

T.C
ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
DOKTORA TEZİ

TARIMSAL ATIKLAR KULLANILARAK
BİYOAROMA ÜRETİMİ VE OPTİMİZASYONU

Onur GÜNEŞER

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Tezin Sunulduğu Tarih: 25/06/2014

Tez Danışmanı:

Doç. Dr. Yonca KARAGÜL YÜCEER

ÇANAKKALE

Onur GÜNEŞER tarafından Doç.Dr. Yonca KARAGÜL YÜCEER yönetiminde hazırlanan ve **25/06/2014** tarihinde aşağıdaki jüri karşısında sunulan “**Tarımsal Atıklar Kullanılarak Biyoaroma Üretimi ve Optimizasyonu**” başlıklı çalışma, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü **Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı**’nda **DOKTORA TEZİ** olarak oybirliği ile kabul edilmiştir.

JÜRİ

Doç. Dr. Yonca KARAGÜL YÜCEER
Başkan

Prof. Dr. Murat ELİBOL
Üye

Doç. Dr. Emin YILMAZ
Üye

Doç. Dr. Ayşegül KIRCA TOKLUCU
Üye

Doç. Dr. Nurettin ŞAHİNER
Üye

Sıra No:.....

Hazırlanan bu Doktora tezi TÜBİTAK–COST (Proje No:1100903) İkili İşbirlikleri tarafından “COST FA0907-Yeast Flavour Production- New Biocatalysts and Novel Molecular Mechanisms (Bioflavor) Action” kapsamında desteklenmiştir.

İNTİHAL (AŞIRMA) BEYAN SAYFASI

Bu tezde görsel, işitsel ve yazılı biçimde sunulan tüm bilgi ve sonuçların akademik ve etik kurallara uyularak tarafımdan elde edildiğini, tez içinde yer alan ancak bu çalışmaya özgü olmayan tüm sonuç ve bilgileri tezde kaynak göstererek belirttiğimi beyan ederim.

ONUR GÜNEŞER

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim boyunca her konuda yol gösterici olan, bilimsel bir bilginin üretilmesinin ve diğer bilim insanlarıyla paylaşılmasının her aşamasını kendisinden öğrendiğim, dürüst, çalışkan, özverili ve hayal edebilen bir bilim insanı olmanın ne demek olduğunu kendisinde gördüğüm, başarılı ve üretken bir akademik kariyere sahip olmam için her ne koşulda olursa olsun bilimsel birikimini ve tecrübesini sınırsız şekilde sunan danışmanım ve ailemden biri olarak hissettiğim çok değerli hocam Doç. Dr. Yonca KARAGÜL YÜCEER'e

Doktora tez çalışmama verdiği değerli bilimsel katkılarından dolayı, tez izleme komitesi toplantılarında her zaman mütevazı ve yapıcı olan çok değerli hocalarım Prof. Dr. Murat ELİBOL ve Doç. Dr. Emin YILMAZ 'a, tez savunma jüri üyeleri değerli hocalarım Doç. Dr. Ayşegül KIRCA TOKLUCU ve Doç. Dr. Nurettin ŞAHİNER'e

Mikrobiyal kültür temini ve biyoreaktör düzeyindeki üretimlerde bizzat yardımcı olan ve çalışmada her fikrimi paylaşabildiğim çok değerli arkadaşım Dr. Müge İŞLETEN HOŞOĞLU' na, mikrobiyoloji konusunda her ihtiyacım olduğunda yanımda olan ve her koşulda yardımını esirgemeyen çok değerli arkadaşım Dr. Sine Özmen TOĞAY'a, tez çalışmasının laboratuvar aşamasında her daim beraber çalıştığımız çok değerli arkadaşım Aslı DEMİRKOL'a

Çalışmam boyunca duyuşsal analizlerime katılan değerli panelistlerim Yrd. Doç. Dr. Murat ZORBA, Arş.Gör. Buket AYDENİZ, Arş. Gör. Dr. Neşe YILMAZ, Arş. Gör. Murat BERBER'e

Doktora tezimin gerçekleşmesine olanak veren proje (1100903) desteği için Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırmalar Kurumu (TÜBİTAK)'na,

Maddi ve manevi desteklerini hayatımın her evresinde hissettiğim, her zaman yanımda olan, anlayış ve hoşgörülerinden dolayı Annem Kamile GÜNEŞER, Babam Turgut GÜNEŞER ve kardeşim Orkun GÜNEŞER'e

sonsuz teşekkürlerimi sunarım...

Onur GÜNEŞER

Çanakkale, 2014

İTHAF

Bu eserimi, insanı ve doğayı tüm yönleriyle anlamaya çalışan dürüst, çalışkan, merak eden ve üretken tüm bilim insanlarına ithaf ederim.

SİMGELER VE KISALTMALAR

psi	bir inç kareye düşen pound kuvvet miktarı
vvm	dakikada her bir unite sıvı ortam için verilen gaz hacmi
GCO	Gaz kromatografisi olfaktometre
FID	Alev iyonizasyon dedektörü
SPME	Katı faz mikroekstraksiyon
GC-MS	Gaz kromatografisi- kütle spektrometresi
RI	alıkonma indeksi
DVB/Carboxen/PDMS	divinilbenzen/karboksen/polidimetilsiloksan
Kg	kilogram
g	gram
µg	mikrogram
L	Litre
mL	mililitre
µL	mikrolitre
m	metre
mm	milimetre
µm	mikrometre
s	saniye
°C	santrigrat derece
w/v	ağırlık/hacim
dk	dakika
id	iç çap
S.D	standart sapma
S.E	standart hata
\$	dolar
β	beta
α	alfa
δ	delta
γ	gamma

ÖZET

TARIMSAL ATIKLAR KULLANILARAK BİYOAROMA ÜRETİMİ VE OPTİMİZASYONU

Onur GÜNEŞER

Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Doktora Tezi

Danışman: Doç. Dr. Yonca KARAGÜL YÜCEER

25/06/2014, 136

Bu çalışmanın amacı farklı bileşimlere sahip tarımsal atıklardan mikrobiyal fermentasyon yoluyla doğal bazı aroma maddelerinin üretilmesi ve seçilen mikroorganizmaların aroma üretme potansiyellerinin ortaya konmasıdır. Çalışmada *Kluyveromyces* spp., *Debaryomyces* spp., *Candida* spp., *Rhizopus* spp., *Aspergillus* spp., *Pseudomonas* spp., ve *Lactobacillus* spp. gibi seçilmiş bazı mikrobiyal kültürlerin pirina, domates ve biber küspeleri üzerinde gelişimi sağlanmıştır. Aroma bileşenlerinin üretimi ve optimizasyonu için erlen ve biyoreaktör düzeylerinde derin kültür fermentasyonu kullanılmıştır. Oluşan aroma bileşenlerinin belirlenmesi için gaz kromatografisi-olfaktometre tekniği (GCO), miktar belirlemesi için gaz kromatografisi-kütle spektrometresi (GC-MS) kullanılmıştır. Fermentasyon sonucu tarımsal atıklarda oluşan ürünlerin duyuşal algıları ile kimyasal aroma bileşenleri arasındaki ilişkiyi belirlemek amacıyla *SpectrumTM* metodu uygulanmıştır.

Çalışmada kullanılan tarımsal atıklarda seçilmiş olan maya ve küflerin gelişebildikleri ve aroma maddesi üretebildikleri, ancak kullanılan bakterilerin seçilen tarımsal atıklarda gelişmediği belirlenmiştir. Domates ve biber küspesi aroma maddelerinin üretimi konusunda daha uygun besi ortamları olarak tercih edilebilir. Genel olarak maya ve küflerin tarımsal atıklarda gelişimi sonucu esterler, alkoller, asitler, aldehitler ve ketonlar oluşmuştur. Örneğin, pirinada küflerin gelişimi sonucu 1-okten-3-ol ve limonen üretilmiştir. Domates ve biber küspesinde küf gelişimi sonucu yoğunluğu artan bileşenler mantar aroması ile ilişkilendirilmiş (Z)-1,5-oktadien-3-ol, 1-okten-3-ol, (E)-2-oktenal ve

(E)-2-oktenol'dür. Maya fermentasyonu sonucu pirinada mentol, fenil etil alkol ve metilbütirat; domates ve biber küspelerinde izoamil alkol, fenil etil alkol ve fenil etil asetat üretilmiştir. Genel olarak mayalarla fermente edilmiş tarımsal atıkların duyuşal özellikleri 'çiçeğimsi', 'fermente meyve' ve 'tatlı aromatik' olarak tanımlanırken, küflerin geliştiği atıklardaki karakteristik terimler 'fındığimsi' ve 'fermente sebze' dir. Bu çalışma mikrobial kültürler kullanılarak tarımsal atıklardan doğal aroma üretimi konusunda temel ve uygulamalı bilgiler sağlamaktadır.

Anahtar kelimeler: Biyoaroma, mikroorganizma, biyoteknoloji, tarımsal atık

ABSTRACT

PRODUCTION AND OPTIMIZATION OF BIOAROMA BY USING AGROWASTES

Onur GÜNEŞER

Çanakkale Onsekiz Mart University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Doctoral Dissertation in Food Engineering

Advisor : Assoc. Prof. Dr. Yonca KARAGÜL YÜCEER

25/06/2014, 136

The objectives of this study were production of some natural aroma compounds from agricultural wastes which have different compositions by microbial fermentation, and statement of aroma production potentials of the selected microorganisms. In this study, the growth of selected microbial cultures including *Kluyveromyces* spp, *Debaryomyces* spp., *Candida* spp., *Rhizopus* spp., *Aspergillus* spp., *Pseudomonas* spp., and *Lactobacillus* spp. was provided on olive pomace, tomatoes and pepper pomaces. Deep culture fermentations in Erlenmayer and bioreactor conditions were used to produce and to optimise aroma compounds. The resulting aroma compounds were identified by gas chromatography olfactometry (GCO) technique and quantified by using Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS). Moreover, to determine the relationship between sensory perceptions of the products resulting from agricultural wastes by fermentation and chemical aroma compounds, *SpectrumTM* analysis was conducted.

Selected yeasts and molds can grow and produce aroma compounds on agricultural wastes used in this study, but it was determined that bacteria did not grow on these waste materials. Agricultural wastes of tomatoes and pepper pomaces can be preferred as suitable nutrient medium to produce aroma compounds. In general, esters, alcohols, acids, aldehydes and ketones were produced by the growth of yeasts and molds on agrowastes. For example, 1-octen-3-ol and limonene were produced by the growth of molds on olive pomace. Aroma compounds which had higher intensities in tomatoes and pepper pomaces were (Z)-1,5-octadiene-3-ol, 1-octen-3-ol, (E)-2-octenal and (E)-2-oktenol associated with

mushroom aroma note. Yeast fermentation resulted in production of menthol , phenyl ethyl alcohol and methyl butyrate in olive pomace; isoamyl alcohol , phenyl ethyl alcohol and phenyl ethyl acetate in tomato and pepper pomaces. In general, sensory descriptors of agricultural wastes fermented by yeasts were ‘floral’, ‘fermented fruit’ and ‘sweet aromatic’, while characteristic terms for wastes fermented by molds were ‘nutty’ and ‘fermented vegetable’. This study provides basic and applied knowledge on natural flavor production from agricultural waste using microbial cultures.

Key words: Bioaroma, microorganism, biotechnology, agrowaste

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
İNTİHAL (AŞIRMA) BEYAN SAYFASI	iii
SİMGELER VE KISALTMALAR	vi
ÖZET	vii
ABSTRACT.....	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	ix
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	x
BÖLÜM 1-GİRİŞ.....	1
BÖLÜM 2-ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....	5
BÖLÜM 3-MATERYAL VE YÖNTEM	22
3.1. Tarımsal Atıklar.....	22
3.2. Mikrobiyal Kültürler.....	22
3.3. Kullanılan Cihazlar	22
3.4. Kullanılan Kimyasal Malzemeler ve Mikrobiyal Besiyerleri	22
3.5. Yöntem	24
3.5.1. Tarımsal atıkların genel bileşiminin belirlenmesi	23
3.5.2. Saf kültürlerden hücre/spor süspansiyonlarının hazırlanması	23
3.5.3. Atıkların erlen düzeyinde fermentasyon için hazırlanması	25
3.5.4. Atıkların biyoreaktör düzeyinde fermentasyon için hazırlanması	26
3.5.5. Mikroorganizmaların gelişiminin izlenmesi.....	26
3.5.6. Mikroorganizmaların spesifik üreme hızı (μ) ve ikilenme sürelerinin (t_d) hesaplanması.....	26
3.5.7. Bakteri çalışmaları için tarımsal atıklara uygulanan asit ve enzim uygulamaları... ..	27
3.5.8. Bazı mikroorganizmalar için adaptasyon çalışmasının yapılması	28
3.5.9. Fermente atıklarda oluşan uçucu bileşenlerin ekstraksiyonu.....	28
3.5.10. Fermente atıklarda oluşan uçucu bileşenlerin tanımlanması ve miktarının belirlenmesi.	29
3.5.11. Aroma aktif bileşenlerin gaz kromatografisi-olfaktometre ile belirlenmesi.....	31
3.5.12. Fermente atıklara uygulanan duyu analizler	31
3.5.13. İstatistiksel analizler	33
3.5.14. Çalışmada takip edilen basamaklar.....	33

BÖLÜM 4-ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA	35
4.1. Tarımsal Atıkların Genel Bileşimi.....	35
4.2. Tarımsal Atıklarda Yapılan Ön Denemeler	36
4.3. <i>C. tropicalis</i> ve <i>T. delbrueckii</i> Kullanılarak Pirinada Yapılan Çalışmalar	37
4.3.1. <i>C. tropicalis</i> ve <i>T. delbrueckii</i> 'nin pirinadaki mikrobiyal gelişimlerinin incelenmesi.....	37
4.3.2. <i>C. tropicalis</i> ve <i>T. delbrueckii</i> 'nin pirinada ürettiği aroma maddelerinin incelenmesi.....	41
4.3.3. <i>C. tropicalis</i> ve <i>T. delbrueckii</i> ile fermente edilmiş pirinanın duyuşal özellikleri..	46
4.4. <i>R. oryzae</i> ve <i>T. atroviride</i> Kullanılarak Pirinada Yapılan Çalışmalar	48
4.4.1. <i>R. oryzae</i> ve <i>T. atroviride</i> 'nin pirinadaki mikrobiyal gelişimlerinin incelenmesi...	48
4.4.2. <i>R. oryzae</i> ve <i>T. atroviride</i> 'nin pirinada ürettiği aroma maddelerinin incelenmesi..	51
4.4.3. <i>T. atroviride</i> ve <i>R. oryzae</i> ile fermente edilmiş pirinanın duyuşal özellikleri	59
4.5. Pirinada Bakteri Fermentasyonu ile Gerçekleştirilen Çalışmalar	60
4.6. <i>K. marxianus</i> ve <i>D. hansenii</i> Kullanılarak Domates Küşesinde Yapılan Çalışmalar	61
4.6.1. <i>K. marxianus</i> ve <i>D. hansenii</i> 'nin domates küşesinde mikrobiyal gelişimlerinin incelenmesi	61
4.6.2. <i>K. marxianus</i> ve <i>D. hansenii</i> 'nin domates küşesinde ürettiği aroma maddelerinin incelenmesi	64
4.6.3. <i>K. marxianus</i> ve <i>D. hansenii</i> ile fermente edilmiş domates küşesinin duyuşal özellikleri.....	70
4.7. <i>A. sojae</i> ve <i>T. atroviride</i> Kullanılarak Domates Küşesinde Yapılan Çalışmalar	73
4.7.1. <i>A. sojae</i> ve <i>T. atroviride</i> 'nin domates küşesinde mikrobiyal gelişimlerin incelenmesi	73
4.7.2. <i>A. sojae</i> ve <i>T. atroviride</i> 'nin domates küşesinde ürettiği aroma maddelerinin incelenmesi	75
4.7.3. <i>A. sojae</i> ve <i>T. atroviride</i> ile fermente edilmiş domates küşenin duyuşal özellikleri.....	82
4.8. Domates Küşesinde Bakteri Fermentasyonu ile Gerçekleştirilen Çalışmalar.....	84
4.9. <i>K. marxianus</i> ve <i>D. hansenii</i> Kullanılarak Biber Küşesinde Yapılan Çalışmalar	87

4.9.1. <i>K. marxianus</i> ve <i>D. hansenii</i> 'nin biber küspesinde mikrobiyal gelişimlerinin incelenmesi	87
4.9.2. <i>K. marxianus</i> ve <i>D. hansenii</i> 'nin biber küspesinde ürettiği aroma maddelerinin incelenmesi	89
4.9.3. <i>K. marxianus</i> ve <i>D. hansenii</i> ile fermente edilmiş biber küspesinin duyuşal özelliklerinin incelenmesi	97
4.10. <i>A. sojæ</i> ve <i>T. atroviride</i> Kullanılarak Biber Küspesinde Yapılan Çalışmalar	99
4.10.1. <i>A. sojæ</i> ve <i>T. atroviride</i> 'nin biber küspesinde mikrobiyal gelişimlerinin incelenmesi	99
4.10.2. <i>A. sojæ</i> ve <i>T. atroviride</i> 'nin biber küspesinde ürettiği aroma maddelerinin incelenmesi	102
4.10.3. <i>A. sojæ</i> ve <i>T. atroviride</i> ile fermente edilmiş biber küspesinin duyuşal özellikleri	109
4.11. Biber Küspesinde Bakteri Fermentasyonu ile Gerçekleştirilen Çalışmalar	111
BÖLÜM 5-SONUÇ VE ÖNERİLER	114
BÖLÜM 6-KAYNAKLAR	120
EKLER	I
EK Çizelge 1	I
EK Şekil 1	II
EK Şekil 2	VI
ÖZGEÇMİŞ	XI

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No

Şekil 3.1.	Saf kültürlerin hücre/spor süspansiyonlarının hazırlanması	25
Şekil 3.2.	Kesikli biyoreaktör denemeleri için kullanılan 5L'lik biyoreaktör.....	27
Şekil 3.3.	Uçuşu bileşenlerin belirlenmesinde kullanılan GCO ve GC-MS sistemi.....	30
Şekil 3.4.	Panelistler tarafından tarımsal atıklarda duyuşal değerlendirme aktivitesi	32
Şekil 3 5.	Çalışmada takip edilen basamaklar	34
Şekil 4.1.	Pirinada biyoreaktör koşullarında <i>C. tropicalis</i> ve <i>T. delbrueckii</i> 'nin gelişimleri	39
Şekil 4.2.	<i>T. delbrueckii</i> ve <i>C.tropicalis</i> ile fermente edilmiş pirinaların bazı duyuşal özelliklerine ait örümcek ağı diyagramı	47
Şekil 4.3.	Pirinada biyoreaktör koşullarında <i>T. atroviride</i> ve <i>R. oryzae</i> 'nin gelişimleri .	49
Şekil 4.4.	<i>T. atroviride</i> ve <i>R. oryzae</i> ile fermente edilmiş pirinaların bazı duyuşal özelliklerine ait örümcek ağı diyagramı	60
Şekil 4.5.	Domates küşpesinde biyoreaktör koşullarında <i>K. marxianus</i> ve <i>D. hansenii</i> 'nin gelişimleri	63
Şekil 4.6.	<i>K. marxianus</i> ve <i>D. hansenii</i> ile fermente edilmiş domates küşpesinin bazı duyuşal özelliklerine ait örümcek ağı diyagramı	72
Şekil 4.7.	Domates küşpesinde biyoreaktör koşullarında <i>A. sojae</i> ve <i>T. atroviride</i> 'nin mikrobiyal gelişimleri.....	74
Şekil 4.8.	<i>A. sojae</i> ve <i>T. atroviride</i> ile fermente edilmiş domates küşpesinin bazı duyuşal özelliklerine ait örümcek ağı diyagramı	83
Şekil 4.9.	Biber küşpesinde biyoreaktör koşullarında <i>K. marxianus</i> ve <i>D. hansenii</i> 'nin gelişimleri	88
Şekil 4.10.	<i>K. marxianus</i> ve <i>D. hansenii</i> ile fermente edilmiş biber küşpesinin bazı duyuşal özelliklerine ait örümcek ağı diyagramı	98
Şekil 4.11.	Biber küşpesinde biyoreaktör koşullarında <i>A. sojae</i> ve <i>T. atroviride</i> 'nin gelişimleri	100
Şekil 4.12.	<i>A. sojae</i> ve <i>T. atroviride</i> ile fermente edilmiş biber küşpesinin bazı duyuşal özelliklerine ait örümcek ağı diyagramı	110

ÇİZELGELER DİZİNİ

Sayfa No

Çizelge 3.1.	Çalışmada kullanılan cihazlar ve özellikleri	23
Çizelge 3 2.	Saf kültürlerin çoğaltılması için kullanılan besiyerleri ve inkübasyon sıcaklık ve süreleri.....	23
Çizelge 4.1.	Tarımsal atıkların genel bileşimi.....	35
Çizelge 4.2.	Pirinada <i>C. tropicalis</i> ve <i>T. delbrueckii</i> 'nin erlen düzeyinde gelişimleri....	37
Çizelge 4.3.	<i>T. delbrueckii</i> ve <i>C.tropicalis</i> ile fermente edilmiş pirinada belirlenen aroma aktif bileşenler	42
Çizelge 4.4.	<i>T. delbrueckii</i> ile fermente edilmiş pirinada GC-MS ile belirlenen bazı aroma maddeleri.....	41
Çizelge 4.5.	<i>C.tropicalis</i> ile fermente edilmiş pirinada GC-MS ile belirlenen bazı aroma maddelerinin miktarı	42
Çizelge 4.6.	Biyoreaktör koşullarında <i>T. delbrueckii</i> ile fermente edilmiş pirinada GC-MS ile belirlenen bazı aroma maddeleri	44
Çizelge 4.7.	Biyoreaktör koşullarında <i>C. tropicalis</i> ile fermente edilmiş pirinada GC-MS belirlenen bazı aroma maddeleri	44
Çizelge 4.8.	<i>T. delbrueckii</i> ve <i>C. tropicalis</i> tarafından pirinada üretilen aroma maddelerinin verimlilikleri.....	45
Çizelge 4.9.	<i>T. delbrueckii</i> ve <i>C.tropicalis</i> ile fermente edilmiş pirinanın duyuşal özellikleri.....	47
Çizelge 4. 10.	Pirinada <i>R. oryzae</i> ve <i>T. atroviride</i> ' nin erlen düzeyinde gelişimleri	48
Çizelge 4.11.	<i>T. atroviride</i> ve <i>R. oryzae</i> ile fermente edilmiş pirinada belirlenen aroma aktif bileşenler	52
Çizelge 4.12.	<i>T. atroviride</i> ile fermente edilmiş pirinada GC-MS ile belirlenen bazı aroma maddeleri.....	53
Çizelge 4.13.	<i>R.oryzae</i> ile fermente edilmiş pirinada GC-MS ile belirlenen bazı aroma maddeleri.....	54
Çizelge 4.14.	Biyoreaktör koşullarında <i>T. atroviride</i> ile fermente edilmiş pirinada GC-MS ile belirlenen bazı aroma maddeleri.....	56
Çizelge 4.15.	Biyoreaktör koşullarında <i>R. oryzae</i> ile fermente edilmiş pirinada GC-MS ile belirlenen bazı aroma maddeleri.....	56

Çizelge 4.16. <i>T. atroviride</i> ve <i>R. oryzae</i> tarafından pirinada üretilen aroma maddelerinin verimlilikleri.....	57
Çizelge 4.17. <i>T. atroviride</i> ve <i>R. oryzae</i> ile fermente edilmiş pirinanın duyuşal özellikleri	59
Çizelge 4.18. Erlen düzeyinde pirinada gelişen <i>Pseudomonas</i> türlerine ait sayım sonuçları	60
Çizelge 4.19. Pirinada bazı bakteri türlerine ait sayım sonuçları	61
Çizelge 4.20. Domates küşesinde <i>K. marxianus</i> ve <i>D. hansenii</i> 'nin erlen düzeyinde gelişimleri.....	62
Çizelge 4.21. <i>K. marxianus</i> ve <i>D. hansenii</i> ile fermente edilmiş domates küşesinde belirlenen aroma aktif bileşenler	65
Çizelge 4.22. <i>K. marxianus</i> ve <i>D. hansenii</i> ile fermente edilmiş domates küşesinde GC-MS ile belirlenen bazı aroma maddeleri.....	66
Çizelge 4.23. Biyoreaktör koşullarında <i>K. marxianus</i> ile fermente edilen domates küşesinde GC-MS ile belirlenen bazı aroma maddeleri	69
Çizelge 4.24. Biyoreaktör koşullarında <i>D. hansenii</i> ile fermente edilen domates küşesinde GC-MS ile belirlenen bazı aroma maddeleri	69
Çizelge 4.25. <i>K. marxianus</i> ve <i>D. hansenii</i> tarafından domates küşesinde üretilen aroma maddelerinin verimlilikleri.....	70
Çizelge 4.26. <i>K. marxianus</i> ve <i>D. hansenii</i> ile fermente edilmiş domates küşesinin duyuşal özellikleri	71
Çizelge 4.27. Domates küşesinde <i>A. sojæe</i> ve <i>T. atroviride</i> 'nin erlen düzeyinde mikrobiyal gelişimleri	73
Çizelge 4.28. <i>A. sojæe</i> ve <i>T. atroviride</i> ile fermente edilmiş domates küşesinde belirlenen aroma aktif bileşenler	76
Çizelge 4.29. <i>A. sojæe</i> ve <i>T. atroviride</i> ile fermente edilmiş domates küşelerinde GC-MS ile belirlenen bazı aroma maddeleri	77
Çizelge 4.30. Biyoreaktör koşullarında <i>T. atroviride</i> ile fermente edilmiş domates küşesinde GC-MS ile belirlenen bazı aroma maddeleri.....	79
Çizelge 4.31. Biyoreaktör koşullarında <i>A. sojæe</i> ile fermente edilmiş domates küşesinde GC-MS ile belirlenen bazı aroma maddeleri.	79

Çizelge 4.32. <i>A. sojae</i> ve <i>T. atroviride</i> tarafından domates küspesinde üretilen aroma maddelerinin verimlilikleri.....	80
Çizelge 4.33. <i>A. sojae</i> ve <i>T. atroviride</i> ile fermente edilmiş domates küspesinin duyuşal özellikleri.....	82
Çizelge 4.34. Domates küspesinde <i>L. buchneri</i> ve <i>Acetobacter</i> spp. erlen düzeyinde gelişimleri.....	84
Çizelge 4.35. <i>L. buchneri</i> ve <i>Acetobacter</i> spp. ile fermente edilmiş domates küspesinde belirlenen aroma aktif bileşenler.....	85
Çizelge 4.36. Domates küspesinde bazı bakterilere ait sayım sonuçları.....	86
Çizelge 4.37. Biber küspesinde <i>K. marxianus</i> ve <i>D. hansenii</i> 'nin erlen düzeyinde gelişimleri.....	87
Çizelge 4.38. <i>K. marxianus</i> ve <i>D. hansenii</i> ile fermente edilmiş biber küspesinde belirlenen aroma aktif bileşenler.....	90
Çizelge 4.39. <i>K. marxianus</i> ve <i>D. hansenii</i> ile fermente edilmiş biber küspesinde belirlenen bazı aroma maddeleri.....	91
Çizelge 4.40. Biyoreaktör koşullarında <i>K. marxianus</i> ile fermente edilmiş biber küspesinde GC-MS ile belirlenen bazı aroma maddeleri.....	93
Çizelge 4.41. Biyoreaktör koşullarında <i>D. hansenii</i> ile fermente edilmiş biber küspesinde GC-MS ile belirlenen bazı aroma maddeleri.....	93
Çizelge 4.42. <i>K. marxianus</i> ve <i>D. hansenii</i> tarafından biber küspesinde üretilen aroma maddelerinin verimlilikleri.....	95
Çizelge 4.43. <i>K. marxianus</i> ve <i>D. hansenii</i> ile fermente edilmiş biber küspesinin duyuşal özellikleri.....	98
Çizelge 4.44. Biber küspesinde <i>A. sojae</i> ve <i>T. atroviride</i> 'nin erlen düzeyinde gelişimleri.....	99
Çizelge 4.45. <i>A. sojae</i> ve <i>T. atroviride</i> ile fermente edilmiş biber küspesinde belirlenen aroma aktif bileşenler.....	103
Çizelge 4.46. <i>A. sojae</i> ve <i>T. atroviride</i> ile fermente edilmiş biber küspesinde GC-MS ile bazı belirlenen aroma maddeleri.....	104
Çizelge 4.47. Biyoreaktör koşullarında <i>T. atroviride</i> ile fermente edilen biber küspesinde üretilen GC-MS ile belirlenen bazı aroma maddeleri.....	106

Çizelge 4.48. Biyoreaktör koşullarında <i>A. sojae</i> ile fermente edilen biber küspesinde üretilen GC-MS ile belirlenen bazı aroma maddeleri	106
Çizelge 4.49. <i>A. sojae</i> ve <i>T. atroviride</i> tarafından biber küspesinde üretilen aroma maddelerinin verimlilikleri.....	107
Çizelge 4.50. <i>A. sojae</i> ve <i>T. atroviride</i> ile fermente edilmiş biber küspesinin duyuşal özellikleri.....	110
Çizelge 4.51. Biber küspesinde <i>L. buchneri</i> ve <i>Acetobacter</i> spp. erlen düzeyinde gelişimleri.....	111
Çizelge 4.52. <i>L. buchneri</i> ve <i>Acetobacter</i> spp. ile fermente edilmiş domates küspesinde belirlenen aroma aktif bileşenler	112
Çizelge 4.53. Biber küspesinde bazı bakterilere ait erlen düzeyinde mikrobiyal gelişimler	113

BÖLÜM 1

GİRİŞ

Gıdaların tüketilmesi ve tercih edilmesi insanın görme, tatma ve koklama gibi duyularının uyarılmasıyla ilgilidir. Görünüş ve yapısal özellikleri ile birlikte gıdaların aroma özellikleri, o gıdanın tercih edilmesinde önemli derecede etkili kalite kriterlerinden biridir (Reineccius, 1994). Bir gıdanın aroması; hammaddenin doğal yapısından ve o gıdanın işlenmesi ve depolanması sırasında uygulanan işlemlerden kaynaklanabildiği gibi, dışarıdan ilave edilen bazı aroma bileşiklerinden de kaynaklanabilmektedir. Bu nedenle aroma maddeleri gıda endüstrisinde çok sık kullanılan gıda katkı maddeleri arasında yer almaktadır (Cabaroğlu ve Yılmaztekin, 2010). Dünyada gıda ve diğer sanayi kolları (örn; parfüm, boya vd.) için üretilen aroma maddelerinin (flavours and fragrances) satışından elde edilen gelirin 2012 yılı itibariyle 22.9 milyar dolar olduğu ve bu gelirin yaklaşık %50' sinden fazlasının gıda aromalarının satışından elde edildiği tahmin edilmektedir. Aroma maddesi üretiminin ve satışının yapıldığı en büyük market Asya-Pasifik ülkeleri olup, bunu Amerika Birleşik Devletleri ve Avrupa Birliği üyesi ülkeler takip etmektedir. Givaudan ve Firmenich (İsviçre), IFF, Sensient Technology ve Mane (ABD), Symrise (Almanya), Takasago ve T. Hasegawa (Japonya), Robertet (Fransa) ve Frutarom (İsrail) aroma üretiminde dünya pazarında yeralan ilk on firmadır. Ülkemizde ise en büyük aroma üreticisi firma Aromsa'dır (Gebze) (Anonim, 2013).

Aroma maddeleri kimyasal olarak, asitler, esterler, alkoller, aldehitler, ketonlar ve laktonlardan oluşabilmektedir. Günümüzde 6.500 tane aroma maddesinin bulunduğu ancak bunlardan yaklaşık 300 kadarının yaygın olarak kullanıldığı ifade edilmektedir (Scragg, 2007). Aroma maddelerinin özellikle kullanıldığı gıda ürünlerini süt ürünleri, alkolsüz içecekler ve soslar oluşturmaktadır (Anonim, 2011 ve 2013; Ziegel, 2007). Birçok aroma maddesi hayvansal (örn: balina yağı, balmumu) ve bitkisel (örn: vanilya bitkisi) kaynaklardan ekstraksiyon, distilasyon veya kimyasal sentez yolları ile elde edilmektedir (Vandamme ve Soetaert, 2002). Amerika Birleşik Devletleri, Avrupa Birliği üyesi ülkeleri ve Türkiye'de hayvansal ve bitkisel kaynaklardan ekstraksiyon, distilasyon, konsantrasyon, kristalizasyon gibi yöntemlerle elde edilen aroma maddeleri "*doğal aroma maddeleri*", kimyasal sentez yoluyla üretilen ve kimyasal yapısı doğal aromalardan farklı olan aroma maddeleri ise "*yapay aroma maddeleri*" olarak adlandırılmaktadır. Ayrıca Amerika Birleşik Devletleri'ndeki yasal düzenlemelerden farklı olarak ülkemizde ve Avrupa Birliği üyesi ülkelerde, kimyasal yolla sentezlenen veya izole edilen, kimyasal yapı olarak doğal

aromalar ile aynı özellikteki aroma maddeleri “doğala özdeş aroma maddeleri” olarak tanımlanmaktadır (Anonim, 1985; 1988; 1997).

Aroma maddelerinin bitkisel ve hayvansal kaynaklardan çok düşük miktarlarda elde edilmesi, hammaddenin çevre koşullarından etkilenmesi ve doğal aroma maddelerinin eldesinde kullanılan ekstraksiyon tekniğinin pahalı olması gibi nedenlerden dolayı piyasada bulunan birçok aroma maddesinin kimyasal sentez yoluyla üretildiği bilinmektedir (Cabaroğlu ve Yılmaztekin, 2010; Gounaris, 2010). Kimyasal sentez yoluyla üretimi en çok yapılan aroma maddelerine örnek olarak “vanilin” verilebilir. Vanilinin kimyasal adı 4-hidroksi-3-metoksibenzaldehit olup, vanilya bitkisinden (vanilya çubukları) ekstraksiyon yoluyla üretilmektedir. Kimyasal yolla üretimi ise, petrokimya hammaddesi olan guaiakol veya kağıt endüstrisi atığı olan siyah likörden öncelikle glikosilat ile vanil mandelik asitin (MVA) sentezlenmesini ve daha sonra bu bileşiğin ileri oksidatif dekarboksilasyonu ile vanilinin (tatlı, vanilya) üretilmesini içermektedir. Kimyasal sentez yoluyla üretilen vanilinin fiyatı yaklaşık 15 \$/kg olurken, doğal vanilyanın fiyatı ise ekstrakt kalitesine bağlı olarak 4000\$/kg olmaktadır (Dignum ve ark., 2001; Lomascolo ve ark., 1999). Kimyasal sentez ile aroma maddelerinin üretiminin, daha kolay ve ucuz olması ekonomik açıdan avantajlı görülebilir. Ancak kimyasal sentez yoluyla gerçekleştirilen üretimlerde; istenmeyen rasemik karışımların veya safsızlıkların oluşması (her iki durumda aroma maddesinin duyu kalitesini olumsuz yönde etkilemektedir), çevreye zararlı üretim proseslerinin var olabilmesi, insanların tükettikleri gıdalarda kimyasal veya sentetik bileşenlerin bulunmasını istememesi (*kemofobi*) kimyasal sentezin dezavantajları olarak önem arz etmektedir. Bu nedenle, söz konusu bu dezavantajlar aroma üreticilerini ve aroma konusunda çalışan bilim insanlarını doğal aroma maddelerinin üretimi için alternatif yollar aramaya yönlendirmiştir (Dastager, 2009; Longo ve Sanroman, 2006; Reineccius, 1994). Doğal aroma maddelerinin biyoteknolojik yollarla üretimi ile ilgili hem endüstriyel hem de akademik çalışmalar son yıllarda büyük bir ivme kazanmıştır (Xu et al., 2007).

Mikrobiyal biyosentez yoluyla özellikle doğal aroma maddeleri (fenil etil alkol, izoamil alkol vd.), organik asitler (laktik asit, sitrik asit vd.), enzimler (lipaz, galoksidaz vd.), gumlar (ksantan gum, ekzopolisakkaritler vd.), biyorenk pigmentlerinin (zeaxanthin,

monascorubramine vd.) üretimi gerçekleştirilebilmektedir. Şuan itibariyle, 50-100 adet kadar aroma maddesinin mikrobiyal yolla üretildiği bildirilmektedir (Scragg, 2007). Söz konusu bu yöntemle yapılan biyoteknolojik üretimlerde çoğunlukla tarımsal atıkların hammadde olarak kullanılması ön plana çıkmaktadır (Vandamme, 2009). Tarımsal atıkların mikroorganizmalar için zengin bir besiyeri olmaları, üretimler için gerekli olan bazı bileşenleri doğal olarak içermeleri (ferrulik asit, yağ asitleri vd.), ucuz ve kolay temin edilebilmeleri gibi nedenlerle biyoproseslerde kullanılmaları ekonomik yönden çok daha avantajlı olmaktadır (Madeiros ve ark., 2001; Neto ve ark., 2004; Haffner ve Tressl, 1996; Christen ve ark., 2000; Vandamme, 2009). Yapılan bir çok çalışmada üzüm küspesi, elma kabuğu, portakal kabuğu, tapyoka küspesi, şeker pancarı küspesi, buğday kepeği, soya fasulyesi küspesi, pirinç kepeği, peynir altı suyu gibi tarımsal atıkların biyoteknolojik üretimlerde kullanılması üzerine yoğunlaşmıştır (Araujo ve ark., 2002; Besson ve ark., 1997; Christen ve ark., 1997; Dastager, 2009; Lalou ve ark., 2013; Pandey et al., 2000; Rossi ve ark., 2009; Urit ve ark., 2011).

Pirina, domates küspesi ve biber küspesi Marmara ve Ege bölgelerimizde önemli miktarlarda açığa çıkan tarımsal atıklardır. Ülkemizde açığa çıkan yıllık pirina miktarı 829.816 ton olup, diğer atıklar için herhangi bir veriye rastlanmamıştır (Başçetinçelik ve ark., 2009; Elibol ve ark., 2008). Pirina, zeytinyağı fabrikalarının bir artığı olup, kalıntı zeytinyağı, su, zeytin çekirdeği ve zeytin pulpundan oluşmaktadır. Zeytin yağı işleme prosesine bağlı olarak 100 kg zeytinden 15-22 kg zeytinyağı, 35-45 kg pirina elde edilmektedir. Pirina ortalama % 6-8 oranında yağ içermektedir (Nas ve ark., 2001). Domates ve biber küspeleri, özellikle salça ve sos üretiminde açığa çıkan kabuk ve çekirdeklerden oluşan atıklardır. Domates kabuğunda yüksek miktarda karotenoid (likopen, β -karoten) bileşikleri ile diğer lipid türevli bileşiklerin olduğu bilinmektedir. Literatürde karotenoidlerin termal, enzimatik ve mikrobiyal parçalanması sonucu *norizoprenoids* olarak adlandırılan aroma maddelerinin oluştuğu bildirilmektedir (Aguedo ve ark., 2000; Pinto, 2009; Del Valle et al., 2006; El-Adawy and Taha, 2001). Biber kabuğunda ise özellikle pirazin grubu aromatik bileşikler bulunmaktadır. Pirazinler fırınlanmış ve kızartılmış gıda ürünlerinin aromasına katkıda bulunmaktadırlar. Pirazinler ayrıca doğal olarak çiğ sebzelerde bulunabilmektedir. Özellikle 2-izobütil-3-metokspirazin yeşil biber aromasını veren en iyi bilinen pirazin bileşiğidir (Herent ve

Colin 1998). Son yıllarda pirazinlerin bakteriyel fermentasyon yoluyla üretimleri de söz konusudur (Adams ve Kimpe 2007).

Yıllık atık miktarları göz önüne alındığında söz konusu tarımsal atıklar doğal aroma maddesi üretiminde hem ucuz hammadde temini açısından hem de üretim tekniğinin kolaylığı açısından değerlendirilebilir. Bu çerçevede, bu çalışmada farklı bileşimlere sahip tarımsal atıklardan mikrobiyal fermentasyon yoluyla doğal bazı aroma maddelerinin üretilmesi ve seçilen bazı mikroorganizmaların aroma üretme potansiyellerinin ortaya konması amaçlanmıştır.

BÖLÜM 2

ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Doğal aroma maddelerinin biyoteknolojik yollarla üretimi 3 farklı yöntemle olabilmektedir. Bunlar; 1) bitki doku kültürü, 2) enzim-kataliz ve 3) mikrobiyal fermentasyon/biyodönüşüm yöntemleriyle doğal aroma maddelerinin üretimidir (Hrazdina, 2006; Krings ve Berger, 1998; Schrader ve ark., 2004). Mikrobiyal fermentasyon/mikrobiyal biyodönüşüm doğal aroma maddelerinin üretiminde kullanılan en yaygın yöntem olup (Harlander, 1994), bitki doku kültürü ve enzim-kataliz yöntemleri ise doğal aroma maddelerinin üretiminde kullanılan fakat çok yaygın olmayan metotlardır (Hrazdina, 2006; Schrader ve ark., 2004).

Bitkisel hücre kültürleri, nutrasotikler gibi yüksek değerli besin ve sağlık ingredientlerinin üretimi için önerilen sistemler olup aroma bileşiklerinin üretimi için 1970'den beri kullanılmaktadır. Temel olarak bu tip biyoteknolojik üretim, bitkisel hücrelerin modifiye edilmiş bir ortamda hızlı bir şekilde çoğaltılarak aroma bileşikleri gibi ikincil metabolitlerin oluşumunu kapsamaktadır. Modifiye kültür ortamlarının doğrudan besin bileşenleri içermesinden dolayı bitki hücreleri, kütlelerini artırmak için fotosentez ile enerji üretimine çok fazla bağlı kalmamaktadırlar. Buna rağmen ilk bitkisel hücre topluluklarının (callus) ortamda oluşturulması zaman alabilmektedir. Bitkisel hücre kültürleri ile aroma maddelerinin üretiminde temel problem, üretilen aroma bileşiği ya da ön maddesi miktarının düşük olması ya da üretilen ikincil metabolitin tek bir bileşenden değil birçok bileşenden oluşmasıdır. Bu nedenle bitkisel doku kültürü tekniğinin sadece biyokimyasal oluşum yolları aydınlatılmış aroma maddelerinin üretiminde kullanılabilmesi söz konusu olmaktadır (Hrazdina, 2006; Davies ve Deroules, 2014). Bu kapsamda yakın zamanda yapılan bir çalışmada (Grover ve ark., 2012) 2,4 diklorfenoksi asetik asit (5 mg L^{-1}), 6-benziladenin (1 mg L^{-1}) ve sakkaroz (30 g L^{-1}) içeren Murashige ve Skoog sentetik ortamında karanlık şartlarda ve pH 5.8'de gelişen *Camellia sinensis* (çay bitkisi) hücre kültürlerinde monoterpeneoid, aldehit ve alkol türevli aroma maddelerinin önemli düzeyde üretildiği belirlenmiştir. Söz konusu aroma maddelerinin α -terpineol (lavanta), nerol (tatlı lime), 2-etilhekzanol (sitrus), benzilalkol (çiçek), benzenasetaldehit (bal), nonanal

(yağımsı), feniletanol (gül) olduğu ifade edilmiştir. Bir başka çalışmada, *Agastache rugosa* Kuntze yaprağı hücre kültürlerinde 2,4 diklorfenoksi asetik asit (1 mg L^{-1}) ve sakkaroz (50 g L^{-1}) içeren Murashige ve Skoog ortamında 1600 lux ışık altında ve pH 5.7'de başta asetoin (krema) olmak üzere, 2,4,5-trimetil-oksazolin, 1,2,4-trimetilbenzen ve 1,3 bütandiol ($222 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$) gibi uçucu bileşiklerin oluştuğu belirlenmiştir. Ancak araştırmacılar, hücre kültürü karakteristik aromasında 2,3-butandion (tereyağı/peynir), (E,Z)-2,6-nonadienal (salatalık/kavun) ve (E,Z)-2,6-nonadienol (salatalık/tatlı) aroma-aktif bileşiklerinin rol oynadığını ve hücre kültürü uçucu profilinin tüm bitkinin uçucu profilinden tamamen farklı olduğunu belirtmişlerdir (Kim ve ark., 2001).

Aroma bileşenlerinin karakteristik özelliklerinin belirlenmesinde enantiyomer veya isomer kavramı önemli bir konudur. Çünkü aynı kimyasal yapıya sahip olan aroma bileşenleri, farklı enantiomerlere ya da bölgesel izomerlere (regioisomerler) sahip olabilmektedirler. Söz konusu enantiyomerler veya izomerler duyuşal açıdan çok farklı özelliklere sahiptirler (Reineccus, 2006). Örneğin; terpinen uçucu bileşeninin alfa izomeri limon aroması ile ilişkilendirilirken, gamma izomer formu benzin ve terepentin yağı aroması ile ilişkilendirilmektedir (Anonim, 2014). Özellikle aroma maddelerinin kimyasal sentezinde, reaksiyon seçiciliğinin zayıf olması, reaksiyon şartlarında arzu edilmeyen farklı izomer ya da enantiyomerlerin oluşması son ürünün doğal olarak kabul görmesini zorlaştırmaktadır. Bu bakımdan enzim-kataliz yöntemleriyle substrata özgü davranan, bölgesel ve enantiomerik seçicilik gösterebilen uygun bir enzimle, yüksek proses etkinliği ve düşük sistem maliyetiyle tek basamakta enantiomerik olarak saf aroma maddelerinin elde edilmesi mümkün olmaktadır. Reaksiyon sonucu oluşan lezzet maddeleri de doğal ürünler olarak kabul edilmektedir. Gıda aromalarının enzim-kataliz sistemleriyle üretiminde özellikle lipazlar, lipoksigenazlar, proteaz/peptidazlar, glukozidazlar, peroksidazlar ve oksidoredüktazların kullanımı yaygındır. Hali hazırda alkol dehidrojenaz, vanilil alkol oksidaz, glutaminaz, siklodekstrin glukanoferaz, seskiterpen sentaz ve flavorzyme® gibi spesifik enzimlerin kullanımı da mevcuttur (Longo ve Sanroman, 2006; Dubal ve ark., 2008).

Enzim-kataliz yöntemleriyle doğal aroma maddelerinin üretimi ile ilgili olarak Wu ve Cadwallader (2002) tarafından yapılan bir çalışmada, et benzeri aroma üretmek için

yağsız soya fasulyesi unu ticari proteolitik enzim olan flavorzyme® ile belli sıcaklık ve pH' larda muamele edilerek pişmiş tavuk ve kırmızı et aromaları üretimi gerçekleştirmişlerdir. Elde edilen hidrolize sebze proteininde yapılan aroma analizleri sonucunda hidrojen sülfid (pişmiş yumurta), methanetiol (lahana), 2-metil-3-furantiol (et), 3-merkaptio-2-pentanon (üre), 2-furanmetanetiol (kahve, sülfür), metional (haşlanmış patates), maltol (yanık şeker) ve furaneolün (yanık şeker) olduğu ve oluşan bu aromaların pişmiş et aroması ile ilişkilendirilebileceği belirtilmiştir. Temino ve ark., (2005) yaptıkları çalışmada *Lactobacillus kefir*'den izole edilmiş ve polivinil alkol ile immobilize edilmiş alkol dehidrogenaz enzimi ile organik hekzan ortamında asetofenondan (acı badem), 2-fenil etil alkol (gül) üretiminin yapılabilmesini göstermişlerdir. Kuo ve ark., (2014) tarafından ise *Candida rugosa*'dan elde edilmiş lipaz poliviniliden florid üzerine immobilize edilmiş ve bu immobilize lipaz kullanılarak transesterifikasyon ile fenil etil asetat (çiçek) üretimi incelenmiştir. Çalışma sonucunda 38 saat reaksiyon süresince 35.85 °C'de ve 3.65:1 alkol:asetat oranında % 95.33 verim ile fenil etil asetat üretiminin gerçekleştirilebileceği belirlenmiştir. Yapılan diğer bir çalışmada ise, *Fusarium solani pisi*'den izole edilmiş kutinaz enzimi ile izooktan organik solvent ortamında elma ve ananas aromaları ile ilişkilendirilen etil butirat, etil valerat ve etil kaproat gibi esterlerin sırasıyla %84, %96 ve %97 verimle üretilebileceği belirlenmiştir (Barrosa ve ark., 2009).

Bu çalışmanın temel konusunu oluşturan mikrobiyal fermentasyon/biyodönüşüm yoluyla aroma maddelerinin üretimi üç farklı yaklaşım ile gerçekleştirilmektedir. Söz konusu yaklaşımlar; 1) katma değeri düşük tarımsal atıkların çeşitli ortam koşullarında farklı mikroorganizma türleriyle kontrollü şekilde mikrobiyal fermentasyona bırakılması, 2) mikroorganizmaların gelişimi için gerekli olan besinsel bileşenleri (karbon, azot, mineral maddeler vd.) içeren sentetik kültür ortamları kullanarak doğal aroma maddelerinin üretimi ve 3) farklı bileşimlere sahip sentetik besiyerlerine aroma maddelerinin ön maddelerinin ilave edilmesi ve bu maddelerinin biyodönüşme uğratılarak aroma maddelerinin üretilmesi olarak sıralanabilir.

Her üç yaklaşımda da ortak olarak kullanılan teknik, katı faz kültür (yüzey kültür) yöntemi veya derin kültür yöntemidir (Cabaroğlu ve Yılmaztekin, 2010). Derin kültür yönteminde sıvı substrat ortamında mikroorganizmaların gelişimi sağlanırken, oluşan

ürünler sıvı ortamdan elde edilmekte ve saflaştırılmaktadır. Fermentasyon için gereken gaz/hava karışımı belli oranda doğrudan steril olarak kültür ortamına verilmektedir. Bu amaçla karıştırma ve havalandırma düzeneğine sahip biyoreaktörler kullanılmaktadır. Ayrıca söz konusu biyoreaktörler pH, çözülmüş oksijen, sıcaklık, köpük sensörleri gibi sensörlere sahip olup, mikrobiyal gelişimin iyi bir şekilde kontrol edilmesi sağlanmaktadır (Cabaroğlu ve Yılmaztekin, 2010; Yeşiladalı ve ark., 2010). Katı faz kültür yönteminde ise mikroorganizmalar çözünmeyen katı veya yarı katı kültür ortamında gelişmektedir. Bu yöntem derin kültür yöntemine göre daha ucuz ve verimi yüksek olduğu için katı veya yarı katı hammaddelerin (örn; tarımsal atıklar) fermentasyonunda ve farklı enzimlerin üretiminde yaygın olarak kullanılmaktadır. Katı faz kültür yönteminde kullanılan materyalin partikül büyüklüğü/yüzey alanı, sıcaklık ve nem miktarı mikrobiyal gelişme ve mikrobiyal aktivitenin kontrol edilmesinde en önemli etkenlerdir. Kültür ortamında sıcaklık artışı, ısı, oksijen ve nem transferinin kontrollünün zor olması, katı faz kültür tekniğinin önemli bir dezavantajı olarak görülmektedir (Couto ve Sanroman, 2006). Biyoreaktör ortamında aroma maddelerinin üretilmesinde kesin olarak reaksiyon koşullarının belirlenmesi önemlidir. Çünkü tüm biyokimyasal reaksiyonlar mikrobiyal enzim temelli olup, fermentasyon ortamındaki mikrobiyal gelişimin optimum koşullarda tutulması ve üretilen aroma maddelerinin spesifik yapılarının üretim şartlarından en az düzeyde etkilenmesi (parçalanma, izomere dönüşme vb.) istenmektedir (Tretzel ve Marx, 2007).

Mikrobiyal fermentasyon/biyodönüşüm yoluyla aroma maddelerinin üretiminde birinci ve en fazla kullanılan yaklaşım incelendiğinde, katma değeri düşük tarımsal atıkların çeşitli ortam koşullarında çoğunlukla farklı türden küf ve mayalarla mikrobiyal fermentasyona bırakılmasını içermektedir. Bu kapsamda yapılan bir çalışmada *Neurospora* spp. ATCC 46892 küfü kullanılarak önceden jelatinize edilmiş pirinç, mısır dövmesi, bira fermentasyon artığı ve fusumadan (buğday kepeği) katı kültür fermentasyonu ile meyve aroması üretimi incelenmiştir (Yamauchi ve ark., 1989). Kullanılan tüm atıklardan 1-2 haftalık fermentasyon sonunda meyve aroması üretiminin gerçekleştiği ve meyve aromasını veren bileşenlerin etil kaproat (meyvemsi), izoamil alkol (muz) ve etil alkol (tatlı) olduğu belirlenmiştir. Çalışmada meyve aromasını veren ana bileşenin etil kaproat

olduğu saptanmıştır. Etil kaproat üretimi için özellikle önceden jelatinize edilmiş pirincin kullanımının diğer atıklardan daha uygun olduğu belirtilmiştir (Yamauchi ve ark.,1989).

Bramorski ve ark., (1998) farklı oranlarda karıştırılan tapyoka küspesi, elma posası, amaranth, soya fasulyesi keki ve soya fasulyesi yağının *Rhizopus oryzae* ile fermente edilmesiyle aroma maddesi üretimini incelemişlerdir Çalışmada *R. oryzae* 'nın amaranth ve mineral tuz solüsyonu içeren ortamda toplam uçucu madde konsantrasyonunun diğer ortamlara göre daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Yapılan tepeboşluğu analizlerinde tüm ortamlarda etil alkolün (tatlı) baskın olduğu (% 80), ancak asetaldehit (yoğurt), 1-propanol (fermente), etil asetat (meyve), etil propiyonat (üzüm), izoamil alkol (muz) gibi fermente ve meyvemsi aroma veren bileşenlerin oluştuğu saptanmıştır. Amaranth içeren ortamda söz konusu bileşenlerin 36-48 saat inkübasyon sonunda maksimum konsantrasyona ulaştığı belirlenmiştir.

Ceratocystis fimbriata CBS 374.83 kullanılarak buğday kepeği, tapyoka küspesi ve şeker pancarından meyvemsi aroma üretiminin incelendiği diğer bir çalışmada (Christen ve ark., 1997), oligo element ilaveli tapyoka küspesi ve sentetik besin elementi ilaveli şeker pancarı küspesi kültür ortamlarında söz konusu mikroorganizmanın toplam uçucu madde üretiminin oligo element ilaveli buğday kepeği içeren kültür ortamına göre daha yüksek olduğu bulunmuştur. Aroma üretimi bakımından tek tek kültür ortamları incelendiğinde buğday kepeği içeren ortama üre ilavesi yapıldığında izoamil asetat (çiçek) ve izoamil alkol (muz) oluştuğu, azot ilavesi yapılmadığında ise asetaldehit (fermente), etil alkol (tatlı), etil asetat (meyve) ve etil propiyonat (çiçek) oluştuğu belirlenmiştir. Aynı ortama lösin ilavesi yapıldığında ise ortamda meydana gelen aroma maddelerinin konsantrasyonunun arttığı gözlenmiştir. Tapyoka küspesi içeren ortama lösin ve valin amino asitlerinin eklenmesiyle muz aromasının daha güçlü ve yüksek konsantrasyonda olduğu tespit edilmiştir. Şeker pancarı içeren ortama azot ilavesi yapılmadığında izoamil alkol veya bu bileşiğin asetat esterlerinin oluşmadığı, ancak oluşan etil asetat (tatlı), etil propiyonat (meyve) ve etil bütirat (tatlı, çiçek) gibi bileşiklerden dolayı meyvemsi aromanın oluştuğu belirlenmiştir. Şeker pancarı içeren ortama lösin ilavesi yapıldığında etil asetat ve 3-metil bütiril asetatın konsantrasyonunun artması ile yoğun bir muz aromasının meydana geldiği belirlenmiştir. Yapılan çalışmada biyoteknolojik yollarla

doğal aroma maddesi üretiminde ortamın bileşiminin önemli rol oynadığı görülmektedir. Bu nedenle biyoteknolojik yollarla aroma üretiminde üretilen uçucu aromatiklerin tüm karakteristiklerinin kolayca kontrol altına alınabileceği görülmektedir.

Yapılan diğer bir çalışmada (Madeiros ve ark., 2003) *C. fimbriata*'nın CBS 374.83 ve CBS 146.53 suşları kullanılarak katı faz fermentasyon tekniği ile kahve bitkisinin posası ve kabuklarından meyve aroması üretimi araştırılmıştır. Çalışmada maksimum toplam uçucu bileşen üretimi ön işlem uygulanmayan kahve bitkisi kabuklarının 48 saat boyunca *C. fimbriata* CBS 374.83 ile fermentasyonu sonucunda elde edilmiştir. Araştırmacılar kahve posasının söz konusu mikroorganizma kullanılarak uçucu bileşen üretimi için uygun olmadığını saptamışlardır. Kahve kabuklarından elde edilen toplam uçucu bileşen konsantrasyonunun %84.7'sini etil asetat (meyve), %7.6'sını etil alkol (tatlı,) ve %2'sini asetaldehit (fermente, yoğurt) oluşturmaktadır. Araştırmacılar, biyoteknolojik yollarla doğal aroma maddesi üretiminde *C. fimbriata* için kahve kabuklarının uygun bir substrat kaynağı olduğunu ifade etmişlerdir.

Soare ve ark., (2000) buhar uygulanmış kahve kabuklarına glikoz, lösin, soya fasulyesi yağı ve özel tuz solüsyonu ilave edilerek oluşturulan kültür ortamında *C. fimbriata*'nın aroma maddesi üretim yeteneğini incelemişlerdir. Kahve kabuklarıyla oluşturulan ortama %20 ve %35 glikoz ilavesi ile yoğun bir ananas aroması elde edildiği saptanmıştır. Çalışmada her iki ortamın toplam uçucu madde miktarları sırasıyla 6.58 mmol g⁻¹ ve 52.4 mmol g⁻¹ olarak belirlenmiştir. Yapılan tepeboşluğu analizlerinde %20 glikoz ilave edilen ortamın toplam uçucu bileşen miktarının %80.5'ini, %35 glikoz ilave edilen ortamın toplam uçucu bileşen miktarının ise %75.4'ünü etil asetatın oluşturduğu, kalan kısmı ise asetaldehit, etil alkol, izopropanol (meyvemsi), etil izobütirat (rom), izobütil asetat (çiçek), izoamil asetat (muz) ve etil 3-hekzanoat (çiçek) gibi bileşiklerin oluşturduğu tespit edilmiştir. Diğer taraftan, kahve kabuklarına lösin ilavesi ile oluşturulan ortamda uçucu bileşenlerin toplam miktarının %58.2 oranında arttığı, ortamda güçlü bir muz aroması meydana geldiği ve bunu da özellikle izoamil asetat ve etil asetatın sağladığı belirtilmiştir. Aynı mikroorganizma türüyle limon küspesinden aroma üretiminin incelendiği diğer bir çalışmada (Rossi ve ark., 2009) ise, limon küspesine %50 soya küspesi, %25 şeker pancarı melası ve mineral tuz solüsyonu eklenmesiyle toplam uçucu

bileşen miktarının arttığı (en yüksek 99.6 $\mu\text{mol L}^{-1} \text{g}^{-1}$) belirlenmiştir. Toplam uçucu bileşenlerin ise asetaldehit, etil alkol (tatlı), etil asetat (meyve), propil asetat (armut), etil izobütirat (çiçek), 2-hekzanon (eterimsi), 2-hekzanol (şarapsı), izoamil asetat ve bilinmeyen bir bileşikten oluştuğu saptanmıştır. Çalışmada özellikle muz aroması veren izoamil asetat miktarının çeşitli çalışmalarda belirtilen üretim miktarlarından 5.5 kat daha fazla olduğu belirlenmiştir.

Christen ve ark. (2000) dört farklı *Rhizopus* küf cinsini tapyoka küspesi, elma posası, soya fasulyesi, amaranth tohumu ve soya fasulyesi yağı gibi tarımsal atıklar ve tarım ürünleri üzerinde geliştirerek doğal aroma maddesi üretimini gerçekleştirmiş ve optimum üretim prosesi için en iyi ortamın hangisi olduğunu belirlemişlerdir. Çalışmada, söz konusu atıklardan üretilen uçucu bileşenlerin *Rhizopus* küf türlerine bağlı olmasından çok kullanılan ortamın bileşiminden önemli derecede etkilendiği bulunmuştur. En çok uçucu bileşen üretiminin amaranth tohumları ve mineral tuz solüsyonu kullanılan ortamda olduğu belirlenmiştir. Ayrıca, çalışmada *Rhizopus* türlerinin ürettiği aroma maddelerinde çok az farklılıkların olduğu ve kullanılan ortamlarda *R. oryzae* ATCC 34612'in ürettiği aroma maddelerinin asetaldehit(fermente), etil alkol(tatlı), 1-propanol (solvent) , etil asetat (meyve), etil propiyonat (ananas) ve izoamil alkol (muz) olduğu saptanmıştır.

Yılmaztekin ve ark. (2008) şeker pancarı melasından *Williopsis saturnus*'un HUT 7087, IAM 12217 ve NCYC 22 suşlarını kullanarak biyoteknolojik yolla izoamil asetat (muz) üretimini araştırmışlardır. Çalışma sonucunda en iyi verimle izoamil asetat üretiminin 25 °C'de anaerobik koşullarda *Williopsis saturnus* HUT 7087 tarafından gerçekleştirildiği bulunmuştur. Üretim miktarı 132 saat fermentasyon sonucunda 20.4 mg izoamil asetat L^{-1} kültür ortamı olarak saptanmıştır. Araştırmacılar şeker pancarı melasının söz konusu aroma maddesi üretimi için ideal bir karbon kaynağı olduğunu belirtmişlerdir. Aynı araştırmacıların yaptıkları benzer bir çalışmada (Yılmaztekin ve ark., 2009) ise şeker üretiminden arta kalan melasa farklı oranlarda fuzel yağı karıştırılarak hazırlanan ortamda *Williopsis saturnus* var. *saturnus* HUT 7087' in izoamil asetat üretimini incelemişlerdir. Melas ortamına yüksek alkollerini içeren fuzel yağının %1 oranında ilave edilmesinin, izoamil asetat üretimini artırdığı belirlenmiştir. Çalışmada 144 saat fermentasyon sonunda fuzel yağı ilave edilmeyen 1 L gelişme ortamından (melas) 87.3 mg izoamil asetat elde

edilirken, melas ortamına %1 fuzel yağı ilave edilmesi ile aynı koşullarda 354.1 mg izoamil asetat elde edildiği yani aroma üretiminin yaklaşık 4 kat arttığı saptanmıştır.

Medeiros ve ark. (2000) yaptıkları bir çalışmada elma posası, tapyoka küspesi, şeker pancarı küspesi, ayçiçeği tohumlarının kabuğu ve palm kabuğunu kullanarak *Kluyveromyces marxianus*'un aroma üretme potansiyelini incelemişler ve özellikle tapyoka küspesi ve palm kabuğunun *K. marxianus* ile fermente edilmesi ile diğer ortamlara göre daha yüksek yoğunlukta meyve aromasının üretildiğini belirtmişlerdir. Çalışmada tepeboşluğu tekniği kullanılarak yapılan gaz kromatografisi analizlerinde tapyoka küspesinde 11 adet, palm kabuğunda ise dokuz adet aroma maddesinin olduğu saptanmıştır. Belirlenen aroma maddeleri asetaldehit (fermente, yoğurt), etil alkol (tatlı), etil asetat (meyve), propil asetat (armut), bütil asetat (eterimsi), etil propiyanat (meyve), etil izobütirat (rom), izoamil alkol (muz) ve iki tane de bilinmeyen bileşen olup, her iki ortamda da etil alkol, asetaldehit ve etil asetatın yüksek konsantrasyonda olduğu saptanmıştır.

Madeiros ve ark. (2001) yaptıkları bir çalışmada dolgulu kolon biyoreaktörde katı faz fermentasyon tekniği ile *K. marxianus* kullanarak tapyoka küspesinden biyoteknolojik yolla aroma maddesi üretim olanağını araştırmışlardır. Çalışma sonucunda $0.06 \text{ L sa}^{-1} \text{ g}^{-1}$ havalandırma hızında toplam uçucu bileşen konsantrasyonunun yüksek olduğu belirlenirken, toplam uçucu bileşenlerin büyük bir kısmının ise etil asetat, etil alkol, ve asetaldehit gibi bileşenlerde olduğu tespit edilmiştir. Diğer taraftan aynı araştırmacılar uçucu bileşenlerin üretiminin mikrobiyal büyüme ile ilişkili olduğunu belirtmişlerdir. Garavaglia ve ark., (2007) tarafından yapılan çalışmada ise, fenil alaninin *K. marxianus* tarafından fenil etil alkole (gül) dönüştürülmesi için kültür ortamı olarak üzüm mayşesi kullanılabileceği belirlenmiştir. Bu amaçla maksimum fenil etil alkol üretim koşullarının, 3 g fenil alanin L^{-1} ilave edilmiş üzüm mayşesinin $37 \text{ }^\circ\text{C}$ de pH 7'de fermentasyonu ile gerçekleştiği bulunmuştur. Diğer taraftan, Manuel Salgado ve ark., (2012) ise şarap üretiminde açığa çıkan üzüm kabuklarının hemiselulozik hidrolizatlarından *Debaryomyces hansenii*'nin ürettiği aroma maddelerini belirlemişlerdir. Buna göre *D. hansenii* NRRL Y-7426 suşunun söz konusu atıktan fenil etil alkol (gül) üretimini yüksek miktarda gerçekleştirdiğini belirlemişlerdir.

Mantzouridou ve Paraskevopoulou (20013) portakal kabuğu ilave edilmiş kültür ortamında *Saccharomyces cerevisiae*'in meyve aroması veren uçucu ester bileşiklerini incelemişlerdir. Çalışmada mikrobiyal basal ortama portakal kabuğu ilavesinin, izoamil asetat, fenil etilasetat (çiçek), etil hekzanoat (meyvemsi), etil oktanoat (tatlı armut), etil dekanoat (brendy) ve etil dodekanoat (çiçek, sabun) üretimini teşvik ettiğini belirlemişlerdir. Lalou ve ark., (2013) tarafından yapılan çalışmada ise asit ile hidrolize edilmiş portakal kabuklarının kültür ortamına ilave edilmesiyle hem kalsiyum alginat ile immobilize edilmiş hem de serbest *S. cerevisiae*'nin ester üretimi incelenmiştir. Çalışma sonucunda immobilize *S. cerevisiae*'nin fenil etilasetat, etil hekzanoat, etil oktanoat, etil dekanoat ve etil dodekanoat üretiminin serbest *S. cerevisiae*'dan daha iyi olduğu belirlenmiştir.

Araujo ve ark. (2002) tarafından yapılan bir çalışmada ise yoğun hindistan cevizi aroması ile ilişkilendirilen 6-pentil- α -piron (6-PP)'un şeker pancarı küspesinden *Trichoderma* spp. kullanılarak katı faz fermentasyonu ile üretilebileceği belirlenmiştir. Şeker pancarı küspesinin katı faz fermentasyon tekniği kullanılarak 5 gün boyunca *Trichoderma* spp. fermentasyon edilmesiyle, ortamda 3 mg g⁻¹ kurumadde konsantrasyonunda 6-PP'nin elde edilebileceği tespit edilmiştir. Söz konusu üretim miktarının literatürde sıvı kültür fermentasyonu ile üretilen miktardan daha yüksek olduğu belirtilmiştir.

Yağ üretimi sonucu açığa çıkan pirina, ayçiçeği yağı pres keki, keten tohumu yağı pres keki ve hint yağı pres kekinde farklı mikroorganizmalar kullanılarak katı fermentasyon tekniği ile dekalakton üretiminin incelendiği bir çalışmada (Laufenberg ve ark., 2004), hint yağı pres kekinden *Moniliella suaveolens* ve *Trichoderma harzianum* fermentasyonu ile γ -dekalakton (şeftali), δ -lakton (tatlı krema) ve 6-pentil- α -piron (hindistan cevizi) üretilebileceği belirlenmiştir. Ayrıca, diğer pres keklerinde söz konusu mikroorganizmaların mikrobiyal olarak geliştiği ama önemli miktarlarda lakton üretimlerinin olmadığı bulunmuştur.

Löser ve ark., (2011) 23 farklı *K. marxianus* suşunu peynir altı suyundan etil asetat üretim potansiyellerini incelemek için kullanmışlardır. Çalışmada her suşun etil asetat ve etil alkol üretme potansiyelinin farklı olduğu belirlenirken, özellikle *K. marxianus* BEL

5637 ve *K. marxianus* DSM 5421 suşlarının, peynir altı suyundan etil asetat üretme potansiyelinin yüksek ve umut verici suşlar olduğunu belirlenmiştir. Yapılan diğer bir çalışmada (Urit ve ark., 2011) *K. marxianus* DSM 5422 kullanılarak 70L'lik biyoreaktörde etil asetat üretiminin modellenmesi yapılmıştır. İfade edilen modelde tüketilen şeker miktarı, oluşan etil asetat miktarı, oluşan biyokütle miktarı, ortalama mikroorganizma solunum hızı gibi değerler farklı peynir altı suyu ortamları için hesaplanmıştır.

Biyoteknolojik yolla doğal aroma maddelerinin üretimi için kullanılan ikinci yaklaşıma ait yapılan çalışmalar incelendiğinde, farklı mikrobiyal besin kaynakları, mineral tuzlar ve fermentasyon koşullarının denenerek aroma maddelerinin üretimlerinin araştırıldığı görülmektedir (Bluemke ve Schrader, 2001; Kalyani ve ark., 2000; Mdaini ve ark., 2006). Mdaini ve ark. (2006) zeytin karasuyundan izole edilen *Geotrichum candidum*'un farklı kültür ortamlarında meyvemsi aroma üretimini incelemiştir. Sentetik olarak hazırlanmış MS ortamında (20 g L⁻¹ glikoz, 1 g L⁻¹ KH₂PO₄, 5 g L⁻¹ (NH₄)₂SO₄, 0.5 g L⁻¹ MgSO₄·7H₂O, ve 3 g L⁻¹ tripton) *G. candidum*'un oluşturduğu etil alkol (tatlı), etil asetat (meyve), 2-metil propil asetat (tatlı, muz), etil bütirat (ananas), etil izovalerat (elma) gibi uçucuların ananas ve elma aroması oluşturduğu hem duyuşal hem de kromatografik olarak belirlenmiştir. Çalışmada özel olarak hazırlanmış ve karbon kaynağı olarak glikoz kullanılan MOG ve MOGE kültür ortamlarında da söz konusu küfün aroma oluşturma özelliği incelenmiştir. Özellikle MOGE ortamında 22 saat inkübasyon sonunda etil asetat (meyve), izoamil alkol (muz), etil bütirat (konyak), 2-etil hekzanoat (ananas) ve izobütanol (viski) üretiminin en yüksek seviyede olduğu ve ortamda meyve aromasının hakim olduğu, 44 saat inkübasyon sonunda ise etil asetat üretiminin maksimum seviyede olduğu belirlenmiştir. MOG ortamında ise aroma maddelerinin oluşumu farklı inkübasyon sürelerinde gerçekleşmiştir. Ayrıca MOGE ortamında oluşmayan benzaldehitin (acı badem aroması) MOG ortamında 1.6 g L⁻¹ düzeyinde olduğu tespit edilmiştir.

Bluemke ve Schrader (2001) biyoreaktör ortamında *Ceratocystis moniliformis*'den aroma maddesi üretimini incelemiştir. Çalışma sonucunda patates dekstroz broth, üre, tiamin, magnezyum sülfat, demir sülfat, kalsiyum klorür ve çinko sülfat tuzlarını içeren sentetik ortamda *C. moniliformis* tarafından çiçek ve meyve aroması veren etil asetat, propil asetat, izobütül asetat, izoamil asetat, sitronellol (çiçek) ve geraniol (çiçek) gibi

aroma maddelerinin üretildiği belirlenmiştir. Yapılan diğer bir çalışmada (Kalyani ve ark., 2000), *T. harzanium*'un patates dekstroz sıvı besiyeri ve patates dekstroz agarda bir lakton olan ve hindistan cevizi aroması ile karakterize edilen 6-pentil- α -pirol ürettiği belirlenmiştir. Benzer şekilde, Keszler ve ark., (2000) sentetik sıvı besiyerinde *T. atroviride* tarafından 19 adet prion, dioksolan ve 2 adet aldehit türevli aroma bileşeninin üretildiğini belirlemişlerdir Ancak, araştırmacılar söz konusu aroma maddelerinin kimyasal formülleri hakkında detaylı bir bilgi sunmamışlardır.

Sanchez ve ark., (2002) *C. fimbriata*'nın sentetik sıvı ortamda düşük moleküllü ester, alkol, aldehit, keton, alkan ve karboksilik asit türevli aromatiklerin üretimini gerçekleştirdiğini belirtmişlerdir. Söz konusu bu aromatik bileşikler içerisinde etil asetat ve etil alkol üretimlerinin en yüksek seviyede olduğu bulunmuştur. Ayrıca, aynı sentetik besiyeri ortamına lösin ilavesinin etil alkol (tatlı), etil asetat (meyve) ve asetaldehit (fermente) miktarında önemli düzeyde artış sağladığı da belirlenmiştir. Yapılan benzer bir çalışmada ise (Sanchez ve ark., 2004), sentetik besiyeri ortamına tiamin ilavesinin *C. fimbriata*'nın aroma maddesi üretimini arttırdığı, ortamın su aktivitesinin düşürülmesinin ise aroma maddesi üretimini düşürdüğü belirlenmiştir.

Doğal aroma maddelerinin mikrobiyal sentez ile üretimlerinde kullanılan üçüncü yaklaşım konusunda yapılan çalışmalarda (Alchihab ve ark., 2010; Braga ve Bello, 2013; Etschmann ve ark., 2003; Fabritius ve ark., 1998; Haffner ve Tressl, 1996; Mendes-Ferreira ve ark., 2009; Thibault ve ark., 1998; Zheng ve ark., 2007) ise, Haffner ve Tressl (1996) tarafından şeftali aromasına sahip (Z)-6- γ -dodekalakton ve γ -dodekalaktonun sentetik kültür ortamında *Sporobolomyces odorus* mayası kullanılarak oleik asitten sentezlenmesi incelenmiştir. Çalışma sonucunda *S. odorus* tarafından lakton üretiminde linoleik asit yanında ilk defa 18 karbonlu oleik asidin de kullanıldığı tespit edilmiştir. Bu biyodönüşümde oleik asidin *S. odorus* tarafından üretilen 10-lipoksigenaz ve/veya 10-hidrat az ve 9,10-epoksigenaz enzimleri tarafından söz konusu laktonlara katalizlendiği ifade edilmiştir.

Thibault ve ark. (1998) tarafından yapılan bir çalışmada vanilinin biyoteknolojik olarak iki aşamalı bir biyolojik üretim süreci ile üretilebileceği ifade edilmiştir. Üretimin birinci aşamasında *Aspergillus niger*'den elde edilen ferulik asit esteraz veya *T. viride* ve

Pseudomonas fluorescens' den elde edilen ksilaz enzimi ile buğday kepeği ve şeker pancarı küspesinin muamele edilmesi ve ürünlerde bulunan ferulik asitin ortaya çıkarılması, ikinci aşamada ise ortaya çıkan ferulik asidin *A. niger* ve *P. cinnabarinus* kullanılarak vaniline biyodönüşümü gerçekleştirilmiştir. Yapılan diğer bir çalışmada (Zheng ve ark., 2007) pirinç kepeği yağı eldesinde ortaya çıkan katı atığın alkali (NaOH) ve ısı işlem ön uygulamasından sonra, *A. niger* ve *P. cinnabarinus* ile fermentasyona bırakılmasıyla vanilin ve vanil alkolün üretildiği gösterilmiştir. Ayrıca, % 3.1 ferulik asit katkılı mısır kepeğinden *A. niger* I-1472 ve *P. cinnabarinus* MUCL 39533 fermentasyonu ile katalize vanilin üretiminin gerçekleştirilebileceği gösterilmiştir (Laurance Lesage ve ark., 2002). Biyoteknolojik yolla vanilin üretimi üzerine yapılan diğer bir çalışmada (Stentelaire ve ark., 2000), *P. cinnabarinus* MUCL 39533 suşu kullanılarak vanilik asit ilave edilmiş sentetik kültür ortamında 30°C'de hem mekanik karıştırmalı biyoreaktörde hem de hava taşımalı biyoreaktörde (airlift) vanilin üretimi araştırılmıştır. Çalışma sonucunda en iyi vanilin üretiminin mekanik karıştırmalı biyoreaktörde 0.28 vvm (vvm: dakikada her bir unite sıvı ortam için verilen gaz hacmi) ve 0.83 vvm havalandırma oranlarında olduğu belirlenmiştir.

Neto ve ark. (2004) *Geotrichum* spp. ve *G. fragrans* küf türlerini kullanarak, mikrobiyal lipaz ile hidrolize ettikleri hint yağından biyokatalist ve biyodönüşüm yoluyla çikolata ve meyve aroması karakteristiği gösteren γ -dekalakton (krema) üretimini incelemişlerdir. % 5 oranında hidrolize hint yağı, %1 otolize maya ve %1 glikoz içeren ortamda *G. fragrans*' in en yüksek γ -dekalakton üretimini gerçekleştirdiği saptanmıştır. Üretim miktarı olarak ise 30 °C'de 96 saat inkübasyon sonunda 1L kültür ortamından 600 mg γ -dekalakton elde edilmiştir. γ -dekalakton üretimi ile ilgili yürütülen diğer bir çalışmada ise (Moradi ve ark., 2013), 3L'lik kesikli ve kesikli beslemeli biyoreaktör koşullarında *Yarrowia lipolytica*'nın kullanımı incelenmiştir. Çalışma sonunda maksimum γ -dekalakton üretiminin kesikli beslemeli reaktör koşulunda ve saf oksijen havalandırmasıyla gerçekleştiği belirlenmiştir. *Y. lipolytica* ile yapılan diğer bir çalışmada ise (Celinska ve ark., 2013), sentetik besyeri ortamında fenil alaninin fenil etil alkole, "0.09 g fenil etil alkol g⁻¹" fenil alanin verimi olacak şekilde dönüştürüldüğü belirtilmiştir.

Sanchez ve ark. (2006) yaptıkları bir çalışmada, kadife çiçeği bitkisinden izole edilen *S. cerevisiae*'nin yalancı safran bitkisi tohumlarının (*Ditaxis heterantha*) karotenoid ekstraktlarından aroma oluşturma potansiyelini incelemişlerdir. Çalışmada bitki ekstraktlarının toplam pigment içeriğinin % 80'inin heteranthin ve diaksinden oluştuğu ve bu pigmentlerden heteranthinin *S. cerevisiae* tarafından parçalanarak aroma maddesi üretiminin gerçekleştiği belirlenmiştir. *S. cerevisiae* tarafından toplam pigment içeriğinin 36 saat süreyle parçalanması sonucu üretilen aromanın yoğun baharat/bitkisel özellikte olduğu ve 4-okso-izoforon (küflü), izoforon (odun), sinnamik aldehit (bitkisel), 3-hidroksi- β -siklositral, safranal (safran), geranil (bitkisel), 3-okso- α -ionon (bitkisel), 3-okso- α -ionol (bitkisel), 3-okso-7,8-dihidro- α -ionon (bitkisel) ve eugenol (karanfil) içerdiği belirlenmiştir. Çalışmada heteranthinin 60 saat fermentasyonu ile oluşan aroma maddesinin ise bitkisel/çiçek özelliğinde olduğu ve 4-okso-izoforon, sinnamik aldehit, 3-hidroksi- β -siklositral, 2,6,6-trimetil-1,3-sikloheksandien-1-karboksialdehit, 3-okso-4-(2,6,6-trimetil-2-siklohekzen-1-yl)-3-buten-2-on, 3-okso-4-(2,6,6-trimetil-2-siklohekzen-1-yl)-3-buten-2-ol' dan oluşan uçucuları içerdiği saptanmıştır.

Lomascolo ve ark., (2001) yaptıkları bir çalışmada farklı *A. niger* türlerinin sentetik olarak hazırlanmış sıvı besylerinde fenil alanini fenil etil alkole dönüştürmesini incelemişlerdir. Çalışmada *A. niger* CMICC 298302 suşunun fenil alanini fenil etil alkole dönüştürdüğü ve dönüşümün molar veriminin %74 olduğunu belirlemişlerdir. Ayrıca, çalışmada kültür ortamında fenil etil alkol konsantrasyonunun artması ile söz konusu küfün misel gelişiminin de azaldığı saptanmıştır.

Bonnarme ve ark., (1997) farklı *Trichoderma* spp. türlerinin %5 oranında hint yağı, fındık yağı, üzüm çekirdeği yağı ve keten tohumu yağı ilavesi yapılmış sentetik besi ortamında 6-pentil- α -piron (hindistan cevizi) üretimini incelenmişler *T. viride* TSP2 suşunun kullanılan tüm yağlarda 6-pentil- α -piron üretimini iyi bir şekilde gerçekleştirdiğini belirlemişlerdir. 6-pentil- α -piron'un üretim miktarının en yüksek miktardan en düşük miktara doğru hint yağı, keten tohumu, üzüm çekirdeği yağı ve fındık yağı varlığında gerçekleştiği saptanmıştır.

β , β -karoten'den terpen türevli aromatiklerin üretilmesinin araştırıldığı bir çalışmada (Zorn ve ark., 2003), *Ischoderma benzoinmu*, *Marasminus scorodonius* ve *Trametes*

versicolor küf mantarlarının sentetik besi ortamında β , β -karoten'den β -iyonen (çiçek), β -siklositral (bitkisel), dihidroaktinidiolid (kumarin), 2-hidroksi-2,6,6-trimetilsikloheksanon (tatlı, tütün) aromalarını ürettiği belirlenmiştir. Özellikle her üç mikroorganizmanın β -iyonen üretimlerinin yüksek olduğu belirtilmiştir. Yapılan diğer bir çalışmada (Marostica-Junior ve ark., 2007) *Aspergillus* spp., *Penicillium* spp., *Fusarium* spp., *Mucor* spp., ve *Chrysosporium* spp. küfleri kullanarak portakal küspesinden ve okaliptüs ağaçlarının atıklarından elde edilen esansiyel yağlarda bulunan monoterpenik bileşiklerin sentetik besiyerinde biyodönüşümleri incelenmiştir. Çalışmada, tüm küflerin d-limonen (sitrus, limon), α - ve β -pinen (odun, ağaç)'den biyodönüşümle α -terpineol (çiçek), perillil-alkol, verbenol (balsamik) ve verbenon (mentol) ürettiği belirlenmiştir. Bicas ve ark., (2008) ise d-limonenin α -terpineol'e biyodönüşümünün *F. oxysporum* 152b suşunu kullanarak da gerçekleştirilebildiğini ifade etmişlerdir. Araştırmacılar optimum α -terpineol üretiminin gerçekleştirildiği koşulları, sadece saf su ile hazırlanmış ve %0.5 oranında limonen içeren 0.25 inokulum/kültür oranında aşılınmış kültür ortamında, 200-310 rpm karıştırma hızı ve 24-28 °C'de 72 saat fermentasyon süresi şeklinde ifade etmişlerdir. Benzer şekilde *A. niger* ATCC 9642 suşunun da kültür ortamında etil alkol bulunmasıyla β -pinen'i α -terpineol'e dönüştürdüğü ifade edilmiştir (Toniazzo ve ark., 2005).

Aroma maddelerinin mikrobiyal yolla üretiminde maya ve küflerin yanında bakterilerin kullanıldığı çalışmalar da bulunmaktadır. Özellikle son yıllarda bu konu üzerindeki çalışmalarda genetik modifiyeli *Escherichia* ve *Pseudomonas* cinsi bakterilerin sentetik ortamda aroma üretme potansiyelleri araştırılmaktadır (Adams ve Kimpe 2007; Deetae ve ark., 2007; Liu ve ark., 2003; Larroche ve ark., 1999).

Adams ve Kimpe (2007) yaptıkları bir çalışmada Plate Count Agar'da (PCA) *Bacillus cereus* ATCC 14737, *B. cereus* ATCC 27522, *B. cereus* DSM 487 ve DSM 2896 suşlarının 2-asetil-1-prolin (patlamış mısır) ve çeşitli pirazinleri oluşturma potansiyellerini incelemişlerdir. Çalışmada *B. cereus* DSM 487 ve DSM 2896 suşlarının söz konusu agarda herhangi bir aroma üretme potansiyelinin olmadığı, ancak *B. cereus* ATCC 27522'nin besiyerine inokulasyonundan sonra 2-asetil-1-prolin'i yüksek miktarda ürettiği belirlenmiştir. Diğer taraftan araştırmacılar PCA'ya L-ornitin veya %2 lizin hidroklorür ilave edilmesiyle *B. cereus* ATCC 27522'nin pirazin (kavrulmuş), metil pirazin, 2,5-

dimetilpirazin (kavrulmuş fındık), 2-asetil-1-prolin (patlamış mısır), trimetil pirazin ve 3-etil-2,5-dimetilpirazin (toprak) üretiminin arttığını belirlemişlerdir.

Deetae ve ark., (2007) Fransız peynirlerinin yüzeyinden izole ettikleri 12 tür bakterinin %50 yağsız süt ve %5 gliserol içeren Brain Heart Infusion (BHI) Broth'da aroma üretme yeteneklerini araştırmışlardır. Çalışma sonucunda *Brevibacterium linens*, *Microbacterium foliorum*, *Proteus vulgaris* ve *Psychrobacter* spp.'in söz konusu ortamda yüksek aroma üretme potansiyeline sahip oldukları saptanmıştır. Özellikle dört bakteri türünden *P. vulgaris*'in kantitatif olarak yüksek miktarda dimetil disülfid ve diğer sülfür içeren bileşikler oluşturduğu belirlenmiştir. Diğer taraftan, *P. vulgaris* ve *Psychrobacter* spp.'in dallanmış aldehitleri (örn; 2-Metil propanal), alkoller (örn; 3/2-metil-1-bütanol) ve esterleri (örn; izopropil asetat) yüksek miktarda ürettiği belirlenmiştir.

Liu ve ark. (1998) tarafından 22 adet starter ve 49 adet starter olmayan laktik asit bakterisinin alkol ve bütirik asit eklenmiş fosfat tamponu içerisinde etil bütirat oluşturma yetenekleri incelenmiştir. Çalışmada *Streptococcus thermophilus* 'un etil butirat oluşturma yeteneğinin söz konusu kültür ortamında yüksek olduğu (156 ünite 100 mg⁻¹ hücre kuru ağırlığı), *Lactococcus cremoris* ve *Lactococcus lactis* 'in ise orta düzeyde (sırasıyla 39 ünite 100 mg⁻¹ hücre kuru ağırlığı, 27 ünite 100 mg⁻¹ hücre kuru ağırlığı) olduğu belirlenmiştir. Starter olmayan laktik asit bakterileri ve *Propionibacteria* spp.'nin ise etil bütirat oluşturma yeteneğinin çeşitlilik gösterdiği saptanmıştır. *L. cremoris* 2272 ve *L. rhamnosus* 2615 'in ester oluşturma yeteneğinin ortam pH sı 4.8-5.0 olduğunda %175 arttığı, ancak ortamda NaCl bulunduğunda ve ortamın su aktivitesi düşürüldüğünde her iki bakteri çeşidinin etil bütirat üretme yeteneğinin %99 oranında azaldığı belirlenmiştir. Aynı araştırmacıların yaptıkları benzer bir çalışmada (Liu ve ark, 2003) *S. thermophilus* ST1 ve 19 adet diğer laktik asit bakterisinin alkol ve tribütirin eklenen sulu ortamda alkolizis yoluyla ester üretme potansiyellerini incelemişlerdir. Çalışma sonucunda *S. thermophilus* ST1 'in tribütirat ve alkolden sulu ortamda etil bütirat oluşturabileceği ve fenil etil alkol ve 2-hekzanondan 2-fenil hekzanoat'ın sentezlenmesini yüksek oranda katalizleyebildiği belirlenmiştir. Ayrıca diğer laktik asit bakterilerinin aroma üretme potansiyellerinin incelendiğinde *Lc. lactis* subsp. *lactis*'in ML3 ve ML8 suşları ile *Lc. lactis* subsp. *cremoris* 'in E8 ve 2272 suşlarının etil bütirat oluşturma potansiyelinin yüksek olduğu

saptanmıştır. Diğer taraftan, *Lb. paracasei* subsp. *paracasei* B3062 suşunun ise aynı sulu ortamda bütül butanoat'ı oluşturma yeteneğinin yüksek olduğu belirlenmiştir.

Larroche ve ark. (1999) öğütülmüş soya fasulyesini derin kültür fermentasyon tekniğinde *Bacillus subtilis* ile fermentasyona tabi tutarak, 2,5-dimetilpirazin (kavrulmuş fındık, kakao) ve tetrametil pirazin (kavrulmuş fındık) üretimleri için optimum biyoreaktör koşullarını incelemişlerdir. Çalışma sonucunda her iki aroma maddesi üretiminin optimum şekilde yapılması için kültür ortamına L-treonin (40g/L) ve asetoin (60g/L) eklenmesi, kültür ortamının sıcaklığının 40 °C'de olması, ortam pH'sının 7.5 ve havalandırma oranının 0.1vvm den büyük olması gerektiği saptanmıştır. Benzer şekilde, bütün halde kabukları soyulmuş soya fasulyelerini katı faz fermentasyon tekniği ile *Bacillus subtilis* IFO 303 ile fermentasyona bırakılmasıyla 2,5- dimetil prazin, tetra metil pirazin (fındığımsı) aromalarının üretilebileceği saptanmıştır (Besson ve ark., 1997). Yapılan diğer bir çalışmada ise (Yamada ve ark., 2007), *Achromobacter*, *Aeromonas*, *Agrobacterium*, *Alcaligenes*, *Arthrobacter*, *Bacillus*, *Micrococcus*, *Rhodabacter*, *Rhodococcus* ve *Pseudomonas* cinslerini içeren 17 adet farklı bakteri türünün sentetik ortamda izoöjanolden vanilin üretme kapasiteleri incelenmiştir. Çalışma sonucunda, *P. putida* IE27'nin vanilin üretme aktivitesinin diğer bakteri türlerinden daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Buna göre, 150 mM izoöjanol içeren sentetik ortamda 20 °C'de 24 saat inkübasyon sonunda % 71 verimle 16.1 g/L vanilin üretilebileceği ifade edilmiştir. *P. putida* türü ile yapılan diğer bir çalışmada ise (Simmonds ve Robinson,1998), benzol formattan sentetik besiyerinde biyodönüşümle benzaldehit (acı badem) üretimi araştırılmıştır. Buna göre pH 5.4'de 37 °C'de *P. putida* ATCC 12633 suşunun benzol formatı % 85 verimle benzaldehite dönüştürdüğü belirlenmiştir. Esmaili ve Hashemi (2011) yaptıkları bir çalışmada ise *P. aeruginosa*'nın mirseni (myrcene) dihidrolinalol (yaban mersini), 2,6-dimetiloktan ve α -terpineol (çiçek)'e biyodönüşümünü gerçekleştirdiğini belirlemişlerdir. Çalışmada sentetik besiyerinde 27 °C'de 1.5 gün inkübasyon sonunda %79.5 verimle dihidrolinalolün, üçüncü gün fermentasyon sonunda ise %90 verimle 2,6-dimetiloktan ve %7.7 verimle α -terpineol üretiminin gerçekleştiği ifade edilmiştir.

Wang ve ark., (2010) yaptıkları çalışmada TispA, PSNA plazmidlerini barındıran genetik modifiye *E. coli* ile özellikle parfümlerde çiçek aromasını güçlendiren (E,E)-farnesol üretiminin yapılabileceğini göstermişlerdir. Çalışmada kullanılan *E. coli* ile sentetik 2YT besiyerinde 48 saat fermentasyon süresince 135.5 mg/L düzeyinde farnesol üretimi gerçekleştirilmiştir. Yapılan diğer bir çalışmada ise yabani domatesten shmks2 ve shmks1 genleri aktarılmış genetik modifiye *E.coli* ile metil ketonların üretimi araştırılmıştır (Park ve ark., 2012). Çalışma sonucunda her iki geni taşıyan *E. coli* MG1655'nin sentetik besiyerinde (neidhardt MPOS) yüksek miktarda 2-nonanon, 2-undekanon ve 2-tridekanon ürettiği bulunmuştur. Di Gioia ve ark., (2011) yaptıkları bir çalışmada biyoteknolojik olarak ferulik asitten vanilin üretimi için genetik modifiye *P. fluorescens*'in kullanımını incelemişlerdir. Çalışmada vanilin dehidrojenaz aktivitesini içeren ve *P. fluorescens* BF13-1p4 (pBB1) suşu ile vanilin üretiminin gerçekleştirilebileceği, üretim miktarının 30 °C'de pH'sı 6.8 olan sentetik kültür ortamında yaklaşık 1.28 g L⁻¹ düzeyinde belirlenmiştir.

BÖLÜM 3

MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Tarımsal Atıklar

Çalışmanın materyalini pirina, domates ve kapy biber küspesi oluşturmaktadır. Pirina Edremit'te zeytinyağı üretimi yapan işletmelerden, domates ve biber küspesi Çanakkale'de faaliyet gösteren DEMKO Demirci Konservecilik AŞ ve GÜRE salça fabrikalarından temin edilmiştir. Tüm atıklar kullanılıncaya kadar -18 °C'de derin dondurucuda saklanmıştır.

3.2. Mikrobiyal Kültürler

Çalışmada kullanılan mikrobiyal kültürler Ege Üniversitesi Biyomühendislik Bölümü veya Biyoloji Bölümlerinden ya da ARS Culture Collection (NRRL) (Peoria, Illinois, ABD)'dan temin edilmiştir. Çalışmada, bakteri türleri olarak; *Pseudomonas putida*, *Pseudomonas fluorescens*, *Streptomyces* spp., *Lactobacillus buchneri* NRRL B-1837, *Acetobacter aceti* NRRL B-746 ve *Celulosimicrobium cellulans* Y-2381, Maya türleri olarak; *Kluyveromyces marxianus* NRRL Y-6373, *Debaryomyces hansenii* NRRL Y-155, *Torulaspota delbrueckii* NRRL Y-11634, *Candida tropicalis* spp., ve küf türleri olarak; *Rhizopus oryzae*, *Aspergillus sojae* NRRL 1988, *Trichoderma atroviride* NRRL 31396'nin saf kültürleri kullanılmıştır.

3.3. Kullanılan Cihazlar

Çalışmada kullanılan cihazlar ve bunlara ait özellikler Çizelge 3.1'de verilmiştir.

3.4. Kullanılan Kimyasal Malzemeler ve Mikrobiyal Besiyerleri

Çalışmada kullanılan tüm kimyasal malzemeler ve mikrobiyal besiyerleri Merck (Darmstadt, Almanya) ve Sigma Aldrich (St. Louis, MO, ABD)'den temin edilmiştir. Bazı aroma maddeleri AROMSA Besin Aroma ve Katkı Maddeleri Sanayi ve Ticaret A.Ş (Gebze) den sağlanmıştır. Kimyasal malzemeler analitik ve/veya kromatografik saflıktadır.

Mikrobiyolojik analizlerde kullanılan besiyerleri ve inkübasyon koşulları Çizelge 3.2’de yer almaktadır.

Çizelge 3.1. Çalışmada kullanılan cihazlar ve özellikleri

Cihaz	Marka-Model
Gaz kromatografisi- kütle spektrometresi	Agilent HP 6890 GC and 7895C mass selective detector, Agilent Technologies, Wilmington, DE, ABD
Biyoreaktör (5L)	Biostat A-plus [®] , Sartorius, Melsungen, Almanya
Işık mikroskobu	Olympus CX31, Filipinler
Çalkalamalı İnkübatör	Sartorius-Certomat IS, Goettingen, Almanya
İnkübatör	Binder, BD-115, Almanya
Santrifüj	Sigma2-16K, Sigma Zentrifugen, Almanya
Homojenizatör	IKA-WERKE GmbH, Almanya
Mikron öğütücü	Restch GM 200,Haan, Almanya
Otomatik pipetler	Eppendorf, Research [®] plus, Hamburg, Almanya
Vorteks	Biosan V-1, Riga, Letonya
Analitik terazi	RADWAG, Polonya
Hassas terazi	Sartorius TE 214 S, Almanya
Su banyosu	GFL, Almanya
Manyetik karıştırıcı	VELP Scientific, Inc.,ABD
pH metre	Sartorius PB-11, Goettingen, Almanya
Derin dondurucu	Arçelik, Türkiye

3.5. Yöntem

3.5.1. Tarımsal atıkların genel bileşiminin belirlenmesi

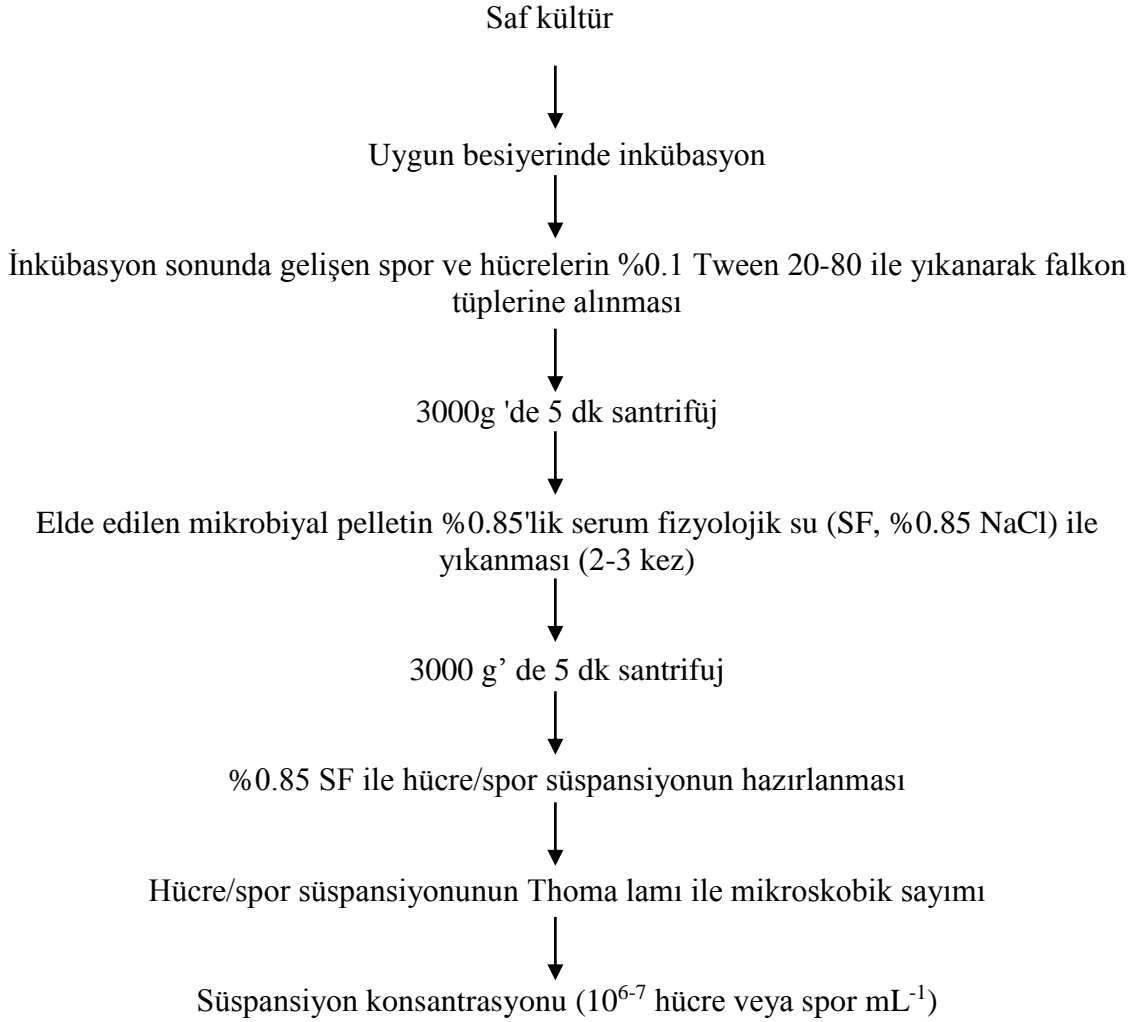
Çalışmada kullanılan tarımsal atıkların pH, nem (%), kül (%), azot (%) ve yağ (%) miktarları AOAC (2000)’e göre belirlenmiştir.

3.5.2. Saf kültürlerden hücre/spor süspansiyonlarının hazırlanması

Çalışmada kullanılan tüm saf kültürlerin hazırlanması için Şekil 3.1’de gösterilen işlemler uygulanmıştır. Saf kültürlerin spor/hücre solüsyonları hazırlanırken prosedür değişikliği sadece kullanılan besiyeri çeşidi ve inkübasyon süresidir (Atlas, 2004; Temiz, 2000) (Ek şekil 2.4-2.5).

Çizelge 3.2. Saf kültürlerin çoğaltılması için kullanılan besiyerleri ve inkübasyon sıcaklık ve süreleri

Mikroorganizma	Kullanılan besiyeri	İnkübasyon sıcaklık, süresi
<i>Kluyveromyces marxianus</i> NRRL Y-6373	Yeast Extract Peptone Dextrose (YEPD) Medium	30°C, 72 saat
<i>Debaryomyces hansenii</i> NRRL Y-155	0.3 M NaCl ilaveli Yeast Extract Peptone Dextrose (YEPD) Medium	30°C, 72 saat
<i>Pichia fermentans</i> NRRL Y-1619	Yeast Extract Peptone Dextrose YPD (DSMZ Medium 393)	30°C, 72 saat
<i>Torulaspora delbrueckii</i> NRRL Y-11634	Malt 4% Dextrose Yeast Agar (MDYA4)	30°C, 72 saat
<i>Candida tropicalis</i> spp	Potato Dextrose Agar (PDA)	30°C, 7 gün
<i>Rhizopus oryzae</i>	Potato Dextrose Agar (PDA)	30°C, 7 gün
<i>Aspergillus sojae</i> NRRL 1988	Dichloran Rose Bengal Chloramphenicol Agar (DRBC)	30°C, 7 gün
<i>Trichoderma atroviride</i> NRRL 31396	Malt Extract Agar (MEA)	30°C, 7 gün
<i>Pseudomonas putida</i> NRRL B1603	Trypton Glucose Yeast Extract (TGY) Broth, TGY Agar	25-28 °C, 48 saat
<i>Pseudomonas fluorescens</i> NRRL B-252	Trypton Glucose Yeast Extract (TGY) Broth, TGY Agar	25-28 °C, 48 saat
<i>Lactobacillus buchneri</i> NRRL B-1837	DE MAN, ROGOSA and SHARPE Agar (MRS)	37 °C 48 saat
<i>Acetobacter aceti</i> NRRL B-746	Sorbitol Medium	30 °C 48 saat
<i>Streptomyces</i> spp.	GYM Streptomyces Agar (DSMZ medium 65)	25-28 °C 48 saat
<i>Celulosimicrobium cellulans</i> Y-2381	GYM Starch Agar (DSMZ Medium 214)	25-28 °C 48 saat



Şekil 3.1.Saf kültürlerin hücre/spor süspansiyonlarının hazırlanması

3.5.3. Atıkların erlen düzeyinde fermentasyon için hazırlanması

İşletmelerden alınan ve $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de depolanan atıklar öncelikle buzdolabı koşullarında çözündürüldükten sonra içerdikleri yabancı maddeler temizlenmiş ve mikron öğütücü kullanılarak öğütülmüştür. Her bir atığın %10'luk ($w\ v^{-1}$ distile su) solüsyonu 1 L' lik Schott şişede hazırlanmış ve 50 mL'lik kapaklı erlenlere paylaştırılmıştır. Erlenlerdeki solusyonlar $121\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de 15 dakika steril edildikten sonra, oda sıcaklığına soğutulmuş ve kültür ortamlarına önceden hazırlanan mikrobiyal süspansiyondan konsantrasyonu 10^{6-7} hücre veya spor mL^{-1} besi ortamı olacak şekilde ayrı ayrı inokulasyonlar gerçekleştirilmiştir (Christen ve ark, 2000; Medeiros ve ark., 2001; Rossi ve ark., 2009). Erlen düzeyinde fermentasyon denemeleri *R. oryzae* ve *C.tropicalis* için $30\text{ }^{\circ}\text{C}$ ' de 288

saat, diğerküfler için 30 °C’de 120 rpm karıştırma hızında 120 saat, maya türleri için ise yine 30 °C’de 120 rpm karıştırma hızında 72 saat boyunca yürütülmüştür (Ek Şekil 2.6).

3.5.4. Atıkların biyoreaktör düzeyinde fermentasyon için hazırlanması

Atıkların erlen düzeyinde fermentasyonu sonrasında büyük hacimde üretimlerin denenmesi ve araştırılması amacıyla biyoreaktör koşullarında da üretim denemeleri gerçekleştirilmiştir. Bu denemelerde 5L’lik kesikli biyoreaktör 4 L çalışma hacmi ile kullanılmıştır (Şekil 3.2). Atık solüsyonları erlen düzeyindeki çalışmalarda olduğu gibi %10'luk ($w v^{-1}$ distile su) olarak hazırlanmıştır. Reaktör, 6 bıçak, bir adet karıştırıcı, 1 adet pH metre probu, sıcaklık sensörü ve hava kontrol sistemi içermektedir. 4 L atık solüsyonu biyoreaktör haznesine konduktan sonra sistemin tüm bağlantıları silikon hortumlarla kapatılmıştır. Daha sonra reaktör 121 °C de 30 dakika steril edilerek üretime hazır hale getirilmiştir (Şekil 3.2). Reaktör üretimleri *R. oryzae* ve *C.tropicalis* için 30 °C’ de 288 saat, diğermikroorganizmalar için 30 °C’de 120 rpm karıştırma hızında 72 ve 120 saat boyunca yürütülmüştür. Tüm üretimler 0.325 vvm ’de çalışılmıştır (Ek Şekil 2.7).

3.5.5. Mikroorganizmaların gelişiminin izlenmesi

Atıkların fermentasyonu boyunca mikroorganizmaların gelişimleri dökme plak veya yayma plak kültürel ekim yöntemleriyle izlenmiştir. Bu amaçla kullanılan besiyerleri saf kültürlerin çoğaltılmasında kullanılan sıvı besiyerlerinin agar eklenmiş halleri veya maya küfler için çoğunlukla kullanılan Dichloran Rose Bengal Chloramphenicol Agar (DRBC) dır. Petri kaplarına ekimleri yapılan mikroorganizmaların inkübasyonları saf kültürlerin çoğaltılması için kullanılan inkübasyon sıcaklık ve süreleri ile aynıdır (Çizelge 3.2). (Ek şekil 2.8)

3.5.6. Mikroorganizmaların spesifik üreme hızı (μ) ve ikilenme sürelerinin (t_d) hesaplanması

Kullanılan her bir mikroorganizmanın atık ortamında büyüme davranışı spesifik üreme hızı ve ikilenme süresiyle ifade edilmiştir. Maksimum üreme hızı ve ikilenme süresi Ray (2004)’e göre belirlenmiştir. Mikroorganizmaların üreme değeri ve ikilenme

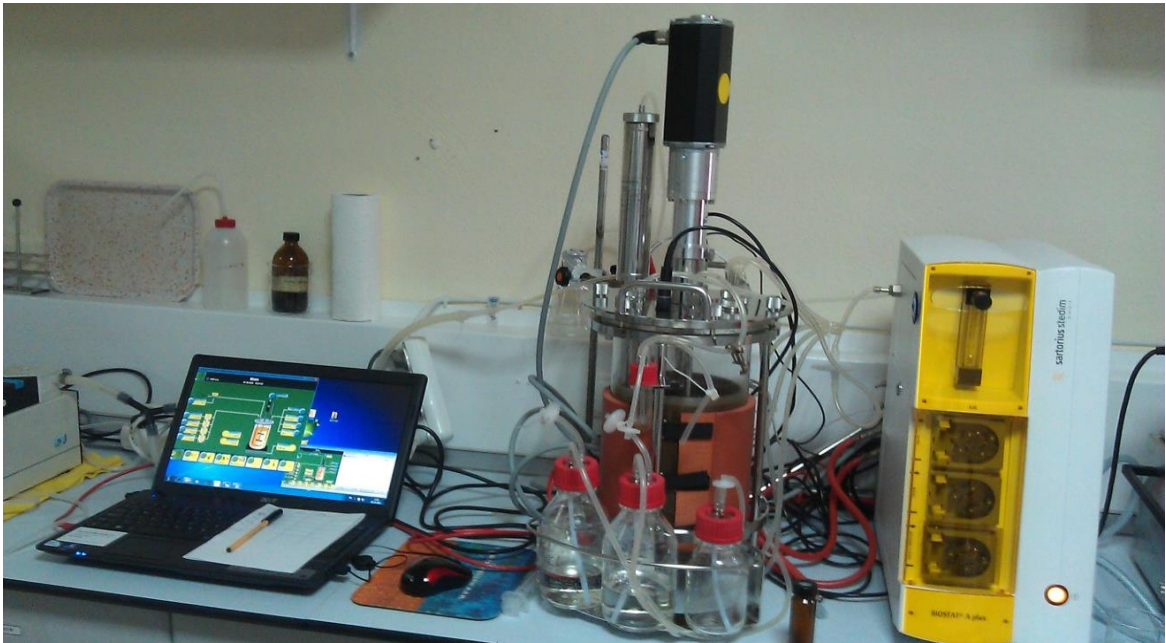
sürelerinin hesaplanması için Eşitlik 3.1 ve Eşitlik 3.2 kullanılmıştır.

$$\ln x = \ln x_0 + \mu t \quad \text{Eşitlik (3.1)}$$

Burada; x : t zamandaki aktif canlı mikroorganizma konsantrasyonu, x_0 :başlangıç mikroorganizma konsantrasyonu, t: süre, μ : spesifik üreme hızını göstermektedir.

$$t_d = 0.693/\mu \quad \text{Eşitlik (3.2)}$$

Burada; t_d :ikilenme süresi, μ : spesifik üreme hızını göstermektedir.



Şekil 3.2. Kesikli biyoreaktör denemeleri için kullanılan 5L'lik biyoreaktör

3.5.7. Bakteri çalışmaları için tarımsal atıklara uygulanan asit ve enzim uygulamaları

Pirina, biber ve domates kabuğunda bakteriyel gelişimlerin izlenmesi için tarımsal atıklara ayrı ayrı enzim ve asit muamelesi yapılmış ve *P. fluoresans*, *P. putida* ve *C. cellulans* gelişimleri izlenmiştir. Her üç tarımsal atığa enzim olarak hemiselulaz muamelesi (Ferzim, Kocaeli-Türkiye 60.000 unit/g) yapılmıştır. Bu amaçla, her üç tarımsal atığın

%10'luk solüsyonları hazırlanmış ve 100mL olarak erlenlere bölünmüştür. pH'ları hemisellüaz enziminin çalışabileceği optimum 5 pH'ya ayarlanmıştır. Daha sonra her 1mL atık için 10 unit olacak şekilde toz hemisellüoz ilave edilmiş ve 55 °C'de 24 saat boyunca inkübe edilmiştir. Daha sonra atıklar başlangıç pH'larına getirilmiş ve 121 °C 15 dk. otoklavlanarak hem enzimin inaktivasyonu hem de atıkların sterilizasyonu sağlanmıştır. Atıklara asit uygulaması ise atıkların % 10 luk solüsyonlarına 1M H₂SO₄ % 1 oranında ilave edilerek 90 °C'de 20 dk. süreyle yapılmıştır. Daha sonra atıklar 1N NaOH ile başlangıç pH'larına getirilmiş ve 121 °C 15 dk. süreyle sterilize edilmiştir.

3.5.8. Bazı mikroorganizmalar için adaptasyon çalışmasının yapılması

D. hansenii ve *K. marxianus*'ın domates ve biber küspesinde gelişiminin sağlanması için her iki mikroorganizmanın ortama adaptasyon çalışması da yapılmıştır. Bu amaçla, her iki maya türü öncelikle sentetik YEDP besiyerinde geliştirilmiş ve hücre solüsyonları hazırlanmıştır. Daha sonra steril edilmiş %10 'luk domates ve biber küspelerine ayrı ayrı inokülasyonları yapılarak 30 °C'de 48 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyonu yapılan biber küspelerinden DRBC katı besiyerine mikrobiyal ekim yapılarak mikroorganizmaların katı besiyerinde gelişmesi sağlamıştır. Katı besiyerinde gelişen mikrobiyal kültürlerin hücre solüsyonu hazırlanarak ikinci kez steril domates ve biber küspelerine inokülasyonu yapılmıştır. İkinci kez domates ve biber küspelerinde geliştirilen kültürler DRBC agara ekim yapılarak katı besiyerinde gelişim sağlanmıştır. Katı besiyerinde gelişen mikrobiyal kültürler tekrar YEPD sıvı besiyerinde geliştirilerek hücre solüsyonları hazırlanmıştır. Böylece, iki kez pasajlaması yapılarak domates ve biber küspesine dirençli hale getirilen *K. marxianus* ve *D. hansenii* gerçek fermentasyon denemelerinde kullanılmıştır.

3.5.9. Fermente atıklarda oluşan uçucu bileşenlerin ekstraksiyonu

Fermente atıklarda oluşan uçucu bileşenlerin ekstraksiyonu için katı faz mikroekstraksiyon metodu (SPME) kullanılmıştır (Pawliszyn, 2012). Bu amaçla 3 g fermente kültür örneği 40 mL SPME vialine (Supelco, Bellafonte, ABD) alınmış ve içerisine 1 g NaCl ve 10 µL iç standart (1 mL'sinde 0.1µL 2-metil valerik asit ve 0.6 µL 2-metil-3-heptanon içermektedir) ilave edilmiştir. Daha sonra örnekler vorteks

yardımıyla 1 dk. karıştırılmıştır. Örneği içeren vial 20 dakika boyunca 40 °C'lik su banyosunda bekletilerek uçucu bileşenlerin vialin tepe boşluğunda dengeye gelmesi sağlanmıştır. Bu süre sonunda SPME fiberi (2 cm-50/30 µm DVB/Carboxen/PDMS stable flex, Bellafonte, ABD) vialin tepe boşluğuna batırılarak 40°C'de 20 dk. bekletilerek uçucu bileşenlerin fiber üzerine toplanması sağlanmış ve SPME fiberi GC-MS'e enjekte edilmiştir. (Ek şekil 2.9)

3.5.10. Fermente atıklarda oluşan uçucu bileşenlerin tanımlanması ve miktarının belirlenmesi

Fermente atıklarda oluşan uçucu bileşenlerin tanımlanması ve miktarlarının belirlenmesinde Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometresi (Şekil 3.3) kullanılmıştır. (Ek şekil 2.1;2.2;2.3)

GC-MS koşulları aşağıdaki şekilde belirlenmiştir;

Kolon: Polar olmayan HP5 MS kolonu (30m × 0.25mm i.d.×0.25µm film thickness, J&W Scientific, Folsom, CA)

Taşıyıcı gaz: Helyum, 1.2 mL dk⁻¹,

Fırın programı: Başlangıç sıcaklığı 40 °C'de 5 dk., Ramp 10 °C dk⁻¹, 230 °C, son sıcaklık ve süre 230 °C'de 20 dk.'dır.

MS şartları: Kapiler arayüz (capillary interface) sıcaklığı 280 °C, iyonizasyon enerjisi (ionization energy): 70 eV; kütle aralığı (mass range) 35 ile 350 amu, tarama hızı (scan rate) 4.45 scans s⁻¹'dir.

Uçucu bileşenlerin tanımlanmasında National Institute of Standards and Technology (NIST, 2008) ve Wiley Registry of Mass Spectral Data (Wiley, 2005) kütüphaneleri kullanılmıştır. Uçucu bileşenlerin miktarlarının belirlenmesi ise oransal bolluklarına (relative abundance) göre Avşar ve ark. (2004)' tarafından önerilen yöntem kullanılarak belirlenmiştir.



Şekil 3.3. Uçuşu bileşenlerin belirlenmesinde kullanılan GCO ve GC-MS sistemi

Asidik karakterdeki uçucu bileşenler için 2-metil valerik asit, bazik/nötral karakterdeki aroma maddeleri için 2-metil-3-heptanon iç standart olarak kullanılmıştır. Aroma maddelerinin miktarının belirlenmesi için Eşitlik 3.3 kullanılmıştır. Belirlenen uçucu bileşenlerin alıkonma indeksleri (RI) ise Van den Dool ve Kratz (1963) 'e göre alkan serisinin (C5-C22) alıkonma zamanları dikkate alınarak hesaplanmıştır. Aroma maddelerinin alıkonma indeksleri Eşitlik 3.4 kullanılarak hesaplanmıştır.

$$\text{Ortalama oransal bolluk } (\mu\text{g/kg}) = \frac{\text{IS konsantrasyonu} \times \text{uçucu maddenin pik alanı}}{\text{IS'nin pik alanı}} \quad \text{Eşitlik (3.3)}$$

IS: iç standart 1 mL'sinde 0.1µL 2-metil valerik asit ve 0.6 µL 2-metil-3-heptanon içermektedir.

$$\text{RI} = 100n + 100 ((tR_a - tR_n)) / ((tR_N - tR_n)) \quad \text{Eşitlik (3.4)}$$

Burada; *RI*: alıkonma indeksi, *n*: küçük alkanın karbon sayısı, *tR_a*: ilgililenilen aroma maddesinin alıkonma zamanı, *tR_n*: küçük alkanın alıkonma zamanı, *tR_N*: büyük alkanın alıkonma zamanını göstermektedir.

3.5.11. Aroma aktif bileşenlerin gaz kromatografisi-olfaktometre ile belirlenmesi

Fermente atıklarda oluşan aroma aktif maddeler gaz kromatografisi-olfaktometre tekniğiyle analiz edilmiştir. Aroma aktif bileşenlerin ekstraksiyonunda GC-MS analizleri için geliştirilen SPME ekstraksiyon metodu değiştirilmeden kullanılmıştır. Kültür ortamından ekstrakte edilen aroma aktif bileşenler GCO'ya enjekte edilerek belirlenmiştir. GCO koşulları aşağıdaki şekilde belirlenmiştir;

Kolon: HP-5 (30 m x 0.32 mm iç çap (id) x 0.25 µm film kalınlığı, J&W Scientific, Folsom, CA, ABD).

Taşıyıcı gaz: Helyum, inlet basıncı: 7.07 psi, toplam akış: 54.3 mL dk⁻¹,

Dedektör: FID-Alev İyonizasyon Dedektörü, sıcaklığı: 250 °C, Kolon akışı 1:1 split FID ve olfaktometre portu için

Fırın programı: başlangıç sıcaklık ve süresi: 40 °C, 5 dk, Ramp: 10 °C dk⁻¹ final sıcaklık ve süre: 200 °C, 25 dk.

Olfaktometre portu: 90 cm x 0.25mm iç çapa sahip aktif olmayan kolon (deactivated fused silica)

Olfaktometre port sıcaklığı: 200 °C

GCO prosedürü deneyimli bir panelist (1000 saat) tarafından iki tekerrür ve iki paralelli olarak gerçekleştirilmiştir. Aroma aktif bileşenlerin yoğunlukları 10 puanlı skala (0: yok-10:çok fazla) kullanılarak belirlenmiştir. Aroma aktif maddelerin tanımlamaları hem GCO koşullarında belirlenen alıkonma indeksi hem de saf standartların aynı koşullarda koklanmasıyla sağlanmıştır.

3.5.12. Fermente atıklara uygulanan duyuusal analizler

Fermente atıklarda meydana gelen aroma değişimlerinin duyuusal olarak belirlenmesi *Spectrum*[®] analizi ile gerçekleştirilmiştir. *Spectrum*[®] analizleri, deneyimli 7 kişilik panel grubu tarafından yapılmıştır (Şekil 3.4).

Panel üyeleri Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Gıda Mühendisliği bölümünde

çalışan ğretim yeleri ve yüksek lisans-doktora öğrencilerinden oluşturulmuştur. Panelistlerin yaşları 24-45 arasında değişmekte olup panel 4 erkek ve 3 bayandan oluşmaktadır. Panelistler, fermente atıklarda duyuusal terimlerin belirlenmesi, tanımlanması ve skalaların kullanılması konusunda 300 saatlik bir deneyime sahiptir.

Panelistler tarafından atıklarda belirlenen terimlerin yoğunlukları 15 puanlı skala ile değerlendirilmiştir (0=ok düşük, 15= çok yoğun). Fermente rnler panelistlere 40 mL'lik kapaklı kavanozlarda 40 C'de sunulmuştur. Fermente atıkların sıcaklıklarının sabit tutulması için kavanozlar ısıtıcı plaka üzerinde tutulmuştur. Panelistlerden atıkların bulunduğu kavanozun tepe boşluğunu koklayarak algıladıkları aroma yoğunluklarını skala üzerine işaretlemeleri istenmiştir (Meilgaard ve ark., 1999) Tarımsal atıkların değerlendirilmesi için kullanılan skor kağıtları ve referanslar Ek izelge 1 ve Ek Şekil 1' de gösterilmiştir.



Şekil 3.4. Panelistler tarafından tarımsal atıklarda duyuusal değerlendirme aktivitesi

3.5.13. İstatistiksel analizler

Çalışmada hem erlen düzeyindeki fermentasyonlarda hem de reaktör düzeyindeki fermentasyonlarda; 1) Mikrobiyal gelişimdeki farklılıkları, 2) uçucu bileşenlerdeki değişimleri ve 3) duyuşal özelliklerdeki değişimleri istatistiksel olarak belirlemek amacıyla tek yönlü (*One-way ANOVA*) ve çift yönlü (*Two way-ANOVA*) *Varyans Analizi* teknikleri kullanılmıştır. Varyans analizinin şartlarını yerine getirmeyen veriler (varyansların homojenliği ve normal dağılım) için varyans analizinin parametrik karşılığı olan *WELCH* testi kullanılmıştır. İstatistiksel olarak önemli olan değişimlerin ortaya konması amacıyla ise *TUKEY* çoklu karşılaştırma (*TUKEY-HSD*) testinden yararlanılmıştır. İstatistik analizlerinde kullanılan modeller Eşitlik 3.5 ve 3.6'da gösterilmiştir (Sheskin, 2004). Söz konusu istatistiksel analizler için SPSS for Windows (version 20.0) (SPSS, 2011), Minitab (version 16) (Minitab, 2010) ve MSTAT-C istatistik paket programlarından yararlanılmıştır.

$$Y_{ij} = \mu + \alpha_i + e_{ij} \quad \text{Eşitlik (3.5)}$$

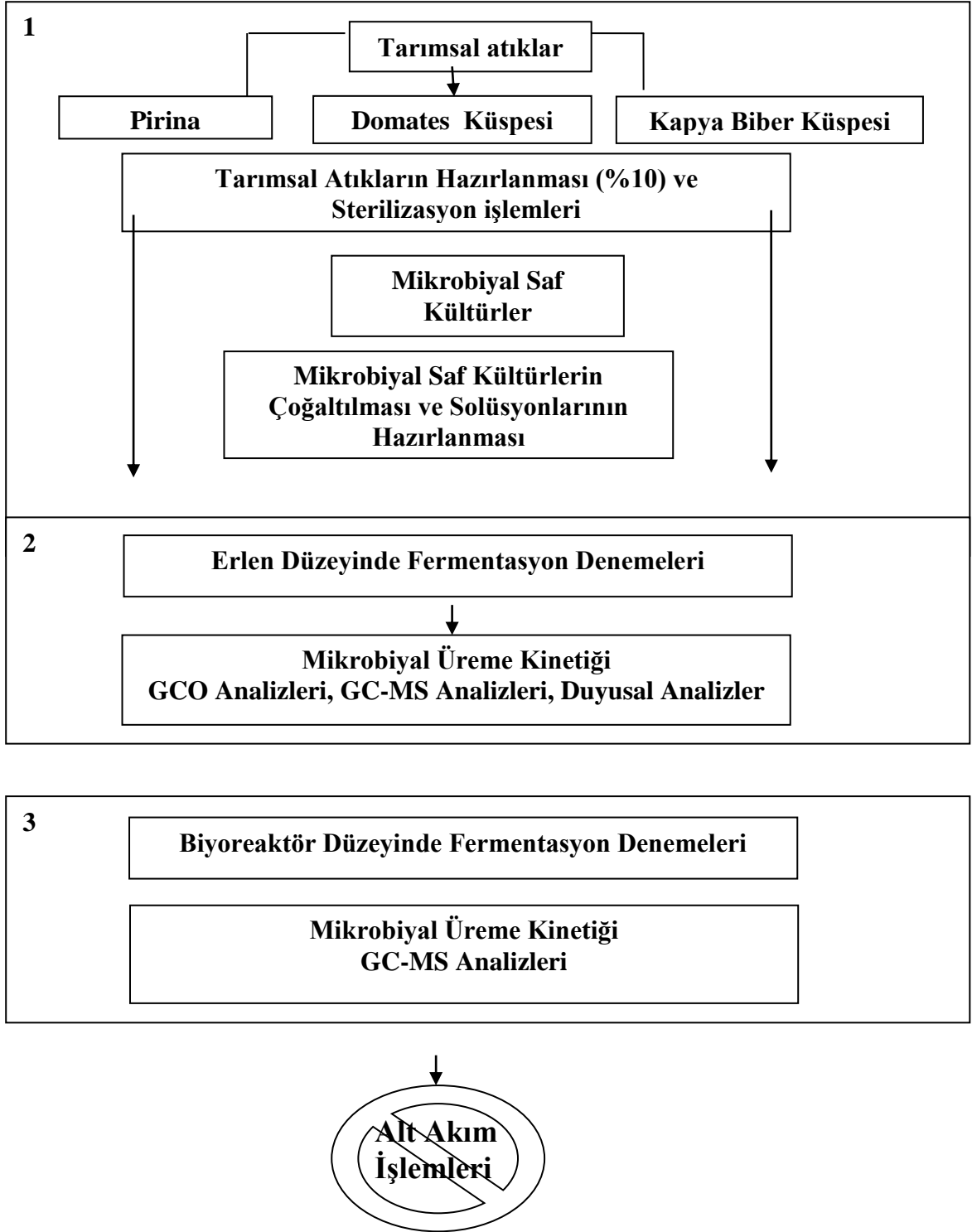
Burada, Y_{ij} : i fermentasyon süresinde j deneyinin değeri, μ : genel popülasyon ortalamasını, e_{ij} : rastgele hata terimini göstermektedir.

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + e_{ijk} \quad \text{Eşitlik (3.6)}$$

Burada, Y_{ijk} : i fermentasyon süresinde j atığındaki k deneyinin değerini, μ : genel popülasyon ortalamasını, α_i : kullanılan mikroorganizmanın etkisini ($i = 1, 2$), β_j : fermentasyon süresinin etkisini ($j = 1, 2, 3, 4, 5, 6$), e_{ijk} : rastgele hatayı göstermektedir.

3.5.14. Çalışmada takip edilen basamaklar

Çalışmada takip edilen basamaklar genel hatları ile şekil 3.5'de gösterilmiştir



Şekil 3 5. Çalışmada takip edilen basamaklar

BÖLÜM 4

ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

4.1. Tarımsal Atıkların Genel Bileşimi

Çalışmada kullanılan tarımsal atıkların genel bileşimlerini belirlemek amacıyla nem (%), kül (%), toplam azot (%) ve yağ (%) tayinleri yapılmıştır. Tarımsal atıkların kimyasal bileşimleri Çizelge 4.1’ de gösterilmiştir. Çizelge 4.1 incelendiğinde pirinanın kalıntı yağ miktarının yaklaşık %4 olduğu görülmektedir. Domates ve biber kabuklarının ise yaklaşık %80 düzeyinde nem içerdiği görülmektedir. Diğer taraftan her üç tarımsal atığın azot içeriklerinin birbirine benzer olduğu ve %0.35-0.48 arasında değişim gösterdiği belirlenmiştir.

Çizelge 4.1. Tarımsal atıkların genel bileşimi

Tarımsal atık	Kimyasal Özellikler (Ortalama± S.D)				
	pH	%Nem	%Kül	%Azot	%Yağ
Pirina	5.43±0.01	53.32±0.04	1.39±0.01	0.38±0.01	4.02±0.34
Domates küspesi	4.59±0.01	86.01±0.15	0.65±0.01	0.35±0.03	-
Biber küspesi	4.57±0.02	79.42±0.50	0.69±0.01	0.48±0.01	-

- Yağ miktarı belirlenmedi. S.D: standart sapma

Tarımsal atıkların genel bileşimi (Çizelge 4.1) yapılan bazı çalışmalarda elde edilen sonuçlarla benzerlik göstermektedir (Baeta-Hall ve ark., 2005; Del Valle ve ark., 2006; Georgieva ve Ahring, 2007; Vlyssides ve ark., 2004; Anonim, 2000 ve 2003). Örneğin; Pirinanın genel bileşiminin belirtildiği bir çalışmada (Anonim, 2003) zeytinyağı üretiminde kullanılan iki veya üç fazlı sıkma sistemine göre pirinanın kimyasal kompozisyonunun değiştiği belirtilirken, nem miktarının %25-70, kalıntı yağ miktarının da %3-8 arasında olduğu ifade edilmiştir. Benzer şekilde, Baeta-Hall ve ark., (2005) pirinanın nem miktarının ortalama %58-67, kül miktarının %2-3.4, yağ miktarının %0.98-8.12, toplam azot miktarının kurumadde de %0.95-1.17 arasında değiştiğini bulmuşlardır. Del Valle ve ark., (2006) 21 farklı yerden alınmış domates küspesinin kimyasal

karakterizasyonunu yaptıkları bir çalışmada, domates küspelerinin ortalama lif, toplam şeker, protein, yağ ve mineral madde miktarlarının kurumaddede sırasıyla %59.03, %25.73, % 19.27, % 5.85 ve % 3.92 olduğunu ifade etmişlerdir. Del Campo ve ark., (2006) farklı tarımsal atıklardan biyoetanol üretimini araştırdıkları çalışmalarında, domates küspesinin ortalama nem, kül ve kurumaddede protein miktarlarını sırasıyla %74.36, %3.77 ve %17.35; biber küspesinde ise nem, kül ve kurumaddede protein miktarlarını %83.10, %9.41 ve %15.40 olarak belirtmişlerdir.

4.2. Tarımsal Atıklarda Yapılan Ön Denemeler

Ön denemelerde pirina, biber ve domates küspelerinde gelişebilen ve aroma üretme potansiyeli olan mikroorganizmaların belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla farklı türden bakteri, maya ve küflerin tarımsal atıklarda gelişmeleri ve aroma üretme potansiyelleri izlenmiştir. İlk denemelere pirinada, *R. oryzae* ve *C. tropicalis* kültürleri kullanılarak başlanmıştır. Bu amaçla pirina küspesinin pH'sının gelişmeye etki edebileceği ön görülmüş ve farklı pH larda hazırlanmış pirina solüsyonlarında 288 saat boyunca *R. oryzae* ve *C. tropicalis* için fermentasyon denemeleri gerçekleştirilmiştir. *R. oryzae* için sırasıyla 5, 6, 7; *C. tropicalis* için 6, 7, 8 başlangıç pH'larında çalışmalar yürütülmüştür. *R. oryzae* ve *C. tropicalis* haricindeki diğer mikroorganizmalar için tarımsal atıkların doğal pH'larında çalışılmıştır. Tarımsal atıklarda mikrobiyal gelişme göstermeyen veya mikrobiyal gelişme belirlendiği halde aroma üretimi olmayan mikroorganizmalarla esas fermentasyon çalışmaları yapılmamıştır.

Özellikle bakterilerin doğrudan tarımsal atıklarda gelişmediği gözlemlendiğinden tarımsal atıklarda bulunan selüloz, diyet lifi gibi polisakkaritlerin ve diğer bileşenlerin monomerlerine parçalanarak daha kolay metabolize edilmelerini sağlamak ve böylece mikrobiyal gelişimi teşvik etmek amacıyla pirina, biber ve domates küspelerine asit (1.0 N HCl) ve hemiselülaz enzimi uygulaması gibi ön işlemler yapılmıştır. Ancak bu durumda da tarımsal atıklarda bakteriyel gelişim sağlanamamıştır. Tarımsal atıkların fermentasyonu için kullanılan bakteriler Çizelge 3.2'de gösterilmiştir. Çalışmada kullanılan bakterilerden *P. putida* NRRL B1603, *P. fluorescens* NRRL B-252'nin pirina, biber ve domates küspelerinde hem doğal hallerinde, hem asit hem de enzim uygulanmış durumlarda

gelişmedikleri belirlenmiştir. Bununla birlikte biber ve domates kabuklarında gelişimleri gözlenen ancak aroma üretimleri olmayan bakteriler ise *Lactobacillus buchneri* ve *Acetobacteri* spp. olarak belirlenmiştir. Benzer şekilde tüm atıklarda *C. cellulans* B-2381 ve *Streptomyces* spp. türlerinin de gelişmediği gözlenmiştir. Bunun nedeninin atıklarda bulunan bazı minör bileşenlerin özellikle bakteriyel (örn; pirinada bulunan fenolik maddeler, biber küspesinde bulunan kapsaisin maddesi) gelişimi engellemesinden (Kurita ve ark., 2002; Tafesh ve ark., 2011; Cichewicz ve Thorpe, 1996) veya bakterilerin vitaminler, amino asitler, iz elementler ve iyonlar vb. gelişme faktörlerini tarımsal atıklardan tam olarak karşılayamamasından kaynaklanabileceği düşünülmektedir (Tunail, 2009; nee' Nigam vd., 2009).

4.3. *C. tropicalis* ve *T. delbrueckii* Kullanılarak Pirinada Yapılan Çalışmalar

4.3.1. *C. tropicalis* ve *T. delbrueckii*'nin pirinadaki mikrobiyal gelişimlerinin incelenmesi

Farklı başlangıç pH ları (6, 7 ve 8 pH) denenerek pirinada *C.tropicalis* ile yapılan çalışmalarda başlangıç pH'sı 7 olan pirina solüsyonunda *C. tropicalis*'in gelişiminin daha iyi ve hızlı olduğu belirlenmiştir. Bu nedenle söz konusu pH daki pirinada *C. tropicalis* gelişimi ve aroma üretme potansiyeli ele alınmış ve *T. delbrueckii* ile karşılaştırması yapılmıştır. *C. tropicalis* ve *T. delbrueckii* ile erlen düzeyinde gerçekleştirilen fermentasyonda gözlemlenen mikrobiyal gelişimler Çizelge 4.2'de verilmiştir.

Çizelge 4.2. Pirinada *C. tropicalis* ve *T. delbrueckii*'nin erlen düzeyinde gelişimleri

Fermentasyon süresi (saat)	Ortalama Hücre sayısı±S.E0 (log kob mL ⁻¹ pirina solüsyonu)	
	<i>C. tropicalis</i>	<i>T. delbrueckii</i>
0	6.15±0.14	5.15±0.01
24	7.97±1.13	6.22±0.04
48	7.61±0.01	6.25±0.01
72	9.21±2.25	6.64±0.04
120	9.38±0.01	-
168	9.05±0.14	-
288	9.28±0.01	-
P değeri	0.837	

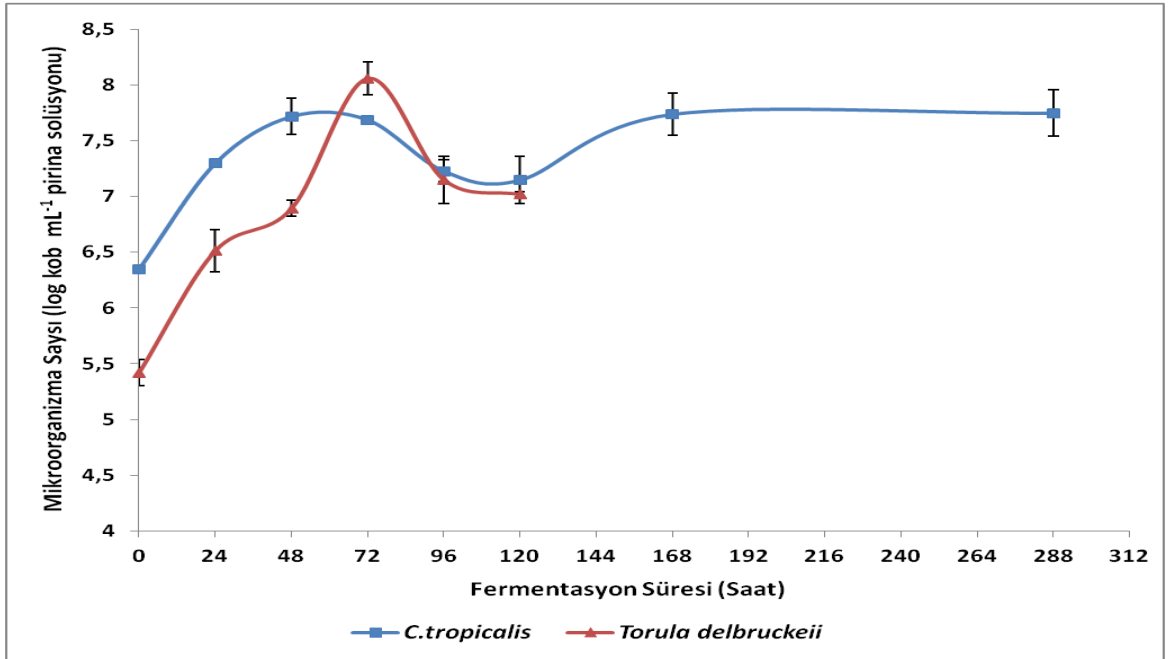
[†]Mikrobiyal sayım alınmamıştır, kob: koloni oluşturan birim, SE: standart hat

Yapılan varyans analizi sonucunda pirinada *C. tropicalis* ve *T. delbrueckii*'nin mikrobiyal gelişimlerinin fermentasyon süresi ve mikroorganizma çeşidine bağlı olarak önemli bir değişim göstermediği belirlenmiştir (P=0.837). Buna göre, fermentasyon boyunca pirinada *T. delbrueckii*'nin hücre sayısında maksimum 1.49 log'luk, *C. tropicalis*'in hücre sayısında ise maksimum 3.23 log'luk bir artışın meydana geldiği belirlenmiştir. *T. delbrueckii*'nin mikrobiyal gelişiminin fermentasyon süresince kültür ortamında devam ettiği belirlenirken, *C. tropicalis*'in mikrobiyal hücre artışının *T. delbrueckii*'ye göre daha yüksek olduğu ve 72 saat sonra gelişmenin durağan faza geçtiği tespit edilmiştir. Ayrıca, 120 saatlik fermentasyon sonunda *C. tropicalis*'in hücre sayısında önemli bir değişimin olmadığı belirlenmiştir (P≤0.05).

C. tropicalis kullanılarak tek hücre proteini üretmek için yapılan bir çalışmada (Cayabyab ve ark., 1977), farklı pH'lara sahip hidrolize olmuş pirinç kamışı solüsyonunda söz konusu mikroorganizmanın 29 °C'de hücre sayısı artışının 2-2.5 log arasında değiştiği belirlenmiştir. Çalışmada 12 saat inkübasyon sonunda ise *C. tropicalis*'in hücre gelişiminin kademeli olarak azaldığı belirlenmiştir. Şarap fermentasyonu için *S. cerevisiae* ve *T. delbrueckii* karışık maya kültürü kullanımının araştırıldığı diğer bir çalışmada (Nissen ve ark., 2003), 25 °C ve 120 rpm karıştırma hızında modifiye YPD (Yeast Pepton Dextrose) sıvı besiyerinde *T. delbrueckii*'nin hücre sayısı artışının fermentasyonun 30. saatine kadar devam ettiği ve bu süre sonunda hücre gelişiminin durağan fazda 240 saat fermentasyon süresince sürdüğü belirlenmiştir. Çalışmada *T. delbrueckii* için maksimum hücre sayısı artışının ise 2-2.5 log arasında olduğu tespit edilmiştir.

Erlen düzeyinde yapılan üretimlerin hacmi artırılarak 4L'lik çalışma hacmiyle biyoreaktör düzeyinde her iki maya çeşidiyle farklı zamanlarda pirinada fermentasyon gerçekleştirilmiştir. *C. tropicalis* ve *T. delbrueckii* ile biyoreaktör düzeyinde gerçekleştirilen fermentasyonda gözlemlenen mikrobiyal gelişimler Şekil 4.1'de gösterilmiştir. Şekil 4.1 incelendiğinde, erlen düzeyinde gelişime benzer olarak *C. tropicalis*'in gelişiminin 72 saat fermentasyondan sonra durağan faza geçtiği görülmektedir. *C. tropicalis*'in hücre sayısının 72 saat fermentasyon süresi sonunda azaldığı ancak 288 saatte kadar hücre sayısında önemli bir değişimin olmadığı görülmektedir. *T. delbrueckii*'nin hücre sayısı artışının ise 72 saat fermentasyon boyunca

hızlı bir şekilde arttığı, bu süre sonunda *T. delbrueckii*'nin hücre sayısında azalmanın meydana geldiği ve mikrobiyal gelişiminin durağan faza geçtiği görülmektedir. Diğer taraftan biyoreaktör düzeyinde, erlen düzeyindeki sonuçlardan farklı olarak *C.tropicalis*'in maksimum hücre sayısı artışının 1.18 log olduğu, *T. delbrueckii*'nin hücre sayısında ise 2.23 log'luk bir artışın meydana geldiği belirlenmiştir. Her iki mikroorganizmanın mikrobiyal üreme kinetiği, spesifik üreme hızı (μ) ve ikilenme süresi (t_d) açısından incelendiğinde, *C. tropicalis* için μ değerinin 0.042 sa.^{-1} olduğu, *T. delbrueckii* için ise bu değer 0.079 sa.^{-1} olduğu tespit edilmiştir. İkilenme süreleri ise sırasıyla 16.26 sa. (*C. tropicalis*) ve 8.70 sa. (*T. delbrueckii*) olarak hesaplanmıştır.



Şekil 4.1. Pirinada biyoreaktör koşullarında *C. tropicalis* ve *T. delbrueckii*'nin gelişimleri

Çalışmamızda *C. tropicalis* ve *T. delbrueckii*'nin pirinada gelişimlerine ilişkin bulunan kinetik değerler diğer çalışmalarda saptanan değerlerden daha düşüktür (Alves-Arajo ve ark., 2007; Sanchez ve ark., 2008; Oh ve Kim 1998). Örneğin, Alves-Araujo ve ark., (2007) yaptıkları bir çalışmada glikoz, sakkaroz ve maltoz gibi farklı şeker türlerini içeren YP sıvı besiyerlerinde, 160 rpm karıştırma hızında ve 30 °C'de gerçekleştirilen

inkübasyon koşullarında *T. delbrueckii*'nin spesifik üreme hızını sırasıyla 0.56 sa.⁻¹, 0.59 sa.⁻¹ ve 0.48 sa.⁻¹ olarak belirlemişlerdir. Benzer şekilde yapılan diğer bir çalışmada ev yapımı mısır ve pirinç ekmeği hamurundan izole edilmiş farklı *T. delbrueckii* suşlarının YPS (Yeast Pepton Sucrose) sıvı besiyerinde spesifik üreme hızının 0.53 sa.⁻¹ ile 0.62 sa.⁻¹ arasında değiştiği belirlenmiştir (Almedia ve Pais, 1996). Buna karşın, yapılan diğer bir çalışmada (Visser ve ark., 1990) ise aneareobik koşullarda ergosterol ve Tween 80 ile kompleks mineral içeren sentetik besiyerinde 25 °C de *T. delbrueckii* CBS 1146 için maksimum spesifik üreme hızının 0.03 sa.⁻¹ olduğu bildirilmiştir. Ksiloz ve glikoz fermentasyonu ile ksilitol üretiminin sentetik besiyerinde incelendiği bir çalışmada ise başlangıç glikoz ve ksiloz miktarına bağlı olarak *C. tropicalis* NBRC 0618 için maksimum spesifik üreme hızının 0.174 sa.⁻¹ ile 0.568 sa.⁻¹ arasında değiştiği belirlenmiştir (Sanchez ve ark., 2008). Farklı konsantrasyonlarda ksiloz içeren sentetik besiyerinde *C. tropicalis* KFCC-10960'ın ksilitol üretiminin incelendiği diğer bir çalışmada, 30 °C 220 rpm karıştırma hızındaki fermentasyon koşullarında *C. tropicalis*'e ait spesifik üreme hızının 0.3 sa.⁻¹ ile 0.52 sa.⁻¹ arasında değiştiği belirlenmiştir (Oh ve Kim, 1998). Kim ve ark., (1999) yaptıkları çalışmada, farklı miktarlarda glikoz içeren sentetik besiyerlerinde *C. tropicalis* ATCC 13803'nin 30 °C'de 500 rpm karıştırma hızında spesifik üreme hızının glikoz konsantrasyonuna bağlı olarak 0.01 sa.⁻¹ ile 0.03 sa.⁻¹ arasında değiştiğini belirlemişlerdir. Çalışma sonucunda hesaplanan spesifik üreme hızının, *C. tropicalis* için elde edilen spesifik üreme hızı ile benzer olduğu görülmektedir.

Sonuç olarak, hem *C. tropicalis* hem de *T. delbrueckii*'nin pirinada erlen ve biyoreaktör düzeyinde mikrobiyal gelişimlerine ait elde edilen hücre sayısı artışı ve durağan faza geçiş süresi incelendiğinde, her iki maya için hücre sayısı artışının yapılan diğer çalışmalardaki sonuçlarla benzerlik gösterdiği, durağan faza geçiş sürelerinin daha uzun olduğu söylenebilir. Her iki mikroorganizmanın da durağan faza geçiş süresinin uzun olması, pirina ortamında logaritmik gelişme fazının yavaş seyretmesine ve böylece ikincil metabolitlerin üretimlerinin yavaş olmasına neden olabileceği düşünülmektedir. Diğer taraftan biyoreaktör üretimleri incelendiğinde *T. delbrueckii*'nin gelişiminin *C. tropicalis*'den daha hızlı olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca biyoreaktör koşullarında *T. delbrueckii*'nin hücre sayısı artışının *C.tropicalis*' den daha fazla olduğu belirlenmiştir. Buna karşın, biyoreaktör koşullarında *C. tropicalis*' in pirinada canlılığını *T. delbrueckii*

den daha iyi koruduğu görülmüştür.

4.3.2. *C. tropicalis* ve *T. delbrueckii*'nin pirinada ürettiği aroma maddelerinin incelenmesi

Çalışmada erlen düzeyinde *T. delbrueckii* ve *C. tropicalis* ile fermente edilmiş pirinada toplam 25 adet aroma aktif bileşen belirlenmiştir. Fermente pirinalarda GCO ile belirlenen aroma aktif bileşenler ve yoğunlukları Çizelge 4.3'de gösterilmiştir. Çizelge 4.3 incelendiğinde, hem *T. delbrueckii* hem de *C. tropicalis* ile fermente edilmiş pirina örneklerinde belirlenen aroma aktif bileşenlerinin asit, aldehit, alkol ve terpen türevli bileşikler olduğu görülmektedir. Pirinada yoğunlukları yüksek aroma aktif bileşenler; izovalerik asit (kirli), stiren (kirli), *o*-kresol (ıslak kirli havlu) (E,Z)-2,6-nonadienol (saman), 2,4 nondienal (kızarmış yağ), (E,E)-2,4-decadienal (yanık, kızarmış yağ) ve bilinmeyen 1 (metalik) olarak belirlenmiştir. *T. delbrueckii* ile fermente edilmiş pirina örneklerinde sadece iki adet aroma aktif bileşeninin yoğunluklarının kontrol grubu pirina örneklerinden daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Yoğunlukları artan aroma maddeleri fenil etil alkol (gül) ve mentol (nane) dür. Diğer taraftan, kontrol grubu örneklerinde belirlenen diğer aroma maddelerinin yoğunluklarının fermente pirina örneklerinde bulunan yoğunluklarından daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca, kontrol grubunda belirlenen diasetil (terayağı), metiyonal (haşlanmış patates), (Z)-nonenal (salatalık) ve limonenin (sitrus-limon) fermente pirina küspesinde bulunmadığı tespit edilmiştir

Çizelge 4.3 incelendiğinde, hem *T. delbrueckii* hem de *C. tropicalis* ile fermente edilmiş pirina örneklerinde belirlenen aroma aktif bileşenlerinin asit, aldehit, alkol ve terpen türevli bileşikler olduğu görülmektedir. Genel olarak, pirinada yoğunlukları yüksek aroma aktif bileşenler; izovalerik asit (kirli), stiren (kirli), *o*-kresol (ıslak kirli havlu) (E,Z)-2,6-nonadienol (saman), 2,4 nondienal (kızarmış yağ), (E,E)-2,4-decadienal (yanık, kızarmış yağ) ve bilinmeyen 1 (metalik) olarak belirlenmiştir. *T. delbrueckii* ile fermente edilmiş pirina örneklerinde sadece iki adet aroma aktif bileşeninin yoğunluklarının kontrol grubu pirina örneklerinden daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Yoğunlukları artan aroma maddeleri fenil etil alkol (gül) ve mentol (nane) dür. Diğer taraftan, kontrol grubu örneklerinde belirlenen diğer aroma maddelerinin yoğunluklarının fermente pirina örneklerinde bulunan yoğunluklarından daha yüksek olduğu tespit edilmiştir.

Çizelge 4.3. *T. delbrueckii* ve *C.tropicalis* ile fermente edilmiş pirinada belirlenen aroma aktif bileşenler

RI ^a	Aroma	Aroma Tanımı	Belirleme yöntemi	Aroma yoğunluğu (ortalama±SE)			
				Kontrol ¹	<i>T. delbrueckii</i> ^b	Kontrol ²	<i>C. tropicalis</i> ^c
524	Dimetil sülfid	Sülfür	RI,O	0.25±0.25	0.25±0.25	T.E	T.E
598	Diasetil	Tereyağı	RI,O	2.0±0.01	T.E	4.75±0.75	4.50±1.50
802	Hekzenal	Çimen	RI,MS,O	0.5±0.50	0.25±	2.0±0.10	T.E
856	Bilinmeyen 1	Kirli, asit	RI,O	4.25±0.25	3.75±0.75	0.75±0.75	T.E
862	Izovalerik asit	Ekşi,meyvemsi	RI,O	3.75±3.75	4.0±1.0	1.75±0.25	1.50±1.50
869	Stiren	Asit, kirli	RI,MS,O	5.25±2.25	4.75±0.75	2.75±0.25	T.E
898	Metiyonal	Haşlanmış patates	RI,O	1.0±0.01	T.E	0.75±0.75	0.25±0.25
975	Bilinmeyen 1	Metalik	RI,MS,O	5.75±0.75	4.0±1.0	4.50±1.50	3.75±0.25
999	Hekzil asetat	Kolonya	RI,O	2.50±0.50	1.0±1.0	1.50±0.50	0.75±0.75
1040	Limonen	Sitrus, ferah	RI,MS,O	1.0±0.10	T.E	1.5±0.50.	2.50±0.10
1050	Benzenasetaldehit	Pudra/gül	RI,MS,O	3.0±0.01	0.9±0.10	T.E	T.E
1058	Bilinmeyen 3	Yağ	RI,O	2.50±0.50	2.50±2.50	T.E	T.E
1077	o-kresol	Kirli ıslak havlu	RI,MS,O	3.0±0.01	3.5±0.50	3.0±1.0	2.25±0.25
1095	Guaiakol	Yanık şeker	RI,MS,O	2.75±0.25	3.0±0.01	3.50±1.50	T.E
1144	Fenil etil alkol	Gül	RI,MS,O	2.0±0.01	4.50±0.50	1.0±0.50	1.75±0.25
1157	(Z)-2-nonenal	Salatalık	RI,MS,O	1.50±0.50	T.E	2.50±0.50	T.E
1158	(E,Z)-2,6-nonadienol	Saman	RI,O	4.50±0.50	3.0±1.0	2.75±0.75	1.0±1.0
1186	Naftalin	Kirli	RI,MS,O	1.0±0.01	T.E	0.75±0.75	1.0±1.0
1190	Mentol	Tatlı,	RI,MS,O	T.E	2.0±0.01	T.E	T.E
1216	2,4-nonadienal	Kızarmış yağ	RI,MS,O	4.50±0.50	1.0±0.01	3.25±0.75	2.0±2.0
1250	Karveon	Lakton/tatlı	RI,O	2.50±0.50	3.0±0.01	T.E	T.E
1268	Geraniol	Tatlı	RI,O	1.75±0.25	1.5±0.01	2.0±0.10	1.0±1.0
1322	(E,E)-2,4-decadienal	Yanık kızarmış yağ	RI,MS,O	4.50±0.50	1.50±0.50	4.50±0.50	1.0±0.50
1372	α-kubebene	Tatlı	RI,MS,O	1.0±0.01	1.5±0.01	T.E	T.E
1382	Bilinmeyen 4	Sülfür	RI,O	1.75±0.25	T.E	T.E	T.E

^aRI:Alıkonma indeksi HP-5 MS kolonda hesaplanmıştır.,^b120 saat fermentasyon sonunda belirlenen aroma yoğunluğu, ^c135 saat fermentasyon sonunda belirlenen aroma maddelerinin yoğunluğu, ¹doğal pH'daki fermente olmamış pirina, ²7 pH'ya sahip fermente olmamış pirina, SE: standart hata, T.E: Tespit edilmedi, MS:kütle spektrometresi, O: Koku

Ayrıca, kontrol grubunda belirlenen diasetil (terayağı), metiyonal (haşlanmış patates), (Z)-nonenal (salatalık) ve limonenin (sitrus-limon) fermente pirina küspesinde bulunmadığı tespit edilmiştir.

C. tropicalis ile fermente edilen pirina küspeleri incelendiğinde sadece limonen (sitrus, limon)'in yoğunluğunun arttığı belirlenmiştir. Bununla birlikte, kontrol grubu pirina örneklerinde belirlenen diğer aroma maddelerinin yoğunluklarının *C. tropicalis* ile fermente olmuş pirina örneklerinden daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Diğer yandan, kontrol grubu pirina örneklerinde belirlenen hekzanal (çimen), stiren (kirli), guaiakol (yanık şeker), (Z)-2-nonenal (salatalık) *C. tropicalis* ile fermente olmuş pirina örneklerinde belirlenmemiştir (Çizelge 4.3).

Erlen düzeyinde *T. delbrueckii* ile fermente olmuş pirinada belirlenen aroma bileşenlerinden miktarı artan aroma maddeleri Çizelge 4.4' de gösterilmiştir. Yapılan varyans analizi sonucunda fenil etil alkol ve mentol miktarları açısından kontrol grubu pirina örnekleri ile *T. delbrueckii* ile fermente olmuş pirina örnekleri arasında önemli fark olduğu bulunmuştur ($P \leq 0.05$). Buna göre, her iki aroma maddesinin miktarının fermente edilmiş pirina örneklerinde kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu belirlenmiştir ($P < 0.05$).

Çizelge 4.4. *T. delbrueckii* ile fermente edilmiş pirinada GC-MS ile belirlenen bazı aroma maddeleri

Aroma Maddesi	Aroma Tanımı	Ortalama Miktar±S.E ($\mu\text{g kg}^{-1}$ pirina solüsyonu) ^a	
		Kontrol	<i>T. delbrueckii</i>
Fenil etil alkol	Gül	0.29±0.06 ^B	6.69±0.01 ^A
Mentol	Nane	0.13±0.01 ^B	3.50±0.69 ^A
P değeri		0.01	0.04

^a72 saat fermentasyon sonunda belirlenen aroma maddelerinin oransal bolluğu, T.E: tespit edilemedi. SE: standart hata

Fermente pirina örneklerinde belirlenen fenil etil alkol (gül) ve mentol (nane) miktarları sırasıyla $6.69 \mu\text{g kg}^{-1}$ ve $3.50 \mu\text{g kg}^{-1}$ dir. Fenil etil alkol ve mentolün fermente olmuş pirina örneklerinde yüksek olması, *T. Delbrueckii*'nin pirinada bu iki aroma maddesinide ürettiğini göstermektedir. Nitekim, yapılan GCO analizleriyle de her iki aroma maddesinin yoğunluğunun fermentasyon sonucunda arttığı tespit edilmiştir. Erlen

düzeyinde *C. tropicalis* ile fermente olmuş pirinada belirlenen aroma bileşenlerinden miktarı artan aroma maddeleri Çizelge 4.5’ de gösterilmiştir.

Çizelge 4.5. *C.tropicalis* ile fermente edilmiş pirinada GC-MS ile belirlenen bazı aroma maddelerinin miktarı

Aroma Maddesi	Aroma Tanımı	Ortalama Miktar±S.E($\mu\text{g kg}^{-1}$ pirina solüsyonu)		
		Kontrol ^a	72 saat	288 saat
Etil alkol	Tatlı	6.48± 4.48	24.73±17.54	0.23±0.16
Metil butanoat	Meyvemsi	T.E	4.67±0.20 ^A	0.40±0.20 ^B
D-limonene	Sitrus, limon	119.64±77.0 ^{AB}	249.54±30.82 ^A	8.93±6.26 ^B

^a72 saat fermentasyon sonunda mikroorganizma inokulasyonun yapılmamış pirinada belirlenen aroma maddelerinin oransal bolluğu, ^{A-B}Aynı uçucu bileşende farklı büyük harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemlidir ($P\leq 0.05$). SE: standart hata

Çizelge 4.5 incelendiğinde GCO analizi sonucunda *C. tropicalis* ile fermente olmuş pirina örneklerinde belirlenmemesine rağmen, etil alkol (tatlı) ve metil butanoat (meyvemsi)’in miktarının fermentasyon süresince arttığı GC-MS analizi ile belirlenmiştir. Bu durumun, aroma maddelerinin eşik değeri ile ilgili olduğu söylenebilir. Çünkü bir aroma maddesinin GCO ile belirlenebilmesi için hem “aroma eşik değeri”nin, hem de ‘aroma tanıma eşik değeri’nin üzerinde olması gerekmektedir. Bir aromanın ‘eşik değeri’, söz konusu aromanın tepkiye neden olması için gerekli en düşük konsantrasyonu olarak tanımlanırken, ‘aroma tanıma eşik değeri’ ise o bileşiğin tanınması için gerekli olan en düşük konsantrasyon olarak ifade edilmektedir (Belitz ve ark., 2009).

Yapılan varyans analizi sonucunda *C. tropicalis* tarafından pirinada üretilen metil butanoatın (meyvemsi) 72 saat fermentasyon süresince önemli düzeyde artış gösterdiği belirlenmiştir. Bununla birlikte *C. tropicalis* tarafından üretilen etil alkol (tatlı) ve d-limonenin 72 saatlik fermentasyon süresince belirlenen miktarlarının arasında istatistiksel olarak önemli bir fark bulunmazken ($P\leq 0.05$), pratikte her iki aroma maddesinin miktarlarının fermentasyon süresince arttığı gözlemlenmiştir (Çizelge 4.5). Fermentasyon süresince her iki aroma maddesinin miktarında bir artış gözlenmesine rağmen, istatistiksel olarak önemli bir fark bulunmamasının *C. tropicalis* ile yapılan fermentasyon denemelerinin ve/veya analiz tekerrürleri arasındaki standart hatanın büyük olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. *C. tropicalis* ile fermente edilen pirina örneklerinde belirlenen etil alkol, metil butanoat ve d-limonen’in 72 saat fermentasyon süresince belirlenen miktarları sırasıyla $24.73 \mu\text{g kg}^{-1}$, $4.67 \mu\text{g kg}^{-1}$ ve $249.54 \mu\text{g kg}^{-1}$ olarak tespit edilmiştir. Ayrıca, söz konusu

aroma maddelerinin miktarlarının fermentasyon süresinin artması ile azaldığı belirlenmiştir.

Biyoreaktör düzeyindeki *T. delbrueckii* ve *C. tropicalis* ile fermente olmuş pirinada belirlenen aroma bileşenlerinden miktarı artan aroma maddeleri sırasıyla Çizelge 4.6 ve Çizelge 4.7’de gösterilmiştir. Yapılan varyans analizi sonucunda her iki küf tarafından üretilen aroma maddelerinin miktarlarının fermentasyon süresine bağlı olarak değişim gösterdiği belirlenmiştir ($P \leq 0.05$). *T. delbrueckii* tarafından pirinda üretilen aroma maddelerinin biyoreaktör düzeyindeki değişimleri incelendiğinde, fenil etil alkolün (gül) 72 saat fermentasyon süresince mikrobiyal üretiminin olduğu ve bu fermentasyon süresinden sonra miktarında önemli bir değişimin olmadığı bulunmuştur. Kültür ortamında üretilen mentol (nane)’ün ise 72 saat fermentasyon süresince üretildiği ve bu fermentasyon süresinden sonra miktarının önemli düzeyde azaldığı belirlenmiştir ($P \leq 0.05$ çizelge 4.6). *T. delbruecki* ile pirinanın biyoreaktör düzeyinde fermentasyonunda fenil etil alkol (gül) ve mentol (nane)’ün kültür ortamında belirlenen maksimum miktarları $29.63 \mu\text{g kg}^{-1}$ ve $8.18 \mu\text{g kg}^{-1}$ olarak tespit edilmiştir. *C. tropicalis* tarafından pirina üretilen aroma maddelerinin biyoreaktör düzeyindeki değişimi incelendiğinde, erlen düzeyinde belirlenen etil alkol (tatlı) ün biyoreaktör düzeyinde üretilmediği belirlenmiştir. Ancak hem metil butanoatın hem de d-limonenin biyoreaktör koşullarında üretildiği tespit edilmiştir.

Çizelge 4.6. Biyoreaktör koşullarında *T. delbrueckii* ile fermente edilmiş pirinada GC-MS ile belirlenen bazı aroma maddeleri

Aroma Maddesi	Aroma Tanımı	Ortalama miktar±S.E (µg kg ⁻¹ pirina solüsyonu) ^a					
		Fermentasyon süresi (saat)					
		0	24	48	72	96	120
Fenil etil alkol (P=0.039)	Çiçek, Gül	4.48±0.29 ^B	19.83±1.32 ^{AB}	21.76±4.80 ^{AB}	27.35±1.83 ^{AB}	29.63±1.73 ^A	27.91±1.27 ^{AB}
Mentol (P=0.01)	Nane, Ferah	2.59±0.12 ^C	2.80±0.24 ^C	4.67±0.22 ^{BC}	8.18±0.89 ^A	5.95±0.25 ^{AB}	6.0±0.12 ^{AB}

^{A-C} Fermentasyon süresince farklı büyük harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemlidir (P≤0.05). ^a120 saat fermentasyon süresince belirlenen aroma maddelerinin oransal bolluğu. T.E: tespit edilemedi. SE: standart hata

Çizelge 4 7. Biyoreaktör koşullarında *C. tropicalis* ile fermente edilmiş pirinada GC-MS belirlenen bazı aroma maddeleri

Aroma Maddesi	Aroma Tanımı	Ortalama Miktar ±S.E (µg kg ⁻¹ pirina solüsyonu) ^a							
		Fermentasyon süresi (saat)							
		0	12	24	72	135	180	230	288
Metil butanoat (P=0.01)	Meyvemsi	T.E	0.22±0.01 ^B	0.27±0.01 ^{AB}	7.26±0.25 ^A	6.27±0.93 ^A	6.0±1.20 ^{AB}	5.23±0.77 ^{AB}	4.72±0.33 ^{AB}
d-limonen (P=0.039)	Sitrus	6.25±0.08 ^{CD}	8.68±0.01 ^{BC}	6.15±0.45 ^{CD}	9.58±0.01 ^{AB}	10.73±0.61 ^{AB}	11.95±0.69 ^A	5.61±0.01 ^D	6.44±0.78 ^{CD}

^{A-D} Fermentasyon süresince farklı büyük harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemlidir (P≤0.05). ^a288 saat fermentasyon süresince belirlenen aroma maddelerinin oransal bolluğu. T.E: tespit edilemedi. SE: standart hata

Metil butanoatın ve d-limonenin erlen düzeyinde üretilen miktarlarından daha düşük oranda olduğu tespit edilmiştir. Biyoreaktör düzeyinde üretilen metil butanoat (meyvemsi),’in kültür ortamındaki maksimum miktarının 72 saat fermentasyon süresinde 7.26 µg kg⁻¹ düzeyinde olduğu saptanmıştır. D-limonenin maksimum miktarı 180 saat fermentasyon süresinde kültür ortamında 11.95 µg kg⁻¹ düzeyinde olduğu belirlenmiştir. Çizelge 4.8’de gösterilen *T. delbrueckii* ve *C. tropicalis* tarafından pirinada üretilen aroma maddelerinin verimlilik değerleri incelendiğinde, en yüksek verimlilik değerine fenil etil alkolün (gül) sahip olduğu belirlenmiştir. Bu durum fenil etil alkol’ün pirinanın *T. delbrueckii* ile fermentasyonu sonucu belirlenen diğer aroma maddelerinden daha hızlı ve daha yüksek miktarda üretildiğini göstermektedir.

Çizelge 4.8. *T. delbrueckii* ve *C. tropicalis* tarafından pirinada üretilen aroma maddelerinin verimlilikleri

Aroma Maddesi	Ortalama ^a ±S.E (µg kg ⁻¹ pirina solüsyonu sa. ⁻¹)	
	<i>T. delbrueckii</i>	<i>C.tropicalis</i>
Fenil etil alkol	0.30±0.01	-
Mentol	0.11±0.01	-
Metil butanoat	-	0.10±0.01
d-limonen	-	0.06±0.01

^aAroma maddesinin maksimum miktarının belirlendiği fermentasyon süresine göre hesaplanmıştır. S.E: standart sapma, ⁻Verimlilik değeri hesaplanmamıştır.

T. delbrueckii ve *C. tropicalis* kullanılarak doğrudan tarımsal atıklardan aroma maddesi üretiminin incelendiği çalışmalara literatürde rastlanmamıştır. Ancak literatürde her iki maya türü kullanılarak aroma üretiminin araştırıldığı çalışmalar mevcuttur (Chatterjee ve ark., 1999; King ve Dickinson 2000; Plata ve ark., 2003). Bununla birlikte, bitkisel materyallerde bulunan monoterpenoid türevli bileşiklerin bazı mayalar tarafından mikrobiyal oksidasyona uğratarak farklı özellikte aroma maddelerinin üretildiği bildirilmektedir (King ve Dickinson 2000; Velankar ve Heble, 2003). Örneğin, Chatterjee ve Bhattacharyya, (1999), α-pineni (terepentin) *C. tropicalis* MTCC230’nin α-terpineol (çiçek, sitrus)’e dönüştürdüğünü bildirilmişlerdir. Benzer şekilde, yapılan diğer bir çalışmada (King ve Dickinson, 2000) *T. delbrueckii*’nin nerol (çiçek, tatlı) ve linalooldan (sitrus) α-terpineol (çiçek, sitrus) ürettiği, ayrıca nerolden geraniol (çiçek, gül) üretme yeteneğine sahip olduğu bildirilmiştir.

Sonuç olarak, *T. delbrueckii* ile pirinanın fermente edilmesiyle fenil etil alkol (göl) ve mentölün, *C. tropicalis* ile fermente edilmesiyle etil alkol, d-limonen ve metil petanoatın üretildiği tespit edilmiştir. Ancak, tüm aroma maddelerinin verimliliklerinin de düşük olduğu belirlenmiştir. Mentol ve d-limonen üretiminin *T. delbrueckii* ve *C. tropicalis*'in kültür ortamında bulunan çeşitli monoterpenidleri mikrobiyal oksidasyona uğratarak, metil pentanoat ve fenil etil alkol üretiminin ise alkol asetiltransferaz enzimin reaksiyonları veya pirinada bulunan dallanmış amino asitlerin Erlich metabolik yoluna sokulmasıyla üretildiği düşünülmektedir.

4.3.3. *C. tropicalis* ve *T. delbrueckii* ile fermente edilmiş pirinanın duyuşal özellikleri

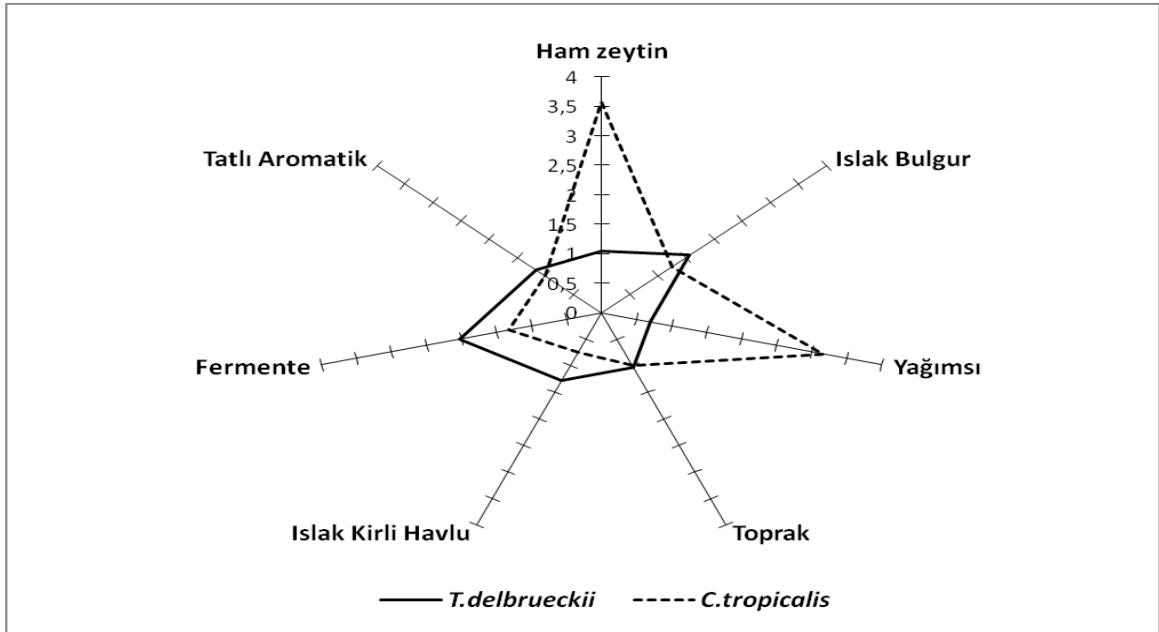
Biyoteknolojik yöntemlerle aroma üretiminin araştırıldığı birçok çalışmada genel olarak duyuşal değerlendirmeler yapılmamıştır. Bununla birlikte, aroma maddeleri konusunda yapılan çalışmaların birçoğu genel olarak sadece uçucu bileşenlerin saptanmasına yöneliktir. Her aroma maddesinin uçucu olduğu, ancak her uçucu bileşenin aroma olmadığı düşünülürse yapılan aroma çalışmalarının duyuşal analizlerle de desteklenmesi gerektiği ortaya çıkmaktadır (Güneşer ve Karagöl, 2010. Meilgaard ve ark., 1999). Bu çalışmada bu konuların da önemi dikkate alınarak ilk defa farklı mikroorganizmalarla fermente edilen tüm tarımsal atıklarda üretilen aroma maddeleri, hem GCO hem de duyuşal analizlerle belirlenerek duyuşal kalitelerinin de değerlendirmesi yapılmıştır. Bu çerçevede, *T. delbrueckii* ve *C.tropicalis* ile fermente edilmiş pirinanın duyuşal özelliklerinin ortaya konulması amacıyla on adet duyuşal tanımlayıcı terim belirlenmiştir. Söz konusu duyuşal tanımlayıcı terimler Çizelge 4.9'da gösterilmiştir. Yapılan varyans analizi sonucunda ıslak bulgur, toprak, ayak kokusu ve fermente aroma bakımından *T. delbrueckii* ile fermente edilmiş pirina örnekleri ile kontrol grubu pirina örnekleri arasında önemli farklılıkların olduğu belirlenmiştir. Panelistler tarafından *T. delbrueckii* ile fermente edilmiş pirina örneklerinde fermente, ıslak kirli havlu ve toprak aromalarının kontrol grubu pirina örneklerine göre daha yüksek yoğunlukta algılanmıştır. Islak bulgur aromasının ise kontrol grubu pirina örneklerinde daha yüksek olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.9, $P \leq 0.05$).

Ham zeytin ve odun/bitki aromasının *C. tropicalis* ile fermente edilmiş pirina örneklerinde kontrol grubu pirina örneklerinden daha yüksek olduğu tespit edilmiştir ($P \leq 0.05$, Şekil 4.2). Ancak, diğer aromatik özellikler bakımından kontrol grubu pirina örnekleri ve *C. tropicalis* ile fermente olmuş pirina örnekleri arasında önemli bir farklılığın olmadığı belirlenmiştir ($P \geq 0.05$).

Çizelge 4.9. *T. delbrueckii* ve *C. tropicalis* ile fermente edilmiş pirinanın duyuşal özellikleri

Aromatik özellik	Duyuşal Puan ^a (Ortalama \pm S. E)					
	Kontrol ¹	<i>T. delbrueckii</i>	<i>P</i> değeri	Kontrol ²	<i>C. tropicalis</i>	<i>P</i> değeri
Ham zeytin	0.9 \pm 0.15	1.05 \pm 0.11	0.53	1.75 \pm 0.11 ^B	3.58 \pm 0.83 ^A	0.01
Islak Bulgur	2.25 \pm 0.18 ^A	1.57 \pm 0.20 ^B	0.03	4.41 \pm 0.35 ^A	1.25 \pm 0.52 ^B	0.01
Yağımsı	0.50 \pm 0.05	0.70 \pm 0.0	0.15	1.91 \pm 0.83 ^B	3.16 \pm 0.40 ^A	0.01
Odun/bitki	0.70 \pm 0.10	0.70 \pm 0.10	0.87	1.92 \pm 0.27	1.83 \pm 0.16	0.79
Tatlı/ransit	0.35 \pm 0.16	0.60 \pm 0.20	0.33	1.08 \pm 0.23	1.16 \pm 0.21	0.80
Toprak	0.70 \pm 0.15 ^B	1.03 \pm 0.05 ^A	0.01	0.83 \pm 0.10	1.0 \pm 0.10	0.14
Islak kirli havlu	0.60 \pm 0.10 ^B	1.28 \pm 0.25 ^A	0.02	0.75 \pm 0.52	0.75 \pm 0.27	1.0
Fermente	0.80 \pm 0.40 ^B	2.03 \pm 0.20 ^A	0.01	1.66 \pm 0.35	1.33 \pm 0.30	0.49
Tatlı aromatik	0.80 \pm 0.20	1.17 \pm 0.20	0.06	0.91 \pm 0.15	1.00 \pm 0.10	0.59
Metalik	0.40 \pm 0.20	0.40 \pm 0.15	0.89	0.50 \pm 0.20	0.50 \pm 0.10	1.0

^{A-B} Aynı aromatik özelliğe farklı büyük harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemlidir ($P \leq 0.05$).
^a72 saat fermentasyon sonunda belirlenmiştir, ¹doğal pH'da fermente olmamış pirina, ²7 pH'ya sahip fermente olmamış pirina T.E: Tespit edilmedi, SE: standart hata.



Şekil 4.2. *T. delbrueckii* ve *C. tropicalis* ile fermente edilmiş pirinaların bazı duyuşal özelliklerine ait örümcek ağı diyagramı

4.4. *R. oryzae* ve *T. atroviride* Kullanılarak Pirinada Yapılan Çalışmalar

4.4.1. *R. oryzae* ve *T. atroviride*'nin pirinadaki mikrobiyal gelişimlerinin incelenmesi

Farklı başlangıç pH ları (5, 6 ve 7 pH) denenerek *R. oryzae* ile yapılan çalışmalarda başlangıç pH'sı 5 olan pirina solüsyonunda *R. oryzae* gelişiminin daha iyi ve hızlı olduğu belirlenmiştir. Bu nedenle söz konusu pH'da pirinada *R. oryzae* gelişimi ve aroma üretme potansiyeli ele alınmış ve *T. atroviride* ile karşılaştırması yapılmıştır.

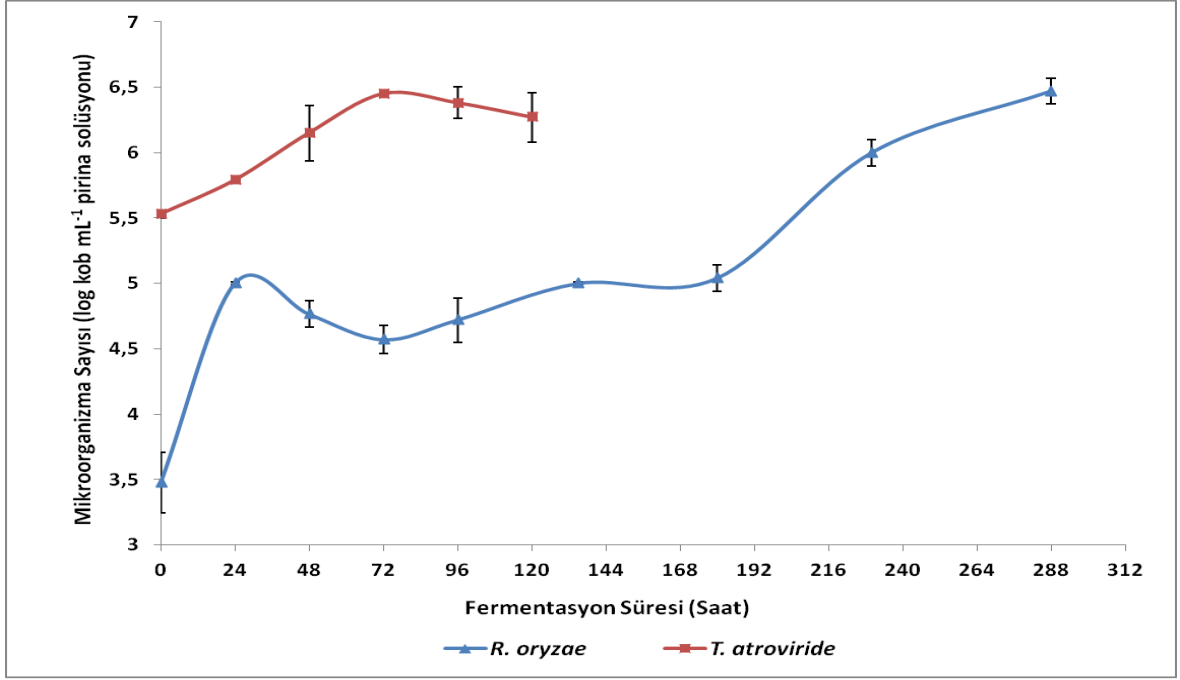
R. oryzae ve *T. atroviride* ile erlen düzeyinde gerçekleştirilen fermentasyonlarda belirlenen hücre sayıları Çizelge 4.10'da verilmiştir. Yapılan varyans analizi sonucunda pirinada mikrobiyal gelişimin fermentasyon süresi ve mikroorganizma çeşidine bağlı olarak değişiklik gösterdiği belirlenmiştir (P=0.04).

Çizelge 4. 10. Pirinada *R. oryzae* ve *T. atroviride*'nin erlen düzeyinde gelişimleri

Fermentasyon süresi (saat)	Hücre sayısı Ortalama±S.E (log kob mL ⁻¹ pirina solüsyonu)	
	<i>R. oryzae</i>	<i>T. atroviride</i>
0	5.92±0.08 ^{Ba}	6.62±0.04 ^{Ca}
24	6.76±0.65 ^{ABa}	6.38±0.08 ^{Ea}
48	7.65±0.01 ^{Aa}	6.47±0.01 ^{Db}
72	6.69±0.01 ^{ABb}	7.69±0.01 ^{Aa}
120	6.68±0.01 ^{ABa}	7.30±0.29 ^{Ba}
168	6.83±0.04	-
216	6.69±0.01	-
288	6.84±0.03	-
<i>P değeri</i>	0.04	

^{A-E} Aynı mikroorganizma çeşidinde farklı büyük harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemlidir (P<0.05), ^{a-b} Aynı fermentasyon süresinde farklı küçük harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemlidir (P<0.05), kob: koloni oluşturan birim, SE: standart hata, -Mikrobiyal sayım alınmamıştır.

120 saat fermentasyon boyunca pirinada *T. atroviride*'nin hücre sayısında maksimum 1.07 log'luk bir artışın olduğu, *R.oryzae*'nin hücre sayısında ise maksimum 1.73 log'luk bir artışın meydana geldiği belirlenmiştir. *T. atroviride*'nin mikrobiyal gelişiminin durağan faza 72 saat sonunda geçtiği, *R. oryzae*'nin ise mikrobiyal gelişiminin *T. atroviride*'ye göre daha hızlı olduğu ve gelişiminin durağan faza 48 saat sonunda geçtiği tespit edilmiştir. Ayrıca, *R. oryzae* ile pirinanın fermentasyonunda 72 saatten sonra 288 saatlik fermentasyon süresinin tamamlanmasına kadar hücre sayısında önemli bir değişim olmadığı belirlenmiştir (P≤0.05).



Şekil 4.3 Pirinada biyoreaktör koşullarında *T. atroviride* ve *R. oryzae*'nin gelişimleri

C. tropicalis ve *T. delbrueckii* ile biyoreaktör düzeyinde gerçekleştirilen fermentasyonda gözlemlenen mikrobiyal gelişimler Şekil 4.2'de gösterilmiştir. Şekil 4.2 incelendiğinde, erlen düzeyinden farklı olarak biyoreaktör düzeyinde *R. oryzae*'nin gelişiminin fermentasyon boyunca iki farklı büyüme hızı ile devam ettiği görülmektedir. Buna göre *R. oryzae*'nin hücre sayısı artışının fermentasyonun ilk 24 saatinde gerçekleştiği ve bu süre sonunda *R. oryzae* gelişiminin fermentasyonun 120. saatine kadar durağan fazda seyrettiği belirlenmiştir. Bu durumda maksimum hücre sayısı artışının 1.53 log olduğu belirlenmiştir. 120 saatlik fermentasyondan sonra, *R. oryzae*'nin hücre sayısında yeniden bir artışın meydana geldiği tespit edilmiştir. Bu durumda ise hücre sayısı artışının 1.47 log olduğu belirlenmiştir. Diğer taraftan, hücre sayısı artışının fermentasyonun 72. saatine kadar devam ettiği ve bu süre sonunda *T. atroviride*'nin gelişiminin durağan faza geçtiği belirlenmiştir. Ayrıca *T. atroviride*'nin maksimum hücre sayısı artışının ise 0.92 log olduğu tespit edilmiştir. Biyoreaktör düzeyinde fermentasyon boyunca *R. oryzae*'de görülen iki farklı zamandaki hücre artışının fermentasyon ortamındaki besin elementlerinin kademeli olarak tüketilmesinden kaynaklandığı düşünülmektedir. İlk olarak gözlemlenen durağan fazda *R. oryzae* tarafından üretilen bazı ikincil metabolitlerin (enzim ve organik asitler) pirinada bulunan bazı besin öğelerini parçalayarak daha kolay metabolize hale getirdiği ve böylece ikinci bir üreme fazının teşvik edilmesinin gerçekleştiği de düşünülebilir (nee'Nigam ve ark., 2009).

Jin ve ark., (2005) yaptıkları bir çalışmada patates, buğday nişastası, mısır ve ananas işletme atık sularının iki farklı *R. oryzae* türü ile fermentasyonu sonucu laktik asit üretimini incelemişlerdir. Çalışma sonucunda, tüm gelişme ortamlarında *R. oryzae* FB 30617 ve FB 2062'nin hücre biyokütlesi artışlarının fermentasyonun 4-12. saatleri arasında hızlı bir şekilde olduğu, her iki mikroorganizmanın da mikrobiyal gelişiminin durağan faza fermentasyonun 20. saatinde girdiği gözlenmiştir. Aynı *R. oryzae* cinsleri ile patates nişastası üretiminde ortaya çıkan atık suyun fermentasyonundan laktik asit üretiminin araştırıldığı diğer bir çalışmada ise, her iki küf için biyokütle artışının fermentasyonun 12. saatine kadar devam ettiği, *R. oryzae* FB 2062 için 12 saat fermentasyon süresi sonunda biyokütlenin kademeli olarak azaldığı belirlenmiştir. *R. oryzae* FB 36017 için ise biyokütle artışının fermentasyonun 12-36. saatlerinde durağan olduğu belirtilmiştir (Huang ve ark.,2005). Her iki çalışmada elde edilen bulgular incelendiğinde, çalışmamızda *R. oryzae* için elde edilen durağan faza geçiş süresinin daha uzun olduğu görülmektedir. Bu durumun kullanılan kültür ortamının ve fermentasyon koşullarının farklı olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Her iki küfün mikrobiyal üreme kinetiği spesifik üreme hızı (μ) ve ikilenme süresi (t_d) açısından incelendiğinde, 0-120 saat fermentasyon süresinde *R. oryzae* için μ değerinin 0.146 sa.^{-1} , ikilenme süresinin (t_d) ise 4.76 sa. olduğu belirlenmiştir. *T. atroviride* için μ değeri 0.0299 sa.^{-1} (t_d) değeri 23.17 sa olarak hesaplanmıştır. Çalışmamızda hem *R. oryzae* hem de *T. atroviride* için bulunan spesifik üreme hızlarının literatür değerleri ile genel olarak uyumlu olduğu görülmektedir. Ancak, fermentasyon koşulları ve kullanılan kültür ortamına bağlı olarak hem *Rhizopus* hem de *Trichoderma* küfleri için spesifik üreme hızlarının çok fazla değişkenlik gösterdiği saptanmıştır. Naranong ve Poocharoen, (2001) topyaka küspesi nişastasının karbon kaynağı olarak kullanıldığı besiyerinde $30 \text{ }^\circ\text{C}$ 'de geliştirilen *R. oryzae* NRRL 395'in biyoreaktör koşullarında karıştırma hızı ve havalandırma miktarına bağlı olarak spesifik üreme hızının 0.030 sa.^{-1} ile 0.054 sa.^{-1} arasında değiştiğini belirlemişlerdir. Soccol ve ark., (1993) ise farklı oranlarda su ve mineral tuz solüsyonu ile karıştırılmış topyaka küspelerinde geliştirilen *R. arrhizus* MUCL 28168 için spesifik üreme hızının 0.049 sa.^{-1} ile 0.131 sa.^{-1} arasında değiştiği saptanmıştır. Enzim ve asit muamelesi uygulanmış topyaka küspesinden *Rhizopus oryzae* ile laktik asit ve etanol üretiminin araştırıldığı başka bir çalışmada (Thongchul ve ark., 2010), spesifik üreme hızının topyaka küspesine uygulanan işleme ve *R.oryzae*'nin serbest ve immobilize olmasına bağlı olarak 0.045 sa.^{-1} ile 0.061 sa.^{-1}

arasında değiştiği belirlenmiştir Yapılan diğer bir çalışmada ise, şeker pancarı ks pesi ve pirinç atığında geliştirilen *Trichoderma reesei* için spesifik üreme hızı sırasıyla 0.120 sa.⁻¹ ve 0.100 sa.⁻¹ olarak belirlenmiştir (Muthuvelayudham ve Viruthagiri, 2006). Felse ve Panda (2000) kitinden *T. harzanium* ile kitinaz üretimini inceledikleri çalışmada, söz konusu mikroorganizma için spesifik büyüme hızının fermentasyon ortamının karıştırılma hızına bağlı olarak 0.02 1/sa. ile 0.05 sa.⁻¹ arasında değiştiğini belirlemişlerdir.

Sonuç olarak, hem *T. atroviride* hem de *R. oryzae* 'nın pirinada erlen ve biyoreaktör düzeyinde mikrobiyal gelişimlerine ait elde ettiğimiz hücre sayısı artışı ve durağan faza geçiş süresi incelendiğinde her iki kf için hücre sayısı artışının yapılan diğer çalışmalardaki sonuçlarla benzerlik gösterdiği, ancak durağan faza geçiş sürelerinin daha uzun olduğu belirlenmiştir. Biyoreaktör üretimleri incelendiğinde *R. oryzae* 'nın fermentasyon süresince iki adet gelişme fazının olduğu ve pirina ortamında *T. atroviride* 'den daha hızlı geliştiği bulunmuştur. Bununla birlikte, *R. oryzae* 'nın hücre sayısı artışının *T. atroviride* 'ye göre daha yüksek olduğu saptanmıştır.

4.4.2. *R. oryzae* ve *T. atroviride*'nin pirinada ürettiği aroma maddelerinin incelenmesi

Çalışmada erlen düzeyinde *T. atroviride* ve *R. oryzae* ile fermente edilmiş pirinada toplam 27 adet aroma bileşeni belirlenmiştir. Fermente pirinada GCO ile belirlenen aroma aktif bileşenler ve yoğunlukları izelge 4.11 'de yer almaktadır.

Çizelge 4.11 incelendiğinde, genel olarak pirinada yoğunlukları yüksek olarak belirlenen aroma bileşenleri bilinmeyen 1 (kirli ,asit), izovalerik asit (kirli), bilinmeyen 2 (metalik), stiren (kirli,), o-kresol (ıslak havlu), guaiakol (yanık şeker), (E), 2-nonenal (saman), (E,Z)-2,6-nonadienol (saman), 2,4 nondienal (kızarmış yağ), (E,E)-2,4-dekadienal (yanık, kızarmış yağ) olarak belirlenmiştir. *T. atroviride* ile fermente edilmiş pirina örneklerinde sadece bir adet aroma aktif bileşenin yoğunluğu kontrol grubu pirina örneklerinden daha yüksek olduğu bulunmuştur. Yoğunluğu artan bu aroma maddesi 1-okten-3-ol olarak tespit edilmiştir. Ayrıca, kontrol grubunda yüksek yoğunlukta belirlenen diasetil (tereyağı), pentanon (yağ benzeri), bilinmeyen 1 (kirli asit), izovalerik asit (kirli asit), metiyonal (haşlanmış patates), o- kresol (ıslak kirli havlu), fenil etil alkol (gl), karveol (nane) ve (E,E)-2-4-dekadienal fermente örneklerde tespit edilmemiştir.

Çizelge 4.11. *T. atroviride* ve *R. oryzae* ile fermente edilmiş pirinada belirlenen aroma aktif bileşenler

RI ^a	Uçucu Bileşen	Aroma Tanımı	Belirleme yöntemi	Aroma yoğunluğu (ortalama±SE)			
				Kontrol ¹	<i>T. atroviride</i> ^b	Kontrol ²	<i>R. oryzae</i> ^c
549	Diasetil	Tereyağı	RI,O	2.75±0.25	T.E	1.25±0.25	0.60±0.10
734	Pentanon	Yağ benzeri	RI,MS,O	1.0±0.10	T.E	T.E	1.50±0.50
797	Hekzanal	Çimen	RI,MS,O	2.75±0.25	1.25±0.75	3.0±1.0	T.E
855	Bilinmeyen1	Kirli asit	RI,O	3.75±0.75	T.E	5.50±0.50	5.25±1.25
869	Izovalerik asit	Ekşi, meyvemsi	RI,O	3.0±0.10	T.E	5.50±0.50	4.75±0.25
898	Metiyonal	Haşlanmış patates	RI,O	3.5±0.50	3.75±1.75	4.50±0.50	T.E
928	2-asetil-1-pirolin	Patlamış mısır	RI,O	0.50±0.50	2.0±0.10	T.E	0.50±0.50
975	Bilinmeyen 2	Metalik	RI,O	8.0±0.50	8.5±0.50	5.75±0.25	T.E
984	1-okten-3-ol	Mantar	RI,MS,O	T.E	10.5±0.50	T.E	3.0±0.10
999	Hekzil asetat	Kolonya/ferah	RI,O	4.0±0.10	1.5±1.50	4.50±0.50	0.75±0.25
1035	Limonen	Sitrus,nane	RI,MS,O	1.0±0.10	T.E	1.75±0.25	3.00±1.0
1048	Benzenasetaldehit	Gül/pudra	RI,MS,O	3.75±1.25	3.5±1.50	2.50±0.50	2.0±2.0
1059	Bilinmeyen 3	Bitkisel yağ	RI,O	2.50±0.50	2.0±2.0	2.0±1.0	2.0±0.10
1072	o-kresol	Kirli ıslak havlu	RI,MS,O	3.50±0.50	T.E	1.0±1.0	1.50±0.50
1089	Guaiakol	Yanık şeker	RI,MS,O	6.0±0.10	6.5±0.10	T.E	T.E
1120	Bilinmeyen 4	Ekşi	RI,O	1.25±1.25	2.0±1.0	3.0±0.10	0.50±0.50
1138	(E)-2-nonenal	Saman	RI,MS,O	3.50±0.50	4.0±2.50	5.0±0.10	2.0±1.0
1145	Fenil etil alkol	Gül/çiçek	RI,MS,O	6.0±0.10	T.E	2.0±0.10	3.0±0.10
1152	(Z)-2-nonenal	Salatalık	RI,MS,O	6.0±0.10	4.0±0.50	2.0±2.0	1.0±0.10
1157	(E,Z)-2,6-nonadien-1-ol	Saman	RI,MS,O	6.0±0.10	4.5±0.50	3.50±0.50	T.E
1191	Karveol	Ferahlatıcı, nane	RI,MS,O	3.5±0.10	T.E	T.E	T.E
1182	Naftalin	Kirli, naftalin	RI,MS,O	1.5±0.50	0.5±0.50	0.50±0.50	T.E
1215	2,4-nonadienal	Yanık kızarmış yağ	RI,MS,O	4.0±0.01	2.0±0.10	5.75±0.25	1.50±0.50
1243	Karveon	Lakton/tatlı	RI,MS,O	2.5±0.50	2.0±0.10	T.E	T.E
1262	Geraniol	Nane/kişniş	RI,MS,O	2.5±0.50	1.0±0.10	0.50±0.50	1.0±1.0
1319	(E,E)-2,4-dekadienal	Yanık kızarmış yağ	RI,MS,O	4.75±0.25	T.E	T.E	T.E
1379	α-kubeben	Tatlı, bitki	RI,MS,O	1.40±0.60	2.0±0.10	3.0±1.0	T.E

^aRI: Alıkonma indeksi HP-5 MS kolonda hesaplanmıştır., ^b120 saat fermentasyon sonunda belirlenen aroma yoğunluğu, ^c135 saat fermentasyon sonunda belirlenen aroma maddelerinin yoğunluğu, ¹doğal pH'da fermente olmamış pirina,²7 pH'ya sahip fermente olmamış pirina, SE: standart hata, T.E: Tespit edilmedi, MS:kütle spektrometresi, O: Koku

Ayrıca, metiyonal (haşlanmış patates), benzenasetaldehit (gül), bilinmeyen 3 (bitkisel yağ), guaiakol (yanık şeker) ve α -kubeben (tatlı, bitki)'in yoğunluklarının hem kontrol hem de fermente pirina örneklerinde benzer olduğu belirlenmiştir. *R. oryzae* ile fermente edilen pirina küspeleri incelendiğinde ise sadece limonen (sitrus, limon), pentanon (yağ benzeri) ve fenil etil alkolünün yoğunluğunun arttığı belirlenmiştir. Bununla birlikte, kontrol grubu pirina örneklerinde belirlenen diğer aroma maddelerinin yoğunluklarının genel olarak *R. oryzae* ile fermente olmuş pirina örneklerinden daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Kontrol grubu pirina örneklerinde belirlenen bilinmeyen 2 (metalik) ve α -kubeben (bitki) *R. oryzae* ile fermente olmuş pirina örneklerinde bulunmadığı belirlenmiştir (Çizelge 4.11).

Erlen düzeyinde *T. atroviride* ile fermente olmuş pirinada belirlenen aroma bileşenlerinden miktarı artanlar Çizelge 4.12' de gösterilmiştir. Çizelge 4.12 incelendiğinde, GCO analizi ile *T. atroviride* ile fermente olmuş pirina örneklerinde belirlenmemesine rağmen 2-oktenolun (yanmış kirli) miktarının da fermentasyon süresince arttığı GC-MS analizi ile belirlenmiştir. Hem 1-okten-3-ol hem de 2-oktenol kontrol grubu pirina örneklerinde belirlenmezken, *T. atroviride* ile fermente olmuş örneklerde sırasıyla 330.75 $\mu\text{g kg}^{-1}$ ve 25.65 $\mu\text{g kg}^{-1}$ düzeyinde saptanmıştır.

Çizelge 4.12. *T. atroviride* ile fermente edilmiş pirinada GC-MS ile belirlenen bazı aroma maddeleri

Aroma Maddesi	Aroma Tanımı	Ortalama Miktar ^a ±S.E ($\mu\text{g kg}^{-1}$ pirina solüsyonu)	
		Kontrol	<i>T. atroviride</i>
1-okten-3-ol	Mantar	T.E	330.75±22.54
2-oktenol	Yanmış kirli	T.E	25.65±0.96

^a120 saat fermentasyon sonunda belirlenen aroma maddelerinin oransal bolluğu, T.E: tespit edilemedi. S.E: standart hata.

Erlen düzeyinde *R. oryzae* ile fermente olmuş pirinada belirlenen aroma bileşenlerinden miktarı artan aroma maddeleri Çizelge 4.13' de gösterilmiştir. Yapılan varyans analizi sonucunda, *R. oryzae* tarafından pirinada üretilen d-limonen (sitrus, limon) ve fenil etil alkol (gül) ün miktarlarının 72 saat fermentasyon süresince önemli düzeyde artış gösterdiği belirlenmiştir. Buna göre her iki aroma maddesinin kültür ortamındaki maksimum miktarları 72 saat fermentasyon süresinde sırasıyla 185.56 $\mu\text{g kg}^{-1}$ ve 13.91 $\mu\text{g kg}^{-1}$ olarak tespit edilmiştir.

Çizelge 4.13. *R.oryzae* ile fermente edilmiş pirinada GC-MS ile belirlenen bazı aroma maddeleri

Aroma Maddesi	Aroma Tanımı	Ortalama Miktar ^a ±S.E (µg kg ⁻¹ pirina solüsyonu)		
		Kontrol ^a	72 Saat	288 Saat
Pentanon	Tatlı	12.29±8.72	14.16±10.04	24.28±3.30
Metoksi-fenil-oksime	Tatlı	61.74±29.17	64.95±29.73	92.26±3.32
D-limonen	Sitrus, limon	40.13±1.05 ^B	185.56±17.47 ^A	17.22±1.60 ^B
Fenil etil alkol	Gül	1.35±0.96 ^B	13.91±6.57 ^A	11.71±8.30 ^A

^{A-B}Aynı uçucu bileşende farklı büyük harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemlidir (P≤0.05).
^a72saat fermentasyon sonunda mikroorganizma inokulasyon yapılmamış pirinada belirlenen aroma maddelerinin oransal bolluğu, SE: standart hata

R. oryzae tarafında üretilen pentanon (tatlı) ve metoksi fenil oksime (tatlı) 'nin fermentasyon süresince belirlenen miktarları arasında istatistiksel olarak önemli bir fark bulunmazken (P≤0.05), pratikte her iki aroma maddesinin miktarlarının fermentasyon süresince artmıştır. Buna göre, pentanon ve metoksi fenil oksime'nin kültür ortamındaki maksimum miktarları sırasıyla 24.28 µg/kg ve 92.26 µg/kg olarak tespit edilmiştir (Çizelge 4.13). Pratikte fermentasyon süresince her iki aroma maddesinin miktarında bir artış gözlenmesine rağmen, istatistiksel olarak önemli bir fark bulunmamasının *R. oryzae* ile yapılan fermentasyon denemelerinin ve/veya analiz tekerrürleri arasındaki standart hatanın büyük olmasından kaynaklanmış olabilir.

T. atroviride ve *R. oryzae* tarafından pirinada üretilen aroma maddelerinin biyoreaktör düzeyindeki değişimleri Çizelge 4.14 ve 4.15'de ayrı ayrı verilmiştir. Yapılan varyans analizi sonucunda her iki küf tarafından üretilen aroma maddelerinin miktarlarının fermentasyon süresine bağlı olarak değişim gösterdiği belirlenmiştir (P≤0.05).

T. atroviride tarafından pirinada üretilen aroma maddelerinin biyoreaktör düzeyinde değişimi incelendiğinde (Çizelge 4.14), hem 1-okten-3-ol'ün hem de 2-oktenol'un kültür ortamındaki miktarlarının 48 saat fermentasyon süresince arttığı belirlenmiştir. 48 saat fermentasyon süresinden sonra her iki aroma maddesinin miktarının önemli düzeyde azaldığı belirlenmiştir (P≤0.05). 1-okten-3-ol ve 2-oktenol'un kültür ortamında belirlenen maksimum miktarları sırasıyla 423.10 µg kg⁻¹ ve 42.45 µg kg⁻¹ olarak belirlenmiştir.

R. oryzae tarafından pirina üretilen aroma maddelerinin biyoreaktör düzeyindeki değişimi incelendiğinde (Çizelge 4.15), pentanon (tatlı) ve metoksi fenil oksime (tatlı)'nin 72 saatlik fermentasyon süresince mikrobiyal üretiminin olduğu ve bu fermentasyon süresinden sonra kültür ortamında konsantrasyonlarının önemli düzeyde azaldığı belirlenmiştir (P≤0.05). Her iki aroma maddesinin kültür ortamındaki maksimum

miktarları sırasıyla 19.46 $\mu\text{g kg}^{-1}$ ve 34.44 $\mu\text{g kg}^{-1}$ olarak belirlenmiştir.

R. oryzae tarafından üretilen d-limonen ve fenil etil alkolün ise 180 saatlik fermentasyon süresince üretiminin devam ettiği tespit edilmiştir. 180 saatlik fermentasyon süresinden sonra ise her iki aroma maddesinin miktarlarının önemli düzeyde azaldığı bulunmuştur ($P \leq 0.05$). D-limonen (sitrus, limon) ve fenil etil alkolün (gül) maksimum miktarları sırasıyla 87.73 $\mu\text{g kg}^{-1}$ ve 11.25 $\mu\text{g kg}^{-1}$ olarak belirlenmiştir. *R. oryzae* ile yapılan erlen ve biyoreaktör düzeyinde elde edilen bulgular karşılaştırıldığında biyoreaktör düzeyinde üretilen aroma maddelerinin miktarlarının erlen düzeyinden daha düşük olduğu görülmektedir. Bu durumun, hem *R. oryzae* gelişiminin biyoreaktör düzeyinde yavaş seyretmesi ve böylece aroma maddesi üretiminin yavaş olmasından, hem de mikrobiyal gelişim için biyoreaktöre verilen hava ile üretilen aroma maddelerinin ortamdan kaçmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Aroma maddelerinin verimlilik değeri esas olarak bir aroma maddesinin maksimum değerinde olduğu fermentasyon süresi baz alınarak, birim kültür ortamında birim saatte üretilen miktarını ifade etmektedir. Çizelge 4.16'da biyoreaktör ortamında *T. atroviride* ve *R. oryzae* tarafından üretilen aroma maddelerinin verimlilik değerleri gösterilmiştir. Çizelge 4.16 incelendiğinde, biyoreaktör düzeyinde üretimlerinde hesaplanan en yüksek verimlilik değerine sahip aroma maddesi 1-okten-3-ol'dur. Söz konusu aroma maddesinin verimlilik değeri 8.81 $\mu\text{g kg}^{-1} \text{sa.}^{-1}$ olarak hesaplanmıştır. Pirinada *R. oryzae* tarafından üretilen aroma maddeleri olan d-limonene ve metoksi fenol oksime'nin verimlilik değerleri ise birbirlerine çok olduğu belirlenmiştir. Her iki aroma maddesinin verimlilik değerleri sırasıyla 0.47 $\mu\text{g/kg sa.}^{-1}$ ve 0.45 $\mu\text{g kg}^{-1} \text{sa.}^{-1}$ olarak tespit edilmiştir.

Çizelge 4.14. Biyoreaktör koşullarında *T. atroviride* ile fermente edilmiş pirinada GC-MS ile belirlenen bazı aroma maddeleri

Aroma Maddesi	Aroma Tanımı	Ortalama Miktar±S.E (µg kg ⁻¹ pirina solüsyonu) ^a					
		Fermentasyon Süresi (saat)					
		0	24	48	72	96	120
1-okten-3-ol	Mantar	T.E	80.84±6.47 ^D	423.10±15.06 ^A	308.03±5.55 ^{CD}	358.45±1.37 ^{AB}	333.40±2.49 ^{BC}
2-oktenol	Yanık, kirli	T.E	4.33±0.42 ^C	42.45±0.33 ^A	30.57±1.10 ^{BC}	37.95±1.31 ^{AB}	30.76±1.79 ^{BC}

^{A-D}Fermentasyon süresince farklı büyük harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemlidir (P≤0.05). ^a120 saat fermentasyon sonunda belirlenen aroma maddelerinin oransal bolluğu. T.E: tespit edilemedi. SE: standart hata

Çizelge 4.15. Biyoreaktör koşullarında *R. oryzae* ile fermente edilmiş pirinada GC-MS ile belirlenen bazı aroma maddeleri

Aroma Maddesi	Aroma Tanımı	Ortalama Miktar±S.E (µg kg ⁻¹ pirina solüsyonu) ^a							
		Fermentasyon Süresi (saat)							
		0	12	24	72	135	180	230	288
Pentanon	Tatlı	0.37±0.21 ^C	15.09±2.21 ^A	19.16±0.01 ^A	19.46±0.01 ^A	9.05±0.01 ^B	9.76±0.01 ^B	1.75±0.26 ^C	1.44±0.01 ^C
Metoksi fenil oksime	Tatlı	1.92±0.01 ^D	3.61±1.42 ^D	20.55±0.01 ^B	34.44±0.01 ^A	18.24±0.01 ^{BC}	13.79±0.01 ^C	15.69±0.01 ^{BC}	14.11±0.01 ^C
D-limonen	Sitrus, limon	2.92±0.01 ^E	2.53±0.57 ^E	7.26±2.01 ^{CD}	8.94±0.01 ^C	30.13±0.01 ^B	87.73±0.01 ^A	0.67±0.01 ^{CD}	0.70±0.01 ^{DE}
Fenil etil alkol	Çiçek, gül	0.18±0.18 ^D	1.33±0.16 ^D	4.87±0.90 ^C	5.08±0.01 ^C	7.33±0.01 ^B	11.25±0.01 ^A	0.14±0.01 ^C	0.12±0.01 ^D

^{A-E}Fermentasyon süresince farklı büyük harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemlidir (P≤0.05). ^a288 saat fermentasyon boyunca belirlenen aroma maddelerinin oransal bolluğu. T.E: tespit edilmedi. S.E: standart hata

Çizelge 4.16. *T. atroviride* ve *R. oryzae* tarafından pirinada üretilen aroma maddelerinin verimlilikleri

Aroma Maddesi	Ortalama ^a ±S.E (µg kg ⁻¹ pirina solüsyonu sa. ⁻¹)	
	<i>T. atroviride</i>	<i>R. oryzae</i>
1-okten-3-ol	8.81±0.31	-
2-oktenol	0.88±0.01	-
2-pentanon	-	0.26±0.01
Metoksi fenil oksime	-	0.45±0.01
d-limonen	-	0.47±0.01
Fenil etil alkol	-	0.06±0.01

^aAroma maddesinin maksimum miktarının belirlendiği fermentasyon süresine göre hesaplanmıştır. S.E: standart sapma, verimlilik değeri hesaplanmamıştır.

R. oryzae ve *T. atroviride* kullanılarak tarımsal atıklardan özellikle aroma maddesi üretiminin incelendiği çalışmalar yok denecek kadar azdır. Bu kapsamda, literatürde sadece Christen ve ark., (2000) ve Bramorski ve ark., (1998) tarafından *R. oryzae* ile yapılan iki adet çalışmaya rastlanmıştır. Christen ve ark., (2000), *R. oryzae* ATCC 34612 türünü kullanarak tapyoka küspesi, elma posası, soya fasulyesi, amaranth tohumu ve soya fasulyesi yağı gibi farklı tarımsal atıkların fermente edilmesiyle asetaldehit (yoğurt), etil alkol (tatlı), 1-propanol (keskin), etil asetat (ananas), etil propiyonat (üzüm) ve izoamil alkol (muz) gibi aroma maddelerinin üretilebileceğini belirlemişlerdir. Benzer şekilde, Bramorski ve ark., (1998) ise farklı oranlarda karıştırılan tapyoka küspesi, elma posası, amaranth, soya fasulyesi keki ve soya fasulyesi yağının *R. oryzae* ile fermente edilmesiyle etil alkol, asetaldehit, 1-propanol, etil asetat, etil propiyonat ve izoamil alkol (muz) gibi fermente ve meyvemsi aroma veren bileşenlerin oluştuğunu saptamışlardır. Aynı çalışmada *R. oryzae*'nin amaranth ve mineral tuz solüsyonu içeren ortamda toplam uçucu madde konsantrasyonunun diğer ortamlara göre daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Diğer taraftan Thongchui ve ark., (2010) hidrolize tapyoka küspesinin *R. oryzae* ile fermente edilmesiyle hem laktik asit hem de etil alkol üretilebileceğini belirtmişlerdir. Jelen ve ark., (2013), *Rhizopus* cinsine ait diğer bir tür olan *R. oligosporus* ile tempeh (soyadan yapılan fermente bir ürün)'in fermentasyon süresince 2-bütanol, izoamil alkol, hekzanal, 3-(metilotiyo) propanal, fenil asetaldehit gibi aroma maddelerinin üretildiğini belirlemişlerdir. Literatürde (Jelen ve ark., 2013; Thongchui ve ark., 2010) *R. oryzae* ve *R. oligosporus* ile üretilen aroma maddeleri incelendiğinde, bu çalışmada farklı olarak pirinanın *R. oryzae* ile fermente edilmesiyle yüksek miktarda d-limonen üretiminin gerçekleştiği belirlenmiştir. D-limonen meyvelerde ve bitkisel kaynaklarda bulunan bir

aroma maddesi olup gıda, parfüm ve kozmetik sanayinde yoğun bir şekilde kullanımı mevcuttur. Limonen monosiklik monoterpen olup özellikle sitrus grubu meyvelerin esansiyel yağlarının en önemli bileşenidir. Sitrus meyvelerinin kabuklarının distilasyonu ile limonenin en basit formu olan d-limonen üretilmektedir. Ancak bu üretimde temel olarak en büyük sorun portakal kabuğundan gelen kirlilik olarak nitelendirilen ve diğer bir monoterpen olan mirsen (myrcen) bileşeni (üzüm şırası, baharat, balzamik) ile diğer iz miktardaki monoterpenlerin oluşmasıdır. D-limonen üretiminde mirsen bileşeninin uzaklaştırılması ise tetrakis (4-metil piridin) ditiyosiyonatnikel ile mümkün olurken, diğer iz monoterpenler %0.5'lik NaOH ile giderilmektedir. Distilasyon ile limonen üretiminde farklı kirliliklerin olması, elde edilen (% 95 oranında saflık) limonenin eşik değerinin (threshold) farklı olmasına neden olmaktadır. Limonenin farklı enantiyomerinin (rasemik karışım) olması da önemli konulardan bir tanesidir. Çünkü her bir enantiyomerin özellikleri farklıdır. Örneğin (R)-(+)-limonen (d-limonene) portakal kabuğu, taze sitrus aroması verirken eşik değeri 200ppb dir. Ancak, (S)-(-) limonen (S-limonene) çok keskin nefis-terepentin yağı aroması vermekte ve eşik değeri 500 ppb olmaktadır (Anonim 2012; Thomas ve Bessiere 1989). Distilasyon veya kimyasal yolla limonenin üretilmesi konusunda yukarıda bahsedilen enantiyomer durumu ve distilasyon ile üretimde kirlilik durumunun doğal sonucu olarak standart ve yüksek saflıkta istenen formda limonen üretimi kısıtlanabilmektedir.

Pirinanın *T. atroviride* ile fermente edilmesiyle yüksek miktarda oluşan 1-okten-3-olün ise özellikle çoklu doymamış yağ asitlerinin otooksidasyonu ve/veya enzimatik oksidasyonu ile üretildiği bildirilmektedir. Özellikle enzim kataliz oksidasyonda, lipoksigenaz enziminin linoleik asidi okside etmesiyle oluşan bileşiklerin hidroperoksit liyaz ve alkol oksiredüktaz enzimleri ile parçalanması veya halkalı yapıya getirilmesiyle oluştuğu bilinmektedir. Ancak, mikrobiyal olarak üretilen ve mantar aroması veren 8 karbonlu bileşiklerin özellikle linoleik asidin lipoksigenaz enzimi yerine hem dioksigenaz enzimi ile oksidasyonu ve daha sonrasında oluşan bileşiklerin 10 hidroksiperoksit enzimi ile parçalanması ile oluştuğu ifade edilmektedir. Söz konusu aroma maddesinin kimyasal sentezi ise akrolein (2-propenal) ve 1-iodopentan veya vinil magnezyum bromid ve hekzenal'ın Grignard tipi reaksiyona sokulması ile elde edilmektedir. Bu tip reaksiyonlarda yine paladyum, lityum alüminyum hidroksi ve titanose diklorit gibi kompleks ve pahalı katalizörler kullanılmaktadır (Combet ve ark., 2006; Wnuk ve ark., 1983). Sonuç olarak, hem d-limonen hem de 1-okten-3-ol gibi aroma maddelerinin gıda veya diğer sanayi

kollarında kullanılmak üzere biyoteknolojik olarak kimyasal bir reaktif kullanılmadan doğal bir şekilde pirinada mikrobiyal fermentasyon ile üretilme potansiyellerinin olabileceği düşünülmektedir.

4.4.3. *T. atroviride* ve *R. oryzae* ile fermente edilmiş pirinanın duyuşsal özellikleri

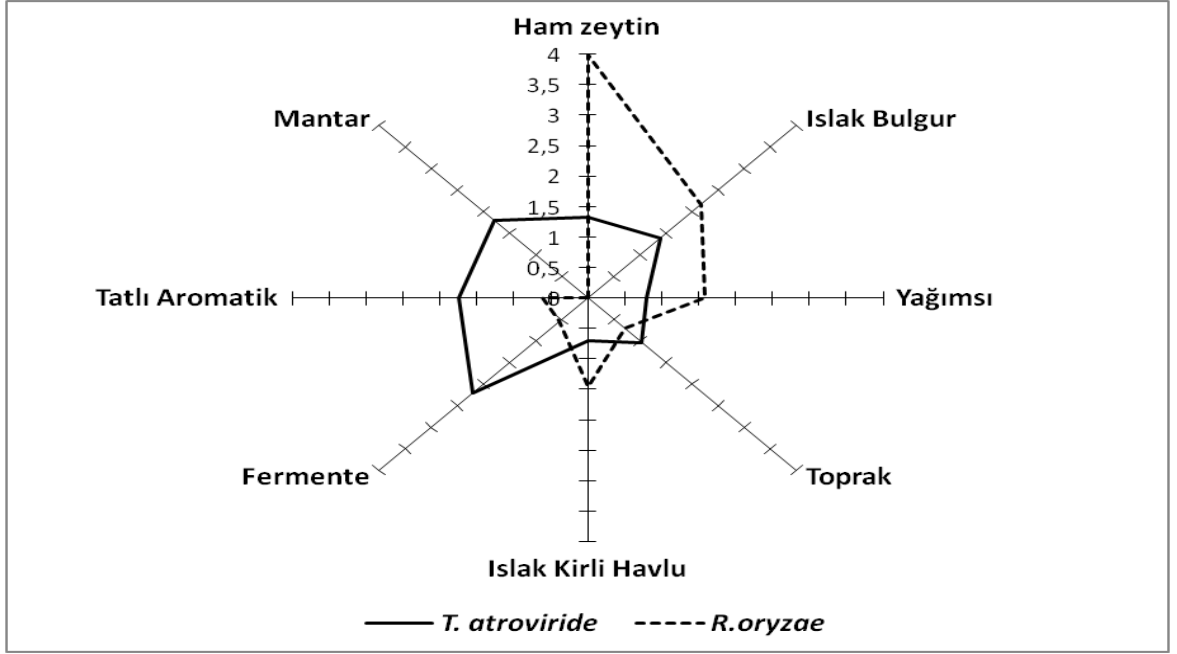
T. atroviride ve *R. oryzae* ile fermente edilmiş pirinanın duyuşsal özellikleri 12 adet duyuşsal tanımlayıcı terim ile ortaya konmuştur. Söz konusu duyuşsal tanımlayıcı terimler Çizelge 4.17’de gösterilmiştir. Yapılan varyans analizi sonucunda fermente ve mantar aroması açısından *T. atroviride* ile fermente edilmiş pirina örnekleri ve kontrol grubu pirina örnekleri arasında önemli farklılıkların olduğu belirlenmiştir. Panelistler tarafından *T. atroviride* ile fermente edilmiş pirina örneklerinde fermente ve mantar aroması kontrol grubu pirina örneklerine göre daha yüksek yoğunlukta algılanmıştır (Şekil 4.4, $P \leq 0.05$). Duyusal değerlendirmeler sonucunda *T. atroviride* ile fermente pirina örneklerinde mantar aromasının yüksek yoğunlukta algılanmıştır. GC-MS analizi ile de mantar aromasına sahip 1-okten-3-ol’un miktarı aynı örnekte yüksek bulunmuştur. Diğer taraftan, *R. oryzae* ile fermente edilmiş pirinada belirlenen duyuşsal özelliklerinden sadece ham zeytin aromasının kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu, odun/bitki aromasının ise kontrol grubu örneklerinde daha yoğun algılandığı belirlenmiştir ($P \leq 0.05$).

Çizelge 4.17. *T. atroviride* ve *R. oryzae* ile fermente edilmiş pirinanın duyuşsal özellikleri

Aromatik özellik	Duyusal Puan ^a (Ortalama \pm S.E)					
	Kontrol ¹	<i>T. atroviride</i> ^a	<i>P</i> değeri	Kontrol ²	<i>R. oryzae</i> ^b	<i>P</i> değeri
Ham zeytin	2.60 \pm 1.40	1.32 \pm 0.20	0.457	1.95 \pm 0.29 ^B	3.99 \pm 0.10 ^A	0.022
Islak Bulgur	1.50 \pm 0.30	1.40 \pm 0.10	0.853	2.62 \pm 0.04	2.16 \pm 0.33	0.306
Yağımsı	1.50 \pm 0.70	0.80 \pm 0.10	0.448	1.04 \pm 0.45	1.58 \pm 0.10	0.359
Odun/bitki	1.0 \pm 0.04	1.20 \pm 0.10	0.089	2.16 \pm 0.10 ^A	1.33 \pm 0.10 ^B	0.010
Tatlı/ransit	0.90 \pm 0.03	0.80 \pm 0.07	0.312	2.25 \pm 1.0	1.29 \pm 0.30	0.455
Toprak	0.70 \pm 0.15	1.03 \pm 0.10	0.199	0.75 \pm 0.08	0.70 \pm 0.20	0.870
Islak kirli havlu	0.70 \pm 0.15	0.70 \pm 0.03	0.940	0.54 \pm 0.45	1.45 \pm 0.20	0.159
Fermente	0.71 \pm 0.28 ^B	2.21 \pm 0.15 ^A	0.042	0.37 \pm 0.37	0.54 \pm 0.45	0.793
Tatlı aromatik	1.20 \pm 0.20	1.75 \pm 0.25	0.204	T.E	0.62 \pm 0.50	0.861
Metalik	0.65 \pm 0.0	0.70 \pm 0.15	0.698	0.54 \pm 0.20	0.62 \pm 0.10	0.764
Mantar	0.20 \pm 0.20 ^B	1.80 \pm 0.10 ^A	0.01	T.E	T.E	-*
Meyvemsi	T.E	T.E	-	1.04 \pm 0.54	0.20 \pm 0.20	0.288

^{A-B}Aynı aromatik özelliğe farklı büyük harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemlidir ($P \leq 0.05$).

^a120 saat fermentasyon sonunda belirlenmiştir, ^b135 saat fermentasyon sonunda belirlenmiştir, ¹doğal pH’da fermente olmamış pirina, ²5 pH’ya sahip fermente olmamış pirina, T.E: Tespit edilmedi, SE: standart hata, **P* değeri hesaplanmamıştır.



Şekil 4.4. *T. atroviride* ve *R. oryzae* ile fermente edilmiş pirinaların bazı duyuşsal özelliklerine ait örümcek ağı diyagramı

4.5. Pirinada Bakteri Fermentasyonu ile Gerçekleştirilen Çalışmalar

Pirinada bakteri fermentasyonu için *Pseudomonas putida* NRRL B-1603, *Pseudomonas fluorescens* NRRL B-252 ve *Cellosimicrobium cellulans* NRRL Y-2381 bakterileri kullanılmıştır. Öncelikle pirinada *Pseudomonas* ve *Enterococcus* türleri ile farklı pH'larda fermentasyon denemeleri gerçekleştirilmiş, ancak pirinada söz konusu mikroorganizmaların mikrobiyal gelişimi gözlenememiştir (Çizelge 4.18).

Çizelge 4.18. Erlen düzeyinde pirinada gelişen *Pseudomonas* türlerine ait sayım sonuçları

Mikroorganizma/ Uygulama	Ortalama±S.E (log kob mL ⁻¹ pirina solüsyonu)				
	Fermentasyon süresi (saat)				
<i>P. putida</i>	0	6	24	48	72
pH 6	7.0±0.01	6.0±0.01	<4	-	<4
pH 7	7.0±0.01	9.30±0.01	<4	-	<4
pH 8	7.0±0.01	7.0±0.01	<4	-	<4
<i>P. fluorescens</i>					
pH 4	7.0±0.01	3.0±0.02	<1	<1	-
pH 6	7.0±0.01	7.60±0.50	<1	<1	-

* Sayım alınmamıştır. kob: koloni oluşturan birim, SE: standart hata

Çizelge 4.19. Pirinada bazı bakteri türlerine ait sayım sonuçları

Mikroorganizma/uygulama	Ortalama±S.E(log kob mL ⁻¹ pirina solüsyonu)			
	Fermentasyon süresi (saat)			
	0	24	48	72
<i>Streptomyces</i> spp.		<3	<1	<1
<i>C. cellulans</i> (asit uygulaması)		-	4.30±0.09	<3
<i>C. cellulans</i> (enzim uygulaması)		-	5.68±0.60	<3
<i>P. putida</i> (enzim uygulaması)	7.0±0.01	-	<3	<1
<i>P. putida</i> (asit uygulaması)		-	<3	<1
<i>P. fluorescens</i> (enzim uygulaması)		-	<3	<1
<i>P. flourescens</i> (asit uygulaması)		-	<3	<1

⁻ Sayım alınmamıştır. kob: koloni oluşturan birim, SE: standart hata

Literatürde bakteriyel aroma üretimleri ile ilgili çalışmalara bakıldığında özellikle *Pseudomonas* cinsi bakterilerin aroma üretme potansiyellerinin çok fazla olduğu bildirilmekte ve çalışmalarda kullanıldığı görülmektedir (Esmaceli ve Hashemi, 2011; Simmonds ve Robinson, 1998; Yamada ve ark., 2007). Bu nedenle, her iki *Pseudomonas* türünün pirinada aroma üretme potansiyelinin değerlendirilmesi için pirinaya hem enzim hem de asit uygulaması yapılarak fermentasyon denemeleri gerçekleştirilmiştir. Diğer taraftan, biyoteknolojik çalışmalarda kullanımı yaygın olan *Streptomyