

# Mikroorganizmalardan Tek Hücre Yağları Üretimi

Sevda DARCAN\*, Nermin SARIGÜL\*\*

\*Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Mimarlık-Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

\*\*Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü

## ÖZET

Mikrobiyal yağlar (Single Cell Oil; SCO) hücrelerinde yağ biriktiren maya, küf ve bakteriler tarafından üretilirler ve SCO üretimi uzun yıllardır endüstriyel ve bilimsel araştırma konusu olarak ilgi çekmektedir. Günümüzde tek hücre yağları gıda, ilaç ve bakım ürünlerindeki fonksiyonel yağların ve biyodizel üretiminde hammadde kaynağı olarak da önemlidir.

Bitkisel ve hayvansal yağ kaynakları ile kıyaslandığında SCO'nun mikroorganizmalar tarafından üretilmesinin çeşitli avantajları vardır. Bu avantajlar; fermentasyon süreçlerinin iklim koşullarından bağımsız olması, atık ürünlerin kullanılması ile gıda olarak da kullanılabilir kaynaklarla rekabetten sakınılması ve çevre dostu üretim yapılmasıdır. Ayrıca "rekombinant biyoteknoloji" uygulamaları ile strain geliştirilmesi sonucunda yüksek hacimde, farklı, değerli ve ender bulunan tek hücre yağlarının üretilmesi sağlanmaktadır.

Yüksek fermentasyon maliyetleri gelecekteki uygulamaları engellemektedir ve endüstriyel boyutta üretim potansiyeline şüpheli yaklaşılmasına neden olmaktadır. Bu nedenle çeşitli hidrofilik ve hidrofobik substratlar SCO üretimi için değerlendirilmektedir. SCO üretimi verimi karbon kaynağının tipi, azot kaynağı, sıcaklık, pH, süre, çözülmüş oksijen miktarı gibi çevresel koşullardan etkilenmektedir ve mikroorganizma türüne ve strainine bağlıdır. Tek hücre yağı üretiminde üretilen yağın miktarı ve yağ asidi kompozisyonu da çevresel koşullardan ve fermentasyon strainlerine bağlı olarak değişmektedir.

**Anahtar kelimeler:** Endüstriyel üretim, mikroorganizmalar, tek hücre yağları

## SUMMARY

### Single Cell oil Production from Microorganisms

Microbial lipids (Single cell oil; SCO) are produced by oleaginous microorganisms such as yeasts, molds, algae and bacteria and SCO production has drawn attention as a subject of industrial and scientific research for many years. Currently, SCOs attract much importance as raw materials of functional oils for food, drugs and healthcare products and feedstock for biodiesel production.

The production of SCO by microorganisms has several advantages compared to other oil resources such as plants and animals including independency of fermentative processes from climate and, more importantly, avoiding the competition with resources that can be used as food by the use of waste products and accomplishment of environmentfriendly production. In addition, as a result of strain development by "recombinant biotechnology" applications production of high volumes of different, precious and rare SCOs is ensured.

High fermentation costs prevent future applications, and lead to uncertainty in terms of industrial production potential. Therefore, various hydrophilic and hydrophobic substrates are evaluated for SCO production. The efficiency of SCO production is affected by environmental factors such as type of carbon source, nitrogen source, temperature, pH, time, the amount of dissolved oxygen and is dependent on the microorganism species and strain. The amount of lipid produced and fatty acid composition in single cell oil production also vary depending on the environmental factors and fermentation strains.

**Key words:** Industrial production, microorganisms, single cell oils

## GİRİŞ

Tek hücre yağları (SCO)'nın ticari olarak kullanımını diğer yağlara göre ekonomik olması hâlinde gerçekleştirebilmektedir. Mikrobiyal ürünün ekonomik olması ancak substrat maliyetinin ucuz ve

sürekli olduğu bir fermentasyon ile mümkün olmaktadır. Mikroorganizmalar biyokütlerde %20 veya daha fazla miktarda yağ içermesi durumunda yağ üreten mikroorganizma olarak nitelendirilmektedir. Mikroorganizmalarda yağ birikimi, mikroorganizmanın gelişmesi için

**Alındığı tarih:** 13.06.2015

**Kabul tarihi:** 09.11.2015

**Yazışma adresi:** Sevda Darcan, Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Mimarlık-Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Burdur  
**e-posta:** sevdadarcan@gmail.com

gerekli olan bir besin maddesi tükendiği ve ortamda kullanılabilir fazla miktarda karbon bulunduğu zaman gerçekleşmektedir<sup>(1,2)</sup>.

SCO üretiminde yararlanılabilecek yağ üreten mikroorganizma sayısı çok fazladır. Bu çalışmalarda asıl amaç, fermentasyon sonucu elde edilen ürünün insan gıdası olarak kullanılan bitkisel ve hayvansal yağların yerine kullanılabilir nitelikte olmasıdır. Mikrobiyal yağ üretimi tek hücre proteini üretimine benzerdir. İşlemin tasarımı ve geliştirilmesinde dikkat edilecek üç önemli nokta vardır. Bunlar, fermentör seçimi, hücre konsantrasyonu ve yağın ekstraksiyonudur<sup>(2)</sup>.

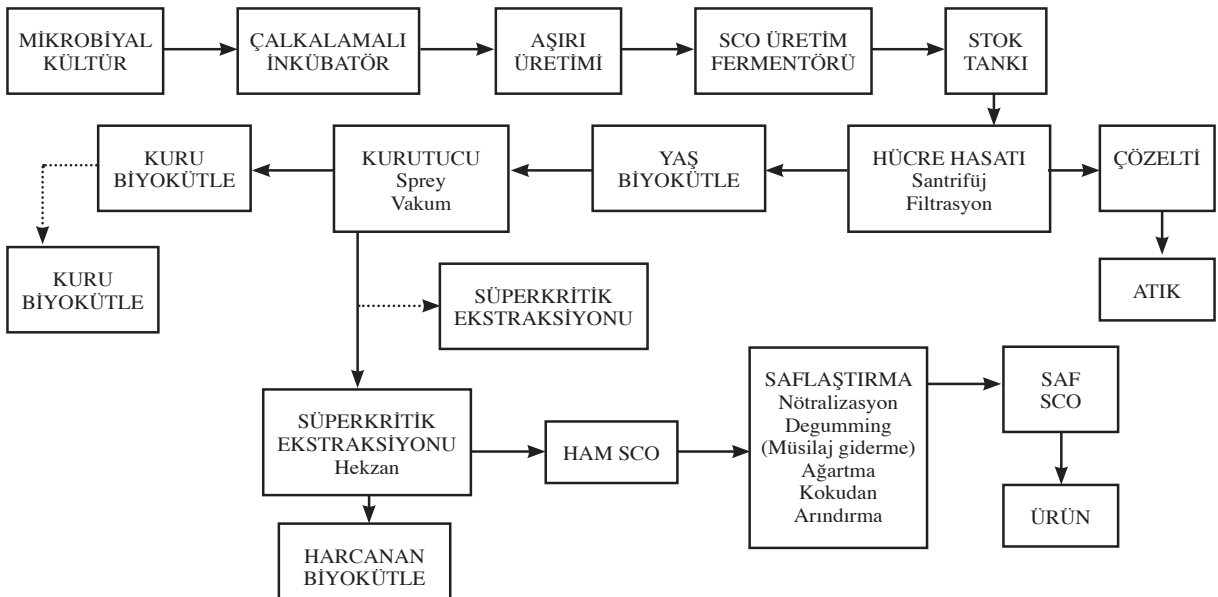
### Tek Hücre Yağları Üretimi

Ticari üretim tesislerinde, mikrobiyal kültürden aşı üretimi laboratuvar ortamında gerçekleştirilmektedir. SCO, mikroorganizma için uygun üretim ortamında fermentasyon ile elde edilmektedir. Hücre hasadı santrifüj veya filtrasyon ile yapılmaktadır. Elde edilen yağ biyokütle vakum veya sprej kurutucuda işlem görmektedir. Kuru biyokütle solvent ekstraksiyonu ile

muamele edilerek ham yağ ekstrakte edilmektedir. Son olarak, üretilen ham yağ nötralizasyon, degumming (müsilaj giderme), ağartma ve kokudan arındırma aşamaları ile rafine edilmektedir<sup>(3)</sup>.

