T.D. 1984. *Biotechnology: A Textbook of Industrial Microbiology*. Sinauer Associates Incorporated. 308 pp.
- BROWN, R.C. 2003. *Biorenewable Resources: engineering new products from agriculture*. Blackwell Publishing, Ames, pp 269.
- BURNS, R. A., WIBERT, G. J., DIERSEN-SCHADE, D. A. and KELLY, C. M. 1999. Evaluation of single-cell sources of docosahexaenoic acid and arachidonic acid: 3-month rat oral safety study with an *in utero* phase. *Food and Chemical Toxicology*, 37: 23-36.
- CERTIK, M. and SHIMIZU, S. 1999. Biosynthesis and regulation of microbial polyunsaturated fatty acid production. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 87 (1): 1-14.
- CHARTRAIN, M., ARMSTRONG, J., KATZ, L., KELLER, J., MATHRE, D. and GREASHAM, R. 1995. Asymmetric bioreduction of a β -ketoester to (R)- β -hydroxyester by the fungus *Mortierella alpina* MF 5534. *Journal of Fermentation and Bioengineering*, 80 (2): 176-179.
- CHÁVEZ-SERVÍN, J. L., CASTELLOTE, A. I., MARTÍN, M., CHIFRÉ, R. and LÓPEZ-SABATER, M. C. 2009. Stability during storage of LC-PUFA-supplemented infant Formula containing single cell oil or egg yolk. *Food Chemistry*, 113: 484-492.
- CRISTIANI-URBINA, E., NETZAHUATL-MUÑOZ, A. R., MANRIQUEZ-ROJAS, F. J., JUÁREZ-RAMÍREZ, C., RUIZ-ORDAZ, N. and GALÍNDEZ-MAYER, J. 2000. Batch and fed-batch cultures for the treatment of whey with mixed yeast cultures. *Process Biochemistry*, 35: 649-657.
- CLOUGH, P.M. 2001. *Specialty vegetable oils containing gamma-linolenic acid and stericidonic acid* in Gunstone, F.D., eds, *Structured and Modified Lipids*, Marcel Dekker Inc., 75-117, New York.
- CONNOR, S.L. and CONNOR, W.E. 1997. Balık yağı, koroner arter hastalığının önlenmesinde ve tedavisinde faydalı mı? *American Journal of Clinical Nutrition*, 66: 1020-1031.
- DEMİRCİ, M., ŞİMŞEK, O. ve KURULTAY, Ş. 2000. Sütçülük yan ürünleri ve gıda sanayiinde kullanılmaları. *Süt Mikrobiyolojisi ve Katkı Maddeleri VI. Süt ve Süt Ürünleri Sempozyumu Tebliğler Kitabı*, Tekirdağ, 595s.

- DEMİRBAŞ, N., KARAGÖZLÜ, C. ve AKBULUT, N. 2002. Dünya ve Türkiye’de süt ve süt ürünleri sanayinde gelişmeler. *İstanbul Ticaret Odası Yayın No: 2002-7 ISBN 975-512-612-0* ss 171.
- DENLİ, Y. ve TEKİN, A. 2000. Yağ üretimi ve mikroorganizmalar. *Gıda*, 25 (4) : 265-270.
- DONG, M. and WALKER, T. H. 2008. Addition of polyunsaturated fatty acids to canola oil by fungal conversion. *Enzyme and Microbial Technology*, 42: 514-520.
- DORAN, P. 1995. *Bioprocess Engineering Principles*. Academic Press, San Diego, pp 497.
- DÜZGÜNEŞ, O., KESİCİ, T., KAVUNCU, O. ve GÜRBÜZ, F. 1987. Araştırma ve Deneme Metotları (İstatistiksel Metotlar II). Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, Yayın No: 1021, Ankara, 381ss.
- DYAL, S. D., BOUZIDI, L. and NARINE, S. S. 2005. Maximizing the production of γ -linolenic acid in *Mortierella ramanniana* var. *ramanniana* as a function of pH, temperature and carbon source, nitrogen source, metal ions and oil supplementation. *Food Research International*, 38: 815–829.
- ECONOMOU, Ch.N., MAKRI, A., AGGELIS, G., PAVLOU, S. and VAYENAS, D.V. 2010. Semi-solid state fermentation of sweet sorghum for the biotechnological production of single cell oil. *Bioresource Technology*, 101: 1385–1388.
- ELLIOT, M.L., DE ANTUENO, R.J., BAI, M. and HORROBIN, D.F. 1998. *Effect of dietary oils enriched in dilinoleoyl-mono- γ -linolenin (DLMG) on the total lipid n-6 fatty acid composition of human tumors grown in nude mice* in Christophe, A.B., ed, *Structural and Modified Food Fats: Synthesis, Biochemistry, and Use*, AOCS Press, 129-138, Illinois.
- EL-MANSI, E.M.T., BRYCE, C.F.A., DEMAİN, A.L. and ALLMAN, A.R. 2007. *Fermentation Microbiology and Biotechnology*. CRC Pres, New York, pp 525.
- ENGLER, M.M., ENGLER, M.B., ERICKSON, S.K. and PAUL, S.M. 1992. Dietary gamma-linolenic acid lowers blood pressure and alters aortic reactivity and cholesterol metabolism in hypertension, *Journal of Hypertension*, 10: 1197-1204.
- ERTUGAY, Z. ve CERTEL, M. 1995. *Biyoteknoloji I*. Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, Ders Notu Yayın No:135, Erzurum.

- FAKAS, S., GALIOTOU-PANAYOTOU, M., PAPANIKOLAOU, S., KOMAITIS, M. and AGGELIS, G. 2007. Compositional shifts in lipid fractions during lipid turnover in *Cunninghamella echinulata*. *Enzyme and Microbial Technology*, 40: 1321-1327.
- FAKAS, S., MAKRI, A., MAVROMATI, M., TSELEPI, M. and AGGELIS, G. 2009a. Fatty acid composition in lipid fractions lengthwise the mycelium of *Mortierella isabellina* and lipid production by solid state fermentation. *Bioresource Technology*, 100: 6118-6120.
- FAKAS, S., PAPANIKOLAOU, S., BATSOS, A., GALIOTOU-PANAYOTOU, M., MALLOUCHOS, A. and AGGELIS, G. 2009b. Evaluating renewable carbon sources as substrates for single cell oil production by *Cunninghamella echinulata* and *Mortierella isabellina*. *Biomass and bioenergy*, 33: 573-580.
- FEWTRELL, M.S., ABBOTT, R.A., KENNEDY, K., SINGHAL, A., MORLEY, R., CAINE, E., JAMIESON, C., COCKBURN, F. and LUCAS, A. 2004. Randomized, double-blind trial of long-chain polyunsaturated fatty acid supplementation with fish oil and borage oil in preterm infants, *The Journal of Pediatrics*, 4:471-479.
- FIDLER, N., KOLETZKO, B. and SAUERWALD, T. U. 1999. Single cell oils production and application. *Zb. Biotehniške fak. Univ. v Ljubljani. Kmetijstvo. Zootehnika*, 74(2): 37-45.
- GIBSON, RA. and MAKRIDES, M. 2000. n-3 Polyunsaturated fatty acid requirements of term infants. *Am J Clin Nutr.*, 71(suppl):251-255.
- GLAZER, A.N. and NIKAIDO, H. 2007. Microbial biotechnology: Fundamentals of applied microbiology. Cambridge University Pres, New York, pp 541.
- GONZÁLEZ-MARTÍNEZ, C., BACERRA, M., CHÁFER, M., ALBORS, A., CAROT, J.M. and CHIRALT, A. 2002. Influence of substituting milk powder for whey powder on yoghurt quality. *Trends in Food Science & Technology*, 13: 334-340.
- GÖNÜL, N. 2001. Pektinaz enzimi üretim tekniklerinin araştırılması. Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Doktora Tezi, Bornova, İZMİR, 185 ss.
- HAMAM, F. and SHAHIDI, F. 2004. Enzymatic Acidolysis of an Arachidonic Acid Single-Cell Oil with Capric Acid. *JAOCS*, Vol. 81, no. 9.
- HAMAM, F. and SHAHIDI, F. 2005. Enzymatic incorporation of capric acid into a single cell oil rich in docosahexaenoic acid and docosapentaenoic acid and oxidative stability of the resultant structured lipid. *Food Chemistry*, 91: 583-591.
- HARRIS, W.S. and BULCHANDANI, D. 2006. Omega-3 yağ asitleri serum trigliseridlerini neden düşürüyor? *Current Opinion in Lipidology*, Türkçe Baskı Cilt 1, Sayı 3: 135-142.

- HATZINIKOLAOU, D.G., KOURENTZI, E., STAMATIS, H., CHRISTAKOPOULOS, P., KOLISIS, F. N., KEKOS, D. and MACRIS, B. J. 1999. A novel lipolytic activity of *Rhodotorula glutinis* cells: production, partial characterization and application in the synthesis of esters. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 88: 53-56.
- HERITAGE, J., EVANS, E.G.V. and KILLINGTON, R.A. 1999. *Microbiology in Action*. Cambridge University Press, New York, pp 281.
- HIRUTA, O., KAMISAKA, Y., YOKOCHI, T., FUTAMURA, T., TAKEBE, H., SATOH, A., NAKAHARA, T. and SUZUKI, O. 1996a. γ -Linolenic acid production by a low temperature-resistant mutant of *Mortierella ramanniana*. *Journal of Fermentation and Bioengineering*, 82: No. 2: 119-123.
- HIRUTA, O., FUTAMURA, T., TAKEBE, H., SATOH, A., KAMISAKA, Y., YOKOCHI, T., NAKAHARA, T. and SUZUKI, O. 1996b. Optimization and Scale-Up of γ -Linolenic Acid Production by *Mortierella ramanniana* MM 15-1, a High γ -Linolenic Acid Producing Mutant. *Journal of Fermentation and Bioengineering*, 82: No. 4: 366-370.
- HSIAO, T.Y., GLATZ, C.E. and GLATZ, B.A. 1994. Broth recycle in a yeast fermentation. *Biotechnology and Bioengineering*, 44: 1228-1234.
- HUANG, C., ZONG, M-H., WU, H. and LIU, Q-P. 2009. Microbial oil production from rice straw hydrolysate by *Trichosporon fermentans*. *Bioresource Technology*, 100: 4535-4538.
- HUANG, J., AKI, T., KAWAMOTO, S., SHIGETA, S., ONO, K. and SUZUKI, O. 2002. Enzymatic preparation of glycerides rich in docosahexaenoic acid from Thraustochytrid Single Cell Oils by *Candida rugosa* lipase. *J. Oleo Sci.*, 51(7): 447-455.
- İMRE, S. ve SAĞLIK, S. 1998. Fatty acid composition and cholesterol content of some Turkish fish species. *Turk J Chem*, 22: 321-324.
- JANG, H.D. and YANG, S.S. 2008. Polyunsaturated fatty acids production with a solid-state column reactor. *Bioresource Technology*, 99: 6181-6189.
- JAREONKITMONGKOL, S., SHIMIZU, S. and YAMADA, H. 1993. Occurrence of two nonmethylene-interrupted Δ^5 polyunsaturated fatty acids in a Δ^6 -desaturase-defective mutant of the fungus *Mortierella alpina* 1S-4. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1167: 137-141.
- KACAR, B. 1972. *Bitki ve toprağın kimyasal analizleri*. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, Ankara, Yayın No: 453, 646 ss.

- KACAR, B. ve KOVANCI, İ. 1982. *Bitki, toprak ve gübrelerde kimyasal toprak analizleri ve sonuçların değerlendirilmesi*. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, İzmir, Yayın No: 454, 121 ss.
- KAMISAKA, Y., NODA, N., SAKAI, T. and KAWASAKI, K. 1999. Lipid bodies and lipid body formation in an oleaginous fungus, *Mortierella ramanniana* var. *angulispora*. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1438: 185-198.
- KARAPINAR, M. 1984. Mikrobiyal biyomas üretimi. *Ege Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Dergisi, Seri: B Gıda Mühendisliği*, Cilt: 2, Sayı:1, 97-111.
- KAVADIA, A., KOMAITIS, M., CHEVALOT, I., BLANCHARD, F., MARC, I. and AGGELIS, G. 2001. Lipid and γ -linolenic acid accumulation in strains of Zygomycetes growing on glucose. *J. Am. Oil. Chem. Soc.*, 78 (4): 341-346.
- KAWASHIMA, A., SHIMADA, Y., NAGAO, T., OHARA, A., MATSUHISA, T., SUGIHARA, A. and TOMINAGA, Y. 2002. Production of structured TAG rich in 1,3-dicapryloyl-2- γ -linolenoyl glycerol from borage oil, *Journal of American Oil Chemists' Society*, 79, 2: 871-877.
- KAWASHIMA, H., AKIMOTO, K., SHIRASAKA, N. and SHIMIZU, S. 1996. Inhibitory effects of alkyl gallate and its derivatives on fatty acid desaturation. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1299: 34-38.
- KAYAHAN, M. 2002. Modifiye Yağlar ve Üretim Teknolojileri. ODTÜ Geliştirme Vakfı Yayıncılık ve İletişim A.Ş., Ankara, 263 S. ISBN: 975-7064-58-0.
- KROES, R., SCHAEFER, E.J., SQUIRE, R.A. and WILLIAMS, G.M. 2003. A review of the safety of DHA45-oil. *Food and Chemical Toxicology*, 41: 1433-1446.
- KIMURA, K., YAMAOKA, M. and KAMISAKA, Y. 2004. Rapid estimation of lipids in oleaginous fungi and yeasts using Nile red fluorescence. *Journal of Microbiological Methods*, 56: 331-338.
- KOURKOUTAS, Y., DIMITROPOULOU, S., KANELLAKI, M., MARCHANT, R., NIGAM, P., BANAT, I.M. and KOUTINAS, A.A. 2002. High-temperature alcoholic fermentation of whey using *Kluyveromyces marxianus* IMB3 yeast immobilized on delignified cellulosic material. *Bioresource Technology*, 82: 177-181.
- KING, R.D. and CHEETHAM, P.S.J. 1987. Food Biotechnology 1. Elsevier Applied Science, London, 321 pp.
- KURT, A. 1990. Süt Teknolojisi. Atatürk Üniversitesi Yayınları - Erzurum. Yayın No:573, 398 s.
- KUMAR, D. and GOMES, J. 2004. Methionine production by fermentatiton. *Biotechnology Advances*, (in press).

- LEMAN, J., BEDNARSKI, W. and TOMASIK, J. 1990. Influence of cultivation conditions on the composition of oil produced by *Candida currata* D. *Biological Wastes*, 31: 1-15.
- LEWIS, T., NICHOLS, P. D. and MCMEEKIN, T. A. 2000. Evaluation of extraction methods for recovery of fatty acids from lipid-producing microheterotrophs. *Journal of Microbiological Methods*, 43: 107-116.
- LI, M., LIU, G.-L., CHI, Z. and CHI, Z.-M. 2010. Single cell oil production from hydrolysate of cassava starch by marine-derived yeast *Rhodotorula mucilaginosa* TJY15a. *Biomass and Bioenergy*, 34: 101–107.
- ŁUKOWSKA, E. and PLENKIEWICZ, J. 2007. Asymmetric reduction of α -thiocyanatoketones by *Saccharomyces cerevisiae* and *Mortierella isabellina*—a new route to optically active thiiranes. *Tetrahedron: Asymmetry*, 18: 1202-1209.
- LUMOR, S.E. and AKOH, C.C. 2005. Enzymatic incorporation of stearic acid into a blend of palm olein and palm kernel oil: Optimization by response surface methodology, *Journal of American Oil Chemists' Society*, 82: 421-426.
- MADIGAN, M.T. and MARTINKO, J.M. 2006. Brock Biology of Microorganisms. Prentice Hall PTR, New Jersey, pp 989.
- MAKRI, A., FAKAS, S. and AGGELIS, G. 2010. Metabolic activities of biotechnological interest in *Yarrowia lipolytica* grown on glycerol in repeated batch cultures. *Bioresource Technology*, 101: 2351-2358.
- MARSHALL, R.T. 1992. *Standart Methods for the examination of dairy products*. 16th edition, pp. 13-46. Washington DC, USA: American Public Health Association.
- McCANN, J. and AMES, BN. 2005. Is docosahexaenoic acid, an n-3 long-chain polyunsaturated fatty acid, required for development of normal brain function? An overview of evidence from cognitive and behavioral tests in humans and animals. *J Clin Nutr*, 82: 281-295.
- MEDINA, I., GONZALEZ, M.J., PAZOS, M., MEDAGLIA, D.D., SACCHI, R. and GALLARDO, J.M. 2003. Activity of plant extracts for preserving functional food containing n-3-PUFA. *European Food Research and Technology*, 217: 301-307.
- METİN, M. 1998. *Süt Teknolojisi Sütün Bileşimi ve İşlenmesi*. Ege Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Yayınları, No: 33, Bornova-İzmir, 793 ss.
- MEZA, N.G., NORIEGA-RODRIGUEZ, J.A., MEDINA-JUA'REZ, L.A., ORTEGA-GARCIA, J., MONROY-RIVERA, J., TORO-VA'ZQUEZ, V.J., GARCIA, H.S. and ANGULO-GUERRERO, O. 2003. Concentration of eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid from fish oil by hydrolysis and urea complexation. *Food Research International*, 36: 721-727.

- MILLER, M. R., NICHOLS, P. D. and CARTER, C. G. 2007. Replacement of fish oil with thraustochytrid *Schizochytrium* sp. L oil in Atlantic salmon parr (*Salmo salar* L) diets. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part A* 148: 382-392.
- MUNIGLIA, L., KISS, L.N., FONTEIX, C. and MARE, I. 2004. Multicriteria optimization of a single-cell oil production. *European Journal of Operational Research*, 153: 360-369.
- MÜFTÜOĞLU, O. 2003. *Yaşasın Hayat*. Doğan Kitapçılık A.Ş. Hürriyet Medya Towers, Güneşli İstanbul, ss 336.
- NAGAO, T., WATANABE, Y., KOBAYASHI, T., SUMIDA, M., KISHIMOTO, N., FUJITA, T. and SHIMADA, Y. 2007. Enzymatic purification of dihomog- γ -linolenic acid from *Mortierella* single-cell oil. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 44: 14-19.
- NAS, S., GÖKALP, H.Y. ve ÜNSAL, M. 2001. Bitkisel yağ teknolojisi. Pamukkale Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Ders Kitapları Yayın No: 005, Denizli, 329 ss.
- NOJIMA, Y., YAGI, T., MIYAKAWA, T., MATSUZAKI, H., HATAN0, T. and FUKUI, S. 1995. Extracellular Formation of Triglycerides from Glucose by a Mutant Strain of *Trichosporon*. *Journal of Fermentation and Bioengineering*, 80, No. 1: 88-90.
- ÖZRENK, E., DEMİR, S. ve TÜFENKÇİ, Ş. 2003. Peyniraltı Suyu Uygulaması ile *Glomus intraradices* ve *Rhizobium cicer* İnokulasyonlarının Nohut Bitkisinde Bazı Gelişim Parametrelerine Etkileri. Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, *Tarım Bilimleri Dergisi (J. Agric. Sci.)*, 13(2): 127-132.
- PAN, J. G. and RHEE, J. S. 1986. Kinetic and energetic analyses of lipid accumulation in batch culture of *Rhodotorula glutinis*. *J. Ferment. Technol.*, 64 (6): 557-560.
- PANESAR, P.S., KENNEDY, J.F., GANDHI, D.H. and BUNKO, K. 2007. Bioutilization of whey for lactic acid production. *Food Chemistry*. 105:1-14.
- PAPANIKOLAOU, S. and AGGELIS, G. 2002. Lipid production by *Yarrowia lipolytica* growing on industrial glycerol in a single-stage continuous culture. *Bioresource Technology*, 82: 43-49.
- PAPANIKOLAOU, S., CHEVALOT, I., KOMAITIS, M. and MARE, I. 2002. Single cell oil production by *Yarrowia lipolytica* growing on an industrial derivative of animal fat in batch cultures. *Appl Microbiol Biotechnol*, 58: 308-312.
- PAPANIKOLAOU, S., KOMAITIS, M. and AGGELIS, G. 2004. Single cell oil (SCO) production by *Mortierella isabellina* grown on high-sugar content media. *Bioresource Technology*, 95: 287-291.

- PAPANIKOLAOU, S., FAKAS, S., FICK, M., CHEVALOT, I., GALIOTOU-PANAYOTOU, M., KOMAITIS, M., MARC, I. and AGGELIS, G. 2008. Biotechnological valorisation of raw glycerol discharged after bio-diesel (fatty acid methyl esters) manufacturing process: Production of 1,3-propanediol, citric acid and single cell oil. *Biomass and Bioenergy*, 32: 60-71.
- PEACOCK, L., WARD, J., RATLEDGE, C., DICKINSON, F. M. and ISON, A. 2003. How *Streptomyces lividans* uses oils and sugars as mixed substrates. *Enzyme and Microbial Technology*, 32: 157-166.
- PENG, X. and CHEN, H. 2008a. Rapid estimation of single cell oil content of solid-state fermented mass using near-infrared spectroscopy. *Bioresource Technology*, 99: 8869-8872.
- PENG, X. and CHEN, H. 2008b. Single cell oil production in solid-state fermentation by *Microsphaeropsis* sp. from steam-exploded wheat straw mixed with wheat bran. *Bioresource Technology*, 99: 3885-3889.
- PENG, X. and CHEN, H. 2010. Pyrolysis of fermented mass containing microbial oil in a fixed-bed reactor for production of biodiesel. *J. Anal. Appl. Pyrolysis*, doi:10.1016/j.jaap.2010.02.003.
- PILLAI, M., G., CERTIK, M., NAKAHARA, T. and KAMISAKA, Y. 1998. Characterization of triacylglycerol biosynthesis in subcellular fractions of an oleaginous fungus, *Mortierella ramanniana* var. *angulispora*. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1393: 128-136.
- PINKART H. C., DEVEREUX R. and CHAPMAN P. J. 1998. Rapid separation of microbial lipids using solid phase extraction columns. *Journal of Microbiological Methods*, 34: 9-15.
- RAY, B. and BHUNIA, A. 2007. *Fundamental Food Microbiology*. CRC Pres, New York, pp 475.
- RATLEDGE, C. 1993. Single cell oils - have they a biotechnological future? *TIBTECH, Elsevier Trends Journals*, 11: 278-284.
- RATLEDGE, C. 2004. Fatty acid biosynthesis in microorganisms being used for Single Cell Oil production. *Biochimie*, 86: 807-815.
- REDDEN, P.R., LIN, X. and HORROBIN, D.F. 1998. *Dilinoleoyl-mono-gamma-linolenin (DLMG) and Di-gamma-linolenoyl-mono-linolein (DGML); naturally occurring structured triacylglycerols in evening primrose oil* in Christophe, A.E., ed, *Structural Modified Food Fats: Synthesis, Biochemistry, and Use*, AOCS Press, 121-128, Champaign Illinois.
- RIMADA, P.S. and ABRAHAM, A.G. 2001. Polysaccharide production by kefir grains during whey fermentation. *Journal of Dairy Research*, 68: 653-661.

- SAKURADANI, E. and SHIMIZU, S. 2009. Single cell oil production by *Mortierella alpina*. *Journal of Biotechnology*, 144: 31-36.
- SENANAYAKE, S.P.J. and SHAHIDI, F. 1999. Enzymatic incorporation of docosahexaenoic acid into borage oil. *Journal of American Oil Chemists' Society*, 76 (9): 1009-1015.
- SHIMADA, Y., SUENAGA, M., SUGIHARA, A., NAKAI, S. and TOMINAGA, Y. 1999. Continuous production of structured lipid containing γ -linoleic and caprylic acids by immobilized *Rhizopus delemar* lipase, *Journal of American Oil Chemists' Society*, 76 (2): 189-193.
- SHULER, M.L. and KARGI, F. 2008. Bioprocess Engineering, Basic Concepts.. Prentice Hall PTR, New Jersey, pp 535.
- SIENKIEWICZ, T. and RIEDEL, C.L. 1990. Whey and Whey Utilization. Possibilities for Utilization in Agriculture and Foodstuffs Production. Second Revised and Extended Edition, 1990. Publisher: Verlag Th. Mann, Gelsenkirchen-Buer Germany. ISBN 3-7862-0086-6, pp 379.
- SMITH J.E. 2004. Biotechnology. Cambridge University Pres, New York, pp 284.
- SONG, Y., WYNN, J. P., LI, Y., GRANTHAM, D. and RATLEDGE, C. 2001. A pre-genetic study of the isoforms of malic enzyme associated with lipid accumulation in *Mucor circinelloides*. *Microbiology*, 147: 1507-1515.
- STANBURY, P.F. and WHITAKER, A. 1984. Principles of Fermentation Technology. Academic Press. 247 pp.
- ŞAHİN, N., ÖZÇELİK, B. ve KARAALİ, A. 2003. Yapılandırılmış yağlar ve üretimlerinde lipaz enzimlerinin kullanımı. *Gıda*, 8: 72-77.
- ŞAHİN YEŞİLÇUBUK, N. ve KARAALİ, A. 2008. Gamma-linolenik asit ile zenginleştirilmiş anne sütü yağına benzer yapılandırılmış yağların üretimi. *itüdergisi/d mühendislik Cilt:7, Sayı:4*, 60-71.
- TAKENO, S., SAKURADANI, E., TOMI, A., INOHARA-OCHIAI, M., KAWASHIMA, H., ASHIKARI, T. and SHIMIZU, S. 2005. Improvement of the Fatty Acid Composition of an Oil-Producing Filamentous Fungus, *Mortierella alpina* 1S-4, through RNA Interference with $\Delta 12$ -Desaturase Gene Expression. *Applied and Environmental Microbiology*, Sept. 2005: 5124–5128
- TAYAR, M. ve DOKUZLU, C. 2007. Gıda Mikrobiyolojisi. Marmara Kitabevi, Osmangazi/Bursa, 196 S. ISBN: 975-6955-19-2.
- TUNAİL, N. 2009. Mikrobiyoloji. Pelin Ofset, Ankara, 448 S. ISBN: 978-605-603-62-0-0.

- TURCOTTE, G. and KOSARIC, N. 1988. Biosynthesis of lipids by *Rhodospiridium toruloides* ATCC 10788. *Journal of Biotechnology*, 8: 221-238.
- ÜÇÜNCÜ, M. 2004a. *A'dan Z'ye peynir teknolojisi*. Meta Basım Matbaacılık Hizmetleri, Bornova/İzmir, Cilt: I, 543 ss.
- ÜÇÜNCÜ, M. 2004b. *A'dan Z'ye peynir teknolojisi*. Meta Basım Matbaacılık Hizmetleri, Bornova/İzmir, Cilt: II, 1236 ss.
- VICENTE, G., BAUTISTA, L. F., RODRÍGUEZ, R., GUTIÉRREZ, F. J., SÁDABA, I., RUIZ-VÁZQUEZ, R. M., TORRES-MARTÍNEZ, S. and GARRE, V. 2009. Biodiesel production from biomass of an oleaginous fungus. *Biochemical Engineering Journal*, 48: 22–27.
- WAINWRIGHT, P.E., HUANG, Y. and WARD, G.R. 2001. *Effects of supplementation of formula with docosahexaenoic acid, arachidonic acid, and gammalinolenic acid on brain fatty acid composition in artificially reared rat pups* in Huang, Y.S., Ziboh, V.A., eds, *Gamma-Linolenic Acid: Recent Advances in Biotechnology and Clinical Applications*, AOCS Press, 180-190, Illinois.
- WAITES, M.J., MORGAN, N.L., ROCKEY, J.S. and HIGTON, G. 2001. *Industrial Microbiology: An Introduction*. Blackwell Science, Madlen, MA, pp 265.
- WÄLTERMANN M., LUFTMANN, H., BAUMEISTER, D., KALSCHEUER, R. and STEINBUCHER, A. 2000. *Rhodococcus opacus* strain PD630 as a new source of high-value single-cell oil? Isolation and characterization of triacylglycerols and other storage lipids. *Microbiology*, 146: 1143-1149.
- WÄLTERMANN M. and STEINBUCHER, A. 2000. In vitro effects of sterculic acid on lipid biosynthesis in *Rhodococcus opacus* strain PD630 and isolation of mutants defective in fatty acid desaturation. *FEMS Microbiology Letters*, 190: 45-50.
- WARD, O. P. and SINGH, A. 2005. Omega-3/6 fatty acids: Alternative sources of production. *Process Biochemistry*, 40: 3627-3652.
- WHALLEY, L.J., FOX, H.C., WAHLE, K.W., STARR, J.M. and DEARY, I.J. 2004. Cognitive aging, childhood intelligence, and the use of food supplements: possible involvement of n-3 fatty acids. *Am J Clin Nutr.*, 80: 1650-1657.
- WIBERT, G. J., BURNS, R. A., DIERSEN-SHADE, D. A. and KELLY, C. M. 1997. Evaluation of single cell sources of docosahexaenoic acid and arachidonic acid: a 4-week oral safety study in rats. *Food and Chemical Toxicology*, 35: 967-974.
- WYNN, J. P. and RATLEDGE, C. 2000. Evidence that the rate-limiting step for the biosynthesis of arachidonic acid in *Mortierella alpina* is at the level of the 18:3 to 20:3 elongase. *Microbiology*, 146: 2325-2331.

- YKEMA, A., VERBREE, E. C., KATER M. M. and SMIT, H. 1988. Optimization of lipid production in the oleaginous yeast *Apiotrichum curvature* in wheypermeate. *Appl Microbiol Biotechnol*, 29: 211-218.
- ZHANG, H., ÖNAL, G., WIJESUNDERA, C. and XU, X. 2009. Practical synthesis of 1,3-oleoyl 2-docosaheptaenoylglycerol by lipase-catalyzed reactions: An evaluation of different reaction routes. *Process Biochemistry*, 44: 534-539.
- ZHANG, Y. and RATLEDGE, C. 2008. Multiple isoforms of malic enzyme in the oleaginous fungus, *Mortierella alpina*. *Mycological Research*, 112: 725-730
- ZHAO, C.H., ZHANG, T., LI, M. and CHI, Z.M. 2010. Single cell oil production from hydrolysates of inulin and extract of tubers of Jerusalem artichoke by *Rhodotorula mucilaginosa* TJY15a. *Process Biochemistry*, doi:10.1016/j.procbio.2010.04.002.
- ZHU, L.Y., ZONG, M.H. and WU, H. 2008. Efficient lipid production with *Trichosporon fermentans* and its use for biodiesel preparation. *Bioresource Technology*, 99: 7881-7885.

ÖZGEÇMİŞ

Kütahya'nın Altıntaş ilçesinde, 1 Ocak 1973 tarihinde doğmuştur. İlk, orta ve lise öğrenimini Kütahya'da tamamlamıştır. 1997 yılında Ege Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü'nden mezun olmuştur. Eylül 1998 tarihinde Akdeniz Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı'nda yüksek lisans eğitimine başlamıştır. Kasım 1998 tarihinde Akdeniz Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü'nde Araştırma Görevlisi olarak atanmıştır. Yüksek lisans öğrenimini 2001 yılında tamamlamış, Şubat 2002'de Akdeniz Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı'nda doktora eğitimine başlamıştır. Mayıs 2006 tarihinde Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü Süt Teknolojisi Anabilim Dalı'na Uzman olarak atanmıştır. Askerlik hizmetini Aralık 2006 - Mayıs 2007 tarihleri arasında Kastamonu Jandarma Bölge Komutanlığı'nda tamamlamıştır. Şubat 2010'da Akdeniz Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü'ne Öğretim Görevlisi olarak atanmıştır. Halen aynı kurumda görevine devam etmektedir.