Mayalardan elde edilen yağın rafinasyonu diğer tüm yenilebilir yağlara uygulanan standart rafinasyon teknolojisi ile (müsilaj giderme, nötralizasyon, renk açma ve koku giderme) aynıdır ve rafinasyon sonrasında istenilen özelliklere ulaşılabilmektedir. Rafine edilmiş yağlar temiz, kokusuz ve berrak parlak sarı renktedir ve peroksit değerleri kabul edilebilir düzeydedir. Mayalardan elde edilen yağın kullanım alanının genişlemesi, yağın stabilize olması ve saflaştırılması ile olası olmaktadır. Saf SCO farklı uygulama alanlarına sahip olabilmektedir. Kozmetik krem ve losyonları, gıda yağları (palm oleini, kakao yağı gibi), gıda kıvam düzenleyicileri, gıda katkı maddeleri, yenilebilir yağlar (margarin, kızartma yağı vb.), sağlık-ilaç ve enerji alanlarında kullanılabilir<sup>(2)</sup>.

SCO üretim hattı aşağıdaki gibi şematize edilmiştir (Şekil 1).



Şekil 1. Mikrobiyal yağlar (Single Cell Oil; SCO) üretimi akış şeması.

## Tek Hücre Yağlarının Kullanım Alanları

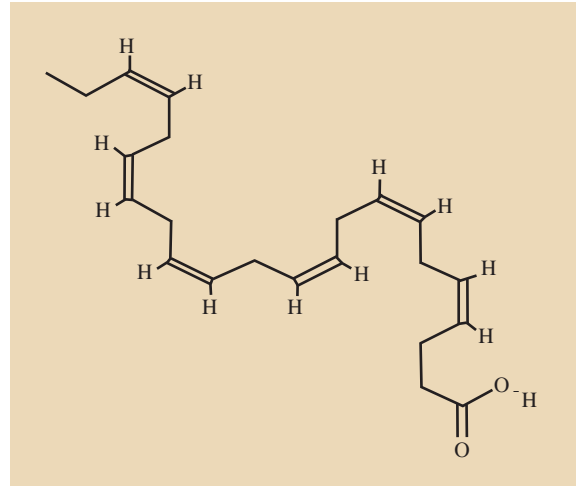
SCO; gıda, sağlık, enerji gibi birçok endüstriyel alanda kullanılabilir (Tablo 1).

Tablo 1. SCO'nun fonksiyonları ve uygulamaları<sup>(4)</sup>.

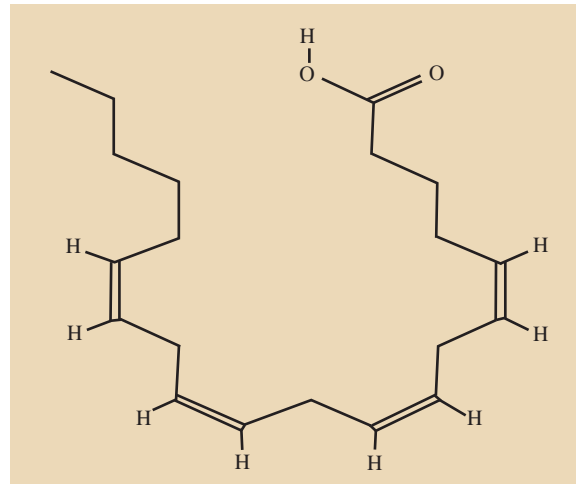
SCO	Mikroorganizma
DHA	<i>Schizochytrium sp. S31</i> <i>Schizochytrium G13/ 2S</i> <i>Schizochytrium limacinum</i> <i>Parietochloris incise</i> <i>Cryptocodinium cohnii</i>
AA	<i>Sirodotia Kylin</i> <i>Mortierella alpine</i>
EPA	<i>Candida guilliermondii</i> <i>Achlya sp. ma-2801</i>
PUFA	<i>Cunninghamella echinulata</i> <i>Mortierella isabellina</i>
GLA	<i>Mortierella ramanniana</i> <i>Mortierella alpine</i> <i>Mucor rouxii</i>
Kakao yağı yerine kullanılanlar	<i>Yarrowia lipolytica</i> <i>Apiotrichum curvatum</i>
	<i>Rhodotorula glutinis</i> <i>Rhodosporidium toruloides</i> <i>Trichosporon fermentans</i> <i>Lipomyces starkeyi</i>
Biyodizel üretim için alternatif hammadde	<i>Nannochloropsis oculata</i> <i>Neochloris oleoabundans</i> <i>Cladophora fracta</i> <i>Chlorella protothecoides</i>
	<i>Chlorella vulgaris</i> <i>Cunninghamella japonica</i> <i>Escherichia coli</i>

## Tek Hücre Yağlarının Sağlık ve Gıda Endüstrisinde Kullanımı

Tek hücre yağları, araşidonik asit (AA) ve dokoşaekzaenoik asit (DHA) gibi uzun C zincirlerine sahip çoklu doymamış yağ asitleri (Polyunsaturated Fatty Acids; PUFA) içerebilir. Bu asitler doğal olarak insan sütünde bulunur ve bebeklerin gelişimi için vazgeçilmez yağ asitleridir. Şekil 2'de kimyasal formülleri verilen AA (C<sub>20</sub>H<sub>32</sub>O<sub>2</sub>) ve DHA (C<sub>22</sub>H<sub>32</sub>O<sub>2</sub>) açısından zengin SCO üretimi için araştırmacılar çalışmalarını sürdürmektedirler<sup>(5)</sup>.



Şekil 2a. DHA.



Şekil 2b. AA.

PUFA'nın kalp dolaşım hastalıkları, aterosklerozis, koroner kalp hastalıkları ve kanda yüksek lipid içeriği gibi sorunlar üzerinde olumlu etkileri bulunmaktadır ve bu nedenle diyetle alınmaları vücut gelişimi ve özellikle kalp-damar hastalıklarının önlenmesi açısından önemlidir. PUFA arasında yer alan  $\gamma$ -linoleik asit (GLA) ticari olarak ilgi odağı olma potansiyeline sahiptir. GLA'nın eşsiz antikanser özelliği olduğu kanıtlanmıştır. GLA'nın doksorubisin, sisplatin, karboplatin, idarubisin, mitoksantron, tamoksifen, vinkristin ve vinblastin gibi antikanser ilaçlarının da etkinliğini arttırdığı saptanmıştır. Önümüzdeki yıllarda saf GLA'nın kanser tedavisinde kullanılacağı ön görülmektedir. GLA

(C<sub>18</sub>H<sub>30</sub>O<sub>2</sub>) içeren SCO en güçlü saf GLA kaynağıdır. GLA içeren bitkisel yağlar GLA'yı saflaştırmayı engelleyen diğer PUFA'ları özellikle linoleik asiti yüksek miktarda içermektedir. Bu açıdan GLA içeren SCO üretimi büyük öneme sahiptir<sup>(5-7)</sup>.

*Zygomycetes* ve *Mucolares*'e ait mantar türleri GLA ihtiva eden mikroorganizma türleridir. *Mucor circinelloides*'den GLA içeren tek hücre yağları üretilmiştir. *Mortierella*, *Cunninghamella* ve *Thamnidium* gibi mikroorganizmalar da birçok araştırmacı tarafından tercih edilmiştir. Japonya'da GLA üretimi için *Mortierella ramaniana* kullanılmış ve üretilen SCO gıda katkı maddesi olarak tüketilmiştir<sup>(5)</sup>.

Çalışmalar yalnız *Candida curvata* ile *Rhodotorula glutinis*'den elde edilen yağın özelliklerinin tam olarak belirlenmesi üzerinde yoğunlaşmıştır. *C. curvata*'dan elde edilen yağın serbest yağ asiti düzeyi %2'ye ayarlandığı zaman, ham yağ şeklinde sabun yapımında direkt olarak kullanılabilir. Ayrıca, hayvan besleme ve tekstil yağı olarak da değerlendirilebilir. *C. curvata*'dan elde edilen yağın erime noktasının trigliserit düzeyinde kakao yağı benzeri yağlara yakın olduğu belirtilmiştir<sup>(2)</sup>.

Günümüzde kakao yağı yaygın olarak bitkisel kaynaklardan elde edilmektedir ve ticari olarak sağlık, gıda ve kimya endüstrisinde kullanılmaktadır. Gıdalarda şekerlemelerde ve beyaz çikolata üretiminde, losyon, sabun ve krem içeriklerinde kullanılmaktadır. Araştırmacılar mikrobiyal lipidlerin arasında kakao yağı bulmaya çalışmışlardır. Bitkisel kakao yağları; palmitik, stearik ve oleik asitlerin bir kombinasyonundan oluşur. SCO üretimi ile doğadaki bu ender kombinasyonla hemen hemen aynı kombinasyona sahip yağ üretimi olasıdır. Mayalar özel koşullarda kakao yağı içeren SCO üretebilmektedir. Peynir üretimi sırasında yan ürün olarak elde edilen peynir altı suyu, mayalardan kakao yağı üretimi

için gerekli besin gereksinimlerini karşılayan zengin ve ekonomik bir hammaddedir<sup>(5)</sup>.

*C. curvata*'dan elde edilen yağ, palmiye ağacı yağının düşük erime noktasına sahip olan "palm olein" fraksiyonuna benzer özellik göstermektedir. Palm olein balık köftesi, patates cipsi, parmak patates ve diğer hafif yemeklerin kızartılmasında kullanılmaktadır. Mayalardan elde edilen SCO'nun palm oleini yerine kullanılması da olasıdır. Ancak bu konuda iki önemli sorun vardır. Bunlardan birincisi, palmiye ağacının çok fazla ekilmesinden dolayı çok fazla miktarda palmiye yağı ürününün piyasada bulunmasıdır. İkinci sorun ise, mayalardan elde edilen yağın yenilebilir olduğuna dair uluslararası onay alınması gerekmektedir. Bu amaçla, çeşitli hayvan denemeleri yapılarak maya yağının toksik etkisinin olup olmadığı belirlenmelidir<sup>(2)</sup>.

### SCO'nun Enerji Endüstrisinde Kullanımı

Fosil kaynaklı yakıtların tükenmesi, çevre kirliliğine neden olması ve sonuçta artan endişeler son yıllarda yeni, yenilenebilir alternatif enerji kaynaklarına eğilimi arttırmıştır. Mikroorganizmalar biyoetanol ve biyodizel üretiminde kullanılmaktadır. Biyodizel üretiminde diğer bir alternatif de bitkisel yağların kullanılmasıdır. Ancak ekilebilir arazilerin yağ bitkilerinin tarımına ayrılması sınırlı gıda kaynaklarının daha da azalması anlamına gelmektedir<sup>(5,8)</sup>.

Birçok araştırmacı biyodizel üretimi için başlangıç materyali olarak mikrobiyal yağ kullanmayı önermiştir. Fosil yakıtların tükenmesi, çevre kirliliğine neden olması ve politik nedenlerle zaman zaman kriz durumunun oluşması biyodizel üretimine ve kullanımına olan ilgiyi artırmıştır. Biyodizelin biyolojik olarak parçalanabilir olması nedeniyle biyodizel yakıt kullanımının konvansiyonel dizel yakıt kullanımına kıyasla çevre açısından avantajları mevcuttur. Biyodizel emisyonları kimyasal olarak dizelden farklıdır;

genellikle daha düşük CO, CO<sub>2</sub>, SOx, poliaromatik ve partiküler madde emisyonları içerir. AB tarafından yayınlanan araştırma raporu sonuçlarına göre, 1 litre dizel tüketiminden 3.2 kg CO<sub>2</sub> emisyonu meydana gelirken, biyodizel tüketiminde bu miktar 0.7 kg/L seviyesine kadar düşmektedir<sup>(9,10)</sup>.

## Tek Hücre Yağı Üretiminde Kullanılan Mikroorganizmalar

### (a) Bakteriler

Bakteriler polihidroksi alkanolik asit ve diğer polihidroksi asitler gibi endüstriyel açıdan önemli özel lipidlerin üretiminde kullanılmaktadırlar. Bakterilerin kuru ağırlığının yaklaşık %10'unu fosfolipidlerin oluşturduğu ve fosfolipid içeriğinin trigliserit içeriğinden daha fazla olduğu belirtilmiştir<sup>(11)</sup>.

*Streptomyces*, *Nocardia*, *Rhodococcus*, *Mycobacterium*, *Acinetobacter* triaçilgliserol (TAG) üretimi için potansiyel mikroorganizmalardır. Bu mikroorganizmalar organik asitler ve n-alkanlar gibi farklı karbon kaynakları üzerinde inkübasyon süresince değişen miktarlarda nötral lipid üretmektedirler. Bu mikroorganizmalar biyokütlelerinin %20'sinden fazlasını lipid olarak biriktirdikleri için yağ üreten bakteri olarak tanımlanabilirler<sup>(1)</sup>.

*Arthrobacter* cinsi bakteriler kuru biyokütle üzerinden %80'lere varan düzeylerde lipid içermektedir. Bu lipidin de yaklaşık %90'ı TAG'dır. *Photobacterium profundum* deniz kaynaklı bakteridir ve bu bakteri elde edilen SCO'nun PUFA içerdiği belirlenmiştir. Denizden izole edilen bakterilerin ürettiği SCO'nun EPA içerdiği belirtilmektedir<sup>(12,13)</sup>.

### (b) Küfler

Küfler genel olarak mayalara kıyasla daha yavaş

gelişmektedirler fakat, elde edilen yağların çoklu PUFA içeriği mayalardan elde edilen yağlara göre daha yüksektir. Mayalar tarafından sentezlenemeyen belirli yağ asitleri küfler tarafından sentezlenebilir. Fakat filamentli yapılarına bağlı olarak yavaş gelişim ve karbon kaynaklarından düşük biyokütle verimi gibi çeşitli dezavantajlara sahiptirler<sup>(5)</sup>.

*Penicillium*, *Aspergillus*, *Fusarium*, *Mucor* ve *Phycomyces* cinsi küfler yağ üretimi açısından potansiyel kaynaklardır<sup>(11)</sup>.

*Zygomycetes* sınıfına ait *Mucorales*, *Mortierella*, *Rhizopus*, *Cunninghamella* ve *Zygorhynchus* GLA üretimi açısından önemlidir. *Mucorales* cinsi küflerin oluşturduğu lipidin %30'lara varan seviyede GLA içerdiği ve GLA üretiminde kullanılabilirliği belirtilmektedir<sup>(14)</sup>.

*Thamnidium elegans* tek C kaynağı olarak ham gliserol içeren ortamda inkübe edildiğinde GLA açısından zengin olan SCO'yu yüksek miktarda üretmektedir. Üretilen biyokütle %40'tan (w/w) fazla yağ içermektedir, bu içeriğin %7.3'ü (w/w) GLA içeren lipidlerdir. Gliserol GLA üretimi için uygun bir substrattır<sup>(11)</sup>.

*Mortierella* cinsi küflerin de GLA üretimi açısından uygun olduğu belirtilmiştir. TAG tip yağ içinde yüksek oranda AA içermeleri nedeniyle *Mortierella* üyeleri önemli kaynaklardır. *Mortierella* ve *Mucor*'dan endüstriyel boyutta yağ asidi üretimi Japonya'da yapılmaktadır<sup>(11)</sup>.

Küflerden elde edilen lipidlerin yağ bileşimleri türlere göre değişiklik göstermektedir. *Aspergillus terreus* ve *Tolyposporium ehrenbergii* tarafından üretilen SCO'nun bileşimi bitkisel yağların yağ asidi bileşimlerine benzemektedir. *Entomophthora* cinsi küfler kısa zincirli, *Rhizopus* cinsi küfler uzun zincirli yağ asitleri üretmektedir. *Saprolegniages* ve *Entomophthora* sınıfı küfler ve *Thraustochyrium aureum* ATCC

34304 DHA üretebilmektedir<sup>(11)</sup>.

Sınırlı N (35.9 g/L'ye kadar) ve yüksek başlangıç şekere miktarı (örneğin, 100 g/L) içeren üretim koşullarında *Mortierella isabellina* N tüketimine kadar hızlı hücre büyümesi göstermektedir. N tükendikten sonra, kültür ortamında 18.1 g/L oranında SCO üretimi belirlenmiştir (%50-55 w/w yağ). Toplam kuru biyokütle ve lipid verimleri tüketilen glukoz gramı başına sırasıyla 0.34 ve 0.17 g'dır<sup>(15)</sup>.

### (c) Mayalar

Mayaların intraselüler olarak yüksek miktarda yağ biriktirme yetenekleri, oldukça yüksek büyüme hızları ve TAG fraksiyonlarının bitki yağlarına benzemeleri sebebiyle şimdiye kadar çalışmaların çoğu mayalar üzerine gerçekleştirilmiştir<sup>(1)</sup>.

Mayalardan elde edilen mikrobiyal lipidin yaklaşık %80-90'ını TAG'dır. Ayrıca bu yağlar toksin ve allerjen içermemektedir. Gelişme ortamında düşük azot miktarına bağlı olarak *Rhodotorula gracilis*'in gram kuru hücre ağırlığı başına %65 lipid ürettiği belirtilmektedir. *Cryptococcus curvatus* çeşitli karbon kaynaklarını yüksek verimde yağ asidine dönüştürme özelliğine sahiptir, N'un sınırlı olduğu ortamda kuru biyokütle ağırlığı üzerinden %60'a kadar lipid üretmektedir. Elde edilen lipidin %90'ından fazlasını palm yağına benzer yağ asidi kompozisyonuna sahip TAG oluşturmaktadır. *Saccharomyces cerevisiae* yoğunlaştırılmış kültür ortamında geliştirilerek kuru biyokütlerde %7-10 oranında ergosterol üretmektedir<sup>(11)</sup>.

### (d) Algler ve Fitoplanktonlar

Yağca zengin fitoplanktonlar kuru ağırlık üzerinden %50'lere varan oranda lipid depolayabilmektedir. Organik karbon kaynağı olmadan da gelişim gösterebilmeleri alg ve fitoplanktonlara

avantaj sağlamaktadır. Ozmotik basınca dayalı türler deniz suyunda da geliştirilebilmektedir. Böylece bu mikroalglerden düşük maliyetle SCO üretimi olası olmaktadır<sup>(16)</sup>.

*Chrysophyceae*, *Xanthophyceae* ve *Eustigmatophyceae* sınıfı bazı algere ait lipidler yüksek oranda eikosapentaenoik asit (EPA) içermektedir. *Spirulina platensis*'nin içerdiği yağın yaklaşık %20'si GLA'dır. Diatomlarda (*Bacillariophyceae*) temel PUFA'nın EPA olduğu bilinmektedir<sup>(17)</sup>.

### Tek Hücre Yağları Üretimini Etkileyen Faktörler

#### Fermantasyon Ortamı İçeriği

Karbon: Yağ üretebilme özelliğine sahip mikroorganizmalar glukoz, fruktoz, maltoz, ksiloz, asetik asit, etanol, lipidler ve yağların endüstriyel türevleri gibi farklı birçok C kaynağı üzerinde gelişebilir. SCO üretimi için başlıca C kaynakları; glukoz, çözünebilir nişasta, gliserol ve tahıllardır ve kullanılan ana metot kesikli üretimdir<sup>(18)</sup>.

*Cunninghamella echinulata*'dan SCO üretiminde çözünebilir nişasta diğer C kaynaklarından daha yüksek verim sağlamıştır. Glukoz, fruktoz, maltoz, nişasta ve gliserol *Mortierella*'dan AA içeren SCO üretiminde etkili karbon kaynaklarıdır<sup>(11)</sup>.

Substrat olarak yağ kullanımı yeni ve doymamış özellikteki yağ asitlerinin elde edilmesini teşvik edebilmesi açısından ilgi çekmektedir. Besi yerine yağ ilavesinin elde edilen lipid miktarını artırdığı ve yağ asidi bileşimini değiştirdiği tespit edilmiştir. Palm yağı gibi doymuş özellikteki bir yağdan yüksek teknik özelliğe sahip doymamış yağlar üretilmektedir<sup>(11)</sup>.

Ham gliserol mayalardan SCO üretiminde uygun bir substrattır. Biyodizel üretiminde yan ürün

olarak elde edilir ve atık durumdadır. Bu nedenle, fermentasyon işlemleri için substrat olarak ham gliserol kullanımı ekonomiktir<sup>(19)</sup>.

**Azot:** Küfler başta olmak üzere mikroorganizmalardan elde edilen lipid miktar ve bileşimi üretim ortamının N içeriği, miktarı ve kaynağından etkilenmektedir. Ayrıca üretilen doymuş yağın doymamış yağ oranı da ortamda bulunan N miktarından etkilenmektedir. Karbon-azot oranı (C:N) yüksek tutulan besiyerlerinde geliştirilen mikroorganizmalar yağca zengin biyokütle oluşturmaktadırlar<sup>(11)</sup>.

SCO üretiminde mikroorganizmalar için N kaynağı olarak maya ekstraktı, pepton, amonyum sülfat, amonyum klorid, malt ekstraktı ve nitrat kullanılabilir. *C. echinulata* ATHUM 4411 ve *M. isabellina*'dan SCO üretiminde N kaynağı olarak  $(\text{NH}_4)\text{SO}_4$  kullanıldığında lipid üretim miktarları sırasıyla 2.2 g/L ve 3.4 g/L'dir. *Mortierella ramanniana* var. *ramanniana*'dan SCO üretimde kullanılan en verimli N kaynağının maya ekstraktı olduğu görülmektedir. Amonyum SCO üretiminde bilinen tüm maya türleri için N kaynağı olarak kullanılabilir<sup>(20-22)</sup>.

**Metal İyonları:** Mikroorganizmalardan lipid üretiminde metal iyonlarının teşvik edici özellikleri olduğu saptanmıştır. Euglen'dan EPA üretiminin, mangan eksikliğinde azaldığı belirlenmiştir. Fosfat, sülfat, demir ve magnezyum gibi diğer besin öğelerinin de azalması bazı mikroorganizmalardan SCO üretimini arttırmaktadır<sup>(23)</sup>.

### Fiziksel Faktörler

**Ekstraksiyon Yöntemi:** Mikroorganizmalardan lipid eldesi için uygulanan ekstraksiyon yöntemi lipid verimini ve yağ asidi kompozisyonunu etkilemektedir. Etkili bir ekstraksiyon yönteminin lipolizisi önleyici, otooksidatif indirgenme reaksiyonlarını ise minimize edici nitelikte

olması gerekmektedir. Uygun yöntemin seçimi çalışılan mikroorganizmanın türüne, örneğin, kimyasal yapısına ve ekstraktın kullanım alanına bağlı olarak değişiklik gösterir<sup>(24)</sup>.

Lipid ekstraksiyonunda kullanılan çözümler, polaritelerine bağlı olarak hücrelerde bulunan toplam lipidin içerdiği farklı sınıfları, belirli oranda ekstrakte ettiğinden ekstrakte edilen lipidin yağ asidi bileşimi etkilenmektedir<sup>(24)</sup>.

Genel olarak lipid ekstraksiyonu için kullanılan çözümler, lipid ve protein arasındaki hidrojen bağları ve iyonik güçleri koparacak alkoller içerir. Hücrelerden lipid ekstraksiyonunda dehidrasyon, protein denatürasyonu ve lipid kompleksleri ile proteinler arasındaki hidrojen bağının degradasyonu, polar ve apolar çözümlerin kombinasyon hâlinde kullanılması ile sağlanabilir. Kullanılan çözümler ekstrakte edilen lipidlerle kimyasal reaksiyona girmeyecek özellikte olmalıdır. Elde edilen lipid gıda ve ilaç sanayinde kullanılabilirliğinden dolayı toksisitesi ve güvenliği büyük önem taşımaktadır<sup>(11)</sup>.

Kloroform:metanol (2:1, v/v) ekstraksiyonu yüksek lipid verimi sağladığı için standart bir yöntem olarak kabul edilmektedir. Kloroform özellikle apolar bileşiklerin, metanol ise polar bileşiklerin ekstraksiyonu için uygundur. Ekstraktın temel olarak nötral lipidleri içerdiği çalışmalarda ise çözümler olarak hekzan tercih edilmektedir<sup>(24)</sup>.

Kloroform/metanol (2:1) ekstraksiyonu, hekzan/izopropanol (3:2) ekstraksiyonu ve çözümler olarak hekzanın kullanıldığı Soxhlet ekstraksiyonu yöntemlerinin farklı küflerden elde edilen yağın verimi ve yağ asidi kompozisyonu üzerine etkileri araştırılmıştır ve kloroform/metanol (2:1) yönteminin en uygun yöntem olduğu saptanmıştır<sup>(11)</sup>.

Organik çözücüler yerine, süperkritik sıvı özelliği gösteren maddeler de çözücü olarak kullanılmaktadır. Süperkritik sıvı termofiziksel özellikleri bakımından sıvı ve gaz arasındadır. Sıvı çözücülerin sahip olduğu çözme gücü ile birçok maddeyi çözebilirken aynı zamanda gazlara yakın difüzyon katsayısı özelliğiyle de çözünen maddeyi hızlı bir şekilde yaymaktadır. Süperkritik sıvı ekstraksiyonunda kullanılan çözücüler arasında kolayca bulunabilmesi, maliyetinin düşük ve saflık oranının yüksek olması, kullanımının kolay ve çevre etkisinin minimum olması nedeniyle karbondioksit (CO<sub>2</sub>) başta gelmektedir. Süperkritik CO<sub>2</sub> ile ekstraksiyon da çözgen kullanımına alternatif olmaktadır<sup>(25)</sup>.

**Sıcaklık:** Mikroorganizmaların çevresel koşullara adaptasyonunu membran lipid kompozisyonu sağlar ve gelişme sıcaklığındaki düşüğe bağlı olarak membran lipid yağ asidinin doymamışlık derecesi artar. Bu durum siyanobakteriler, ökar-yotik algler, mayalar ve küflerde tespit edilmiştir. EPA üretiminin de düşük sıcaklıklarda daha yüksek olduğu saptanmıştır<sup>(26)</sup>.

**Diğer Faktörler:** pH, surfaktan ilavesi, oksijen varlığı, yağ asidi üretimini teşvik edici maddelerin ilavesi, inkübasyon süresi, organizmanın gelişme hızı ve organizmanın yaşı elde edilen lipidin miktar ve bileşimini etkileyen faktörlerdir. C kaynağı olarak glukoz kullanıldığında ve yüksek C:N içeren ortamda *M. isabellina* 250 saatlik fermentasyon süresi sonunda %50 yağ içeren 35.5 g/L biyokütle üretmiştir. *A. oryzae* A-4 ile yapılan çalışmada 48 saatlik fermentasyonda yağ içeriği %7.8 olan 1.74 g/L biyokütle elde edilirken, 144 saatlik fermentasyonda yağ içeriği %18.15 olan 4.31 g/L biyokütle elde edilmiştir. *C. echinulata* 480 saatlik fermentasyon sonunda % 49 yağ içeren 8.9 g/L biyokütle üretmiştir. Ürettiği yağın GLA konsantrasyonu ise % 16.4'tür<sup>(5,11,29,42)</sup>.

## SONUÇ ve TARTIŞMA

Mikrobiyal biyokütle üretiminin amaçları, artan gıda talebini karşılamak ve çevre kirliliğine yol açabilen substratları ekonomik değeri olan ürünlere dönüştürmektir. Bu kapsamda lipid biyoteknolojisi; hayvansal, bitkisel ve mikrobiyal kaynaklardan yağ eldesi ve yağların modifikasyonu olmak üzere başlıca iki alandan oluşmaktadır.

Dünya yağ gereksiniminin %80'i tarımsal ürünlerden, geri kalanı ise hayvansal kaynaklardan ve su ürünlerinden elde edilmektedir. Mikroorganizmalardan lipid eldesi hayvansal ve bitkisel kaynaklara alternatif olarak geliştirilmektedir.

Mikroorganizmalardan lipid üretimi test kültürü, sıcaklık, besi ortamı, inkübasyon süresi gibi faktörlerden etkilenir. Besi ortamının mikroorganizma tarafından kullanılabilirliği veya mikroorganizma özellikleri lipid üretimini etkiler.

SCO fermentasyonunda üretim süresi 48 saat ile 480 saat arasındadır. En yüksek yağ verimi 300 saat gibi uzun süren fermentasyonlar sonucu elde edilmektedir. *C. echinulata*'nın glukozca zengin ortamda büyümesiyle, en yüksek yağ ve GLA verimi 480 saat inkübasyon sonrasında elde edilmiştir. Uzun fermentasyon süresi N kısıtlamasına bağlıdır, çünkü N yetersizliğinde C kaynağının mikroorganizma tarafından kullanımını azalır. Bu da fermentasyon süresini uzatır ve maliyeti artırmaktadır. Ancak mikroorganizmaların iyi havalandırılmalı biyoreaktör içinde yetiştirilmesi fermentasyon süresini kısaltabilir.

**Tablo 2. Çeşitli bitkilerden ve mikroalglerden yıllık 1 hektarda üretilen yağ miktarı.**

Yağ kaynağı	Yağ miktarı (galon.yıl/hektar)
Mısır	44.48
Soya	118.61
Aspur	205.1
Ayçiçeği	252
Kolza Tohumu	313.82
Palm	1569.1
Mikroalg	12355-37065



Bitki yağlarının biyodizel üretimi için kullanılması ile Avrupa’da yağ bitkilerinin fiyatı artmıştır. Ekilebilir toprakların büyük kısmının yağ bitkileri tarımına ayrılması bu alanlarda biyolojik çeşitliliği tehdit etmektedir. Bu durum biyodizel üretimi için bitkisel yağların kullanımı yerine SCO’nun kullanımı çalışmalarına olan ilgiyi artırmıştır. SCO biyodizel ürününe transesterifikasyonu sağlanabilir. Bu durumda SCO’nun ekstraksiyonu ve yüksek saflıkta eldesine gereksinim duyulmaz ve maliyet büyük ölçüde azalır. Çeşitli bitkilerden ve mikroalglerden üretilen yağ miktarları incelendiğinde mikroalglerden yüksek miktarda yağ elde edilebildiği görülmektedir (Tablo 2).

Yapılan araştırmalar incelendiğinde; çalışılan mikroorganizmalar, karbon ve azot kaynakları, kültür süresi, üretilen biyokütle ve SCO ile ilgili Tablo 3 oluşturulabilir.

Mikroorganizmalardan lipid üretimi ekstraksi-

yon işleminin de etkisiyle pahalı bir proses olduğundan, yüksek miktarda lipid içeren ve değerli yağ asitlerince zengin yeni suşların incelenmesi bu yöntemin uygulanabilirliği ve geleneksel kaynaklardan yağ eldesine alternatif oluşturulması açısından önem taşımaktadır. Ancak bu parametreler her zaman bir arada olmayabilir. Örnek olarak *M. circinelloides*’den elde edilen lipidin veriminin düşük olmasına karşılık GLA içeriğinin yüksek olması verilebilir.

SCO üretim maliyeti bitki yağlarının maliyetinden çok daha yüksektir. SCO biyoprosesi substrat olarak atıkların kullanılmasıyla dengelenebilir. Çünkü bu atıklar substrat olarak değerlendirilmediği takdirde çevresel sorunlara yol açabilir. Mikroorganizmalardan yağ eldesi beslenme ve sağlık açısından önemli olan PUFA’nın üretimi açısından önemlidir. Bu yüzden ucuz karbon kaynakları üzerinde, farklı kültürlerin ve farklı besi ortamlarında lipid ve değerli yağ asitleri üretimi açısından incelenmesi sürdürülmelidir.

**Tablo 3. Farklı kültür koşullarında mikroorganizmaların sitoplazmik yağ sentezi.**

Mikroorganizma	Biyokütle (g/L)	SCO (g/L)	Sıcaklık (°C)	Kültür Süresi (Saat)	pH	C Kaynağı	N Kaynağı	Kaynak
<i>Aspergillus oryzae</i> A-4	1.74			48		Mikrokristal selüloz		27
	3.12			96		Mikrokristal selüloz		27
	4.3	0.8	30	144	5.5	Mikrokristal selüloz	Maya ekstraktı+(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	20, 27
	6.7	1.7	30	144	6.0	Buğday samanı	(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	20, 27
<i>Aspergillus niger</i> IICTGSVMLI	13.6	6.3	30	48	5.0	Glukoz	Pepton+Maya ekstraktı	20, 28
<i>Aspergillus niger</i> LFMB	5.4	3.1	28	96	4.8 6.0	Ham glukoz	Maya ekstraktı+(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	20, 29
<i>Aspergillus niger</i> NRRL 364	8.2	3.4	28	163	4.8 6.0	Ham glukoz	Maya ekstraktı+(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	20, 29
<i>Candida oleophila</i> ATCC 20177	9.4	1.4	28	91	5.0 6.0	Ham gliserol	Maya ekstraktı+(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	20, 30
<i>Candida boidinii</i> ATCC 32195	6.1	0.1	28	111	5.0 6.0	Ham gliserol	Maya ekstraktı+(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	20, 30
<i>Candida pulcherrima</i> LFMB 1	11.0	0.1	28	140	5.0 6.0	Ham gliserol	Maya ekstraktı+(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	20, 30
<i>Cryptococcus curvatus</i> ATCC 20509	15.5	9.9	30	72		Sodyum hidrolizat, küspe	Pepton+Maya ekstraktı	20, 31
	168	126	30	192	7.0	Hidrojen üretim atığı+asetik asit	Maya ekstraktı	20, 32
	31.2	13.9	28	288	5.5	Ham gliserol	NH <sub>4</sub> Cl	33
	32.9	17.4	28	288	5.5	Ham gliserol	NH <sub>4</sub> Cl	20

Tablo 3. (devam)...

<i>Cryptococcus curvatus</i> ATCC20509 (devam)	15.5	9.8	30	120	5.5	Sodyum hidrolizat		20, 34
<i>Cryptococcus curvatus</i> ATCC20508	69	33.1	28	134	5.5	Ham gliserol	Hamur mayası+malt ekstraktı	20, 35
<i>Cryptococcus curvatus</i>	13.5	6.9	30	50	6.0	İki adımda Glukoz+asetat	(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	20
	3.9	1.2	28	144	6.0	Gliserol	Maya ekstraktı+(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	20
	12.9	3.9	28	309	5.2 6.0	Glukoz	Maya ekstraktı+(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	20, 36
	8	2.2	28	380	5.0 6.0	Glukoz	(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	20, 37
	9.2	3.2	28	410	5.0 6.0	Glukoz	(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	20, 37
	24.8	7.8	28	312		Glukoz	Domates hidrolizat atığı	20
	13.5	3.8	28	456	5.0 6.0	Nişasta	(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	20, 37
<i>Cunninghamella echinulata</i> ATHUM 4411	4.1	0.5	28	180	5.0 6.0	Pektin	(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	20, 37
	16.7	3.6	28	405	5.2 6.0	Fruktoz	Maya ekstraktı+(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	20, 36
	19.6	3.1	28	376	5.2 6.0	Sakkaroz	Maya ekstraktı+(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	20
	4.3	1.6	28	135	5.0 6.0	Ham gliserol	Maya ekstraktı+(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	20, 30
	17.6	6.7	28	120		Glukoz	Domates hidrolizat atığı	20
	12.1	3.8	28	356	5.2 6.0	Pekmez	Maya ekstraktı+(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	20, 36
<i>Lipomyces starkeyi</i> DSM 70295	13.3	3.7	30	220	5.0	Glukoz	Maya ekstraktı+(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	20
	9.3	6.7	30	220	5.0	Glukoz	Atuk su	20
<i>Lipomyces starkeyi</i> AS 2.1560	31.5	17.3	30	144	5.8	Sellobioz+ksiloz	Pepton+Maya ekstraktı	20, 36
	13.2	9.9	28	237	5.2 6.0	Glukoz	Maya ekstraktı+(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	20, 36
	9.4	3.4	28	80 ± 10	5.0 6.0	Glukoz	(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	20, 37
	10.9	5.2	28	80 ± 10	5.0 6.0	Glukoz	(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	20, 37
	12.1	7.4	28	405	5.2 6.0	Fruktoz	Maya ekstraktı+(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	20, 36
	5.2	0.5	28	309	5.2 6.0	Sakkaroz	Maya ekstraktı+(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	20, 36
	9.5	5.1	28	150	5.2 6.0	Pekmez	Maya ekstraktı+(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	20, 36
<i>Mortierella isabellina</i> ATHUM 2935	5.6	3.6	28	258	6.0 6.4	Pirinç kabuğu hidrolizatı		20
	10.4	3.7	28	160	5.0 6.0	Nişasta	(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	33, 37
	8.4	2	28	180	5.0 6.0	Pektin	(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	20, 37

Tablo 3. (devam)...

	9.5	3.5	28	190	5.0	Laktöz	(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	20, 37
<i>Mortierella isabellina</i> ATHUM 2935 (devam)		3.6	28	192	6.0 6.0	Kabuklu tatlı sorgum	Maya ekstraktı+(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	20
	35.9	18.1	28	250	5.5 5.8	Glukoz	Maya ekstraktı+(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	20
<i>Mortierella isabellina</i> MUCL 1430	5.6	1.9	28	168	5.0 6.0	Ham gliserol	Maya ekstraktı+(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	20
<i>Mortierella ramanniana</i> var. <i>ramanniana</i>			20	240	5.0	Dekstroz, fruktoz, gliserol, malt ekstraktı	Maya ekstraktı	21
<i>Mortierella ramanniana</i> MUCL 9.235	7.3	2.7	28	216	5.0 6.0	Ham gliserol	Maya ekstraktı+(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	20
	7.2	3.2	28	144	6.0	Gliserol	Maya ekstraktı+(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	20
<i>Mortierella alpina</i> M6	37	14.2	25	192	5.5	Glukoz	Nitrat	20
<i>Microsphaeropsis</i> sp	8.0	2.6	30	164	6.0	Hemiselüloz	Maya ekstraktı	20
<i>Mucor cinelloides</i> f. <i>lusitanicus</i> CBS 277.49	20	9.2	37	120	6.0	Stillage+Glukoz (Sabit faz olarak 2 gün)		20
<i>Mucor</i> sp LGAM 365	1.6	0.3	28	144	6.0	Gliserol	Maya ekstraktı+(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	20
<i>Mucor</i> sp LGAM 365	5.3	1.0	28	237	5.0 6.0	Ham gliserol	Maya ekstraktı+(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	20, 30
<i>Phaffia rhodozyma</i> NRRL-Y-10921	7.8	3.1	28	144	5.5	Glukoz	Maya ekstraktı	20
<i>Rhizopus oryzae</i> CCT7560			30	120		Pirinç kepeği		20
<i>Rhodotorula glutinis</i> ATCC 204091	24.4	9.0	35	48	6.0	Gliserol	Maya ekstraktı +NH <sub>4</sub> Cl	20
<i>Rhodotorula glutinis</i> ATCC 15125	13.6	5.3	30	233	5.5	Glukoz+ksiloz +galaktoz +arabinoz +mannoz	Maya ekstraktı+(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	20
<i>Rhodoturola glutinis</i> DM28	2.5		30	24	6.0	Salamura turp		20
<i>Rhodoturola glutinis</i> TISTR 5159	10.1	6.1	30	72	6.0	Ham gliserol	(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	20
<i>Rhodotorula graminis</i>	15.1	7.9	30	144	6.0	Glukoz	Maya ekstraktı	20
<i>Rhodoturola mucilaginos</i> TJY15a	14.8	7.2	28	72		İnulin hidrolizat	Maya ekstraktı+(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	20
<i>Rhodoturola</i> sp LFMB 22	14.4	7.0	28	72		Yerelması yumru ekstraktı	(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	20, 30
	19.5	10.2	30	108		Yerelması yumru ekstraktı	(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	20, 30
<i>Rhodoturola</i> sp LFMB 6	8.0	1.8	28	168	5.0 6.0	Ham gliserol	Maya ekstraktı+ (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	20, 30
	6.6	0.2	28	150	5.0 6.0	Ham gliserol	Maya ekstraktı+(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	20, 30
<i>Rhodospiridium toruloides</i> Y4	80.3	52.5	30	120		Glukoz	Maya ekstraktı	20
<i>Rhodospiridium toruloides</i> 21167	22	14	28	192		Manyok nişasta hidrolizati	Maya ekstraktı+(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	20
<i>Rhodospiridium toruloides</i> AS2. 1389	26.7	18.6	30	160	6.0	Ham gliserol	Maya ekstraktı+(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	20
<i>Sporobolomyces roseus</i>	5.7	2.2	14			Glukoz	Pepton+Maya ekstraktı	20
<i>Thamnidium elegans</i> CCF-1465	2.5	0.3	28	144	6.0	Gliserol	Maya ekstraktı+(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	20
<i>Trichosporon fermentans</i>	17.95	7.45	30	68	5.5	Gliserol	Glukoz+ Pepton+Maya ekstraktı	38, 33, 39

Tablo 3. (devam)...

<i>Yarrowia lipolytica</i> Po1g	6.8	2.9	28	271	5.0 6.0	Ham gliserol	Maya ekstraktı+(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	20, 30
	11.4	6.7	26	96		Şeker kamışı hidrolizatı	Pepton	20, 40
<i>Yarrowia lipolytica</i> LGAM S(7)1	14.5	0.8	28	72	5.0 6.0	Glukoz	Maya ekstraktı	20, 41
	4.6	0.9	28	50	6.0	Ham gliserol	Maya ekstraktı+(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	20
<i>Zygorhynchus moelleri</i> MUCL 1430	8.1	3.5	28	45.627	6.0	Ham gliserol	Maya ekstraktı+(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	20
<i>Zygorhynchus moelleri</i> MUCL 1430	0.7	0.2	28	144	6.0	Gliserol	Maya ekstraktı+(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	20
	3.7	1.6	28	192	5.0 6.0	Ham gliserol	Maya ekstraktı+(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	20, 30
<i>Zygosaccharomyces rouxii</i> LFMB3	5.5	0.7	28	168	5.0 6.0	Ham gliserol	Maya ekstraktı+(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	20, 30

## KAYNAKLAR

- Gouda MK, Omar SH, Aouad LM.** Single cell oil production by *Gordonia* sp. DG using agro-industrial wastes. *World J Microbiol Biotechnol* 2008; 24:1703-11.  
<http://dx.doi.org/10.1007/s11274-008-9664-z>
- Akpınar-Bayzıt A, Özcan Yılsay T.** Peynir altı suyundan mikrobiyal yağ üretimi. *Akademik Gıda* 2004; 10:15-7.
- Ratledge C, Dawson PSS, Rattray J.** Biotechnology for the oils and fats industry. American Oil Chemists' Society 1984.
- Huang C, Chen XF, Xiong L, Chen XD, Ma LL, Chen Y.** Single cell oil production from low-cost substrates: The possibility and potential of its industrialization. *Biotechnol Adv* 2013; 31:129-39.  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.biotechadv.2012.08.010>
- Papanikolaou S, Aggelis G.** Lipids of oleaginous yeasts. Part I: Biochemistry and biotechnology of single cell oil. *Eur J Lipid Sci Technol* 2011; 113:1031-51.  
<http://dx.doi.org/10.1002/ejlt.201100014>
- Stredansky M, Conti E, Stredanska S, Zanetti F.**  $\gamma$ -Linolenic acid production with *Thamnidium elegans* by solid-state fermentation on apple pomace. *Biosour Technol* 2000; 73:41-5.  
[http://dx.doi.org/10.1016/S0960-8524\(99\)00132-7](http://dx.doi.org/10.1016/S0960-8524(99)00132-7)
- Univercity Of Maryland Medical Center. 10.04.2015 [<http://umm.edu/health/medical/altmed/supplement/gammalinolenic-acid>].
- Dönmez G, Karatay ES.** Maya ve Fungus Lipidlerinin Soxhlet Sistemi ile Ekstraksiyonu. Ankara: Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri. 2011.
- Zhao CH, Zhang T, Li M, Chi ZM.** Single cell oil production from hydrolysates of inulin and extract of tubers of Jerusalem artichoke by *Rhodotorula mucilaginosa* TJY15a. *Process Biochem* 2010; 45:1121-6.  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.procbio.2010.04.002>
- Dizge N, Canlı O, Karpuzcu M.** Biyodizel Kullanımının Çevre İçin Önemi. III. Yenilenebilir Enerji Kaynakları Sempozyumu ve Sergisi. Mersin, 2005.
- Aytuna H.** Katı Faz Fermentasyon Yöntemiyle Küflerden Lipid Üretimi. [Yüksek Lisans] İstanbul: İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. 2004.
- Allen EE, Facciotti D, Bartlett DH.** Monounsaturated but not polyunsaturated fatty acids are required for growth of the deep-sea bacterium *Photobacterium profundum* SS9 at high pressure and low temperature. *Appl Environ Microbiol* 1999; 65:1710-20.
- Denli Y, Tekin A.** Oil production and microorganisms. *Gıda* 2000; 25:265-70.
- Fakas S, Bellou S, Makri A, Aggelis G.** Single cell oil and gamma-linolenic acid production by *Thamnidium elegans* grown on raw glycerol. In: Microbial Conversions of Raw Glycerol. Nova Science Publishers. New York. 2009; 85-96.
- Papanikolaou S, Komaitis S, Aggelis G.** Single cell oil (SCO) production by *Mortierella isabellina* grown on high-sugar content media. *Bioresour Technol* 2004; 95:287-91.  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2004.02.016>
- Martins DA, Custódio L, Barreira L, et al.** Alternative sources of n-3 long-chain polyunsaturated fatty acids in marine microalgae. *Mar Drugs* 2013; 11:2259-81.  
<http://dx.doi.org/10.3390/md11072259>
- Volkman JK.** Sterols in microorganisms. *Appl Microbiol Biotechnol* 2003; 60:495-506.  
<http://dx.doi.org/10.1007/s00253-002-1172-8>
- Peng X, Chen H.** Single cell oil production in solid-state fermentation by *Microsphaeropsis* sp. from steam-exploded wheat straw mixed with wheat bran. *Bioresour Technol* 2008; 99:3885-9.  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2007.08.015>
- Amaretti A, Raimondi S, Rossi M.** Production of single cell oils from glycerol by oleaginous yeasts. *J Biotechnol* 2010; 150 (Suppl):S389.  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.jbiotec.2010.09.495>
- Donot F, Fontana A, Baccou JC, Strub C, Schorr-Galindo S.** Single cell oils SCOs from oleaginous yeasts and moulds: Production and genetics. *Biomass Bioenerg* 2014; 68:135-50.  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.biombioe.2014.06.016>
- Dyal SD, Bouzidi L, Narine SS.** Maximizing the production of  $\epsilon$ -linolenic acid in *Mortierella ramanniana* var. *ramanniana* as a function of pH, temperature and carbon source, nitrogen source, metal ions and oil supplementation. *Food Res Int* 2005; 38:815-29.  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2005.04.002>
- Stepu IR, Garay LA, Sestric R, et al.** Oleaginous yeasts for biodiesel: Current and future trends in biology and production. *Biotechnol Adv* 2014; 32:1336-60.

- <http://dx.doi.org/10.1016/j.biotechadv.2014.08.003>
23. **Bajpai P, Bajpai PK.** Eicosapentaenoic acid (EPA) production from microorganisms: a review. *J Biotechnol* 1993; 30:161-83.  
[http://dx.doi.org/10.1016/0168-1656\(93\)90111-Y](http://dx.doi.org/10.1016/0168-1656(93)90111-Y)
  24. **Certik M, Shimizu S.** Biosynthesis and regulation of microbial polyunsaturated fatty acid production. *J Biosci Bioeng* 1999; 87:1-14.  
[http://dx.doi.org/10.1016/S1389-1723\(99\)80001-2](http://dx.doi.org/10.1016/S1389-1723(99)80001-2)
  25. **Ayben K.** Uçucu yağ elde etme yöntemleri. *Bartın Orman Fakültesi Dergisi* 2008; 13:37-45.
  26. **Cao Y, Cao Y, Zhao M.** Biotechnological production of eicosapentaenoic acid: From a metabolic engineering point of view. *Process Biochem* 2012; 47:1320-6.  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.procbio.2012.05.011>
  27. **Lin H, Cheng W, Ding HT, Chen XJ, Zhou QF, Zhao YH.** Direct microbial conversion of wheat straw into lipid by a cellulolytic fungus of *Aspergillus oryzae* A-4 in solid-state fermentation. *Bioresour Technol* 2010; 101:7556-62.  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2010.04.027>
  28. **Venkata Subhash G, Venkata Mohan S.** Biodiesel production from isolated oleaginous fungi *Aspergillus* sp. using corncob waste liquor as a substrate. *Bioresour Technol* 2011; 102:9286-90.  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2011.06.084>
  29. **André A, Diamantopoulou P, Philippoussis A, Sarris D, Komaitis M, Papanikolaou S.** Biotechnological conversions of biodiesel derived waste glycerol into added-value compounds by higher fungi: production of biomass, single cell oil and oxalic acid. *Ind Crops Prod* 2010; 31:407-16.  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2009.12.011>
  30. **Chatzifragkou A, Makri A, Belka A, et al.** Biotechnological conversions of biodiesel derived waste glycerol by yeast and fungal species. *Energy* 2011; 36:1097-108.  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.energy.2010.11.040>
  31. **Liang Y, Tang T, Siddarama T, Choudhary R, Umagiliyage AL.** Lipid production from sweet sorghum bagasse through yeast fermentation. *Renew Energy* 2012; 40:130-6.  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.renene.2011.09.035>
  32. **Chi Z, Zheng Y, Ma J, Chen S.** Oleaginous yeast *Cryptococcus curvatus* culture with dark fermentation hydrogen production effluent as feedstock for microbial lipid production. *Int J Hydrogen Energ* 2011; 36:9542-50.  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.ijhydene.2011.04.124>
  33. **Liang Y, Cui Y, Trushenski J, Blackburn JW.** Converting crude glycerol derived from yellow grease to lipids through yeast fermentation. *Bioresour Technol* 2010; 101:7581-6.  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2010.04.061>
  34. **Lian J, Garcia-Perez M, Coates R, Wu H, Chen S.** Yeast fermentation of carboxylic acids obtained from pyrolytic aqueous phases for lipid production. *Bioresour Technol* 2012; 118:177-86.  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2012.05.010>
  35. **Thiru M, Sankh S, Rangaswamy V.** Process for biodiesel production from *Cryptococcus curvatus*. *Bioresour Technol* 2011; 102:10436-40.  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2011.08.102>
  36. **Chatzifragkou A, Fakas S, Galiotou-Panayotou M, Komaitis M, Aggelis G, Papanikolaou S.** Commercial sugars as substrates for lipid accumulation in *Cunninghamella echinulata* and *Mortierella isabellina* fungi. *Eur J Lipid Sci Technol* 2010; 112:1048-57.  
<http://dx.doi.org/10.1002/ejlt.201000027>
  37. **Papanikolaou P, Galiotou-Panayotou M, Fakas S, Komaitis M, Aggelis G.** Lipid production by oleaginous Mucorales cultivated on renewable carbon sources. *Eur J Lipid Sci Technol* 2007; 109:1060-70.  
<http://dx.doi.org/10.1002/ejlt.200700169>
  38. **Shen Q, Lin H, Zhan J, Wang Q, Zhao Y.** Sweetpotato vines hydrolysate induces glycerol to be an effective substrate for lipid production of *Trichosporon fermentans*. *Bioresour Technol* 2013; 136:725-9.  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2013.03.110>
  39. **Zhan J, Lin H, Shen Q, Zhou Q, Zhao Y.** Potential utilization of waste sweetpotato vines hydrolysate as a new source for single cell oils production by *Trichosporon fermentans*. *Bioresour Technol* 2013; 135:622-9.  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2012.08.068>
  40. **Tsigie YA, Wang CY, Troung CT, Ju YH.** Lipid production from *Yarrowia lipolytica* Polg grown in sugarcane bagasse hydrolysate. *Bioresour Technol* 2011; 102:9216-22.  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2011.06.047>
  41. **Papanikolaou S, Aggelis G.** Lipid production by *Yarrowia lipolytica* growing on industrial glycerol in a single-stage continuous culture. *Bioresour Technol* 2002; 82:43-9.  
[http://dx.doi.org/10.1016/S0960-8524\(01\)00149-3](http://dx.doi.org/10.1016/S0960-8524(01)00149-3)
  42. **Gema H, Kavadia A, Dimou D, Tsagou V, Komaitis M, Aggelis G.** Production of  $\gamma$ -linolenic acid by *Cunninghamella echinulata* cultivated on glucose and orange peel. *Appl Microbiol Biotechnol* 2002; 58:303-7.  
<http://dx.doi.org/10.1007/s00253-001-0910-7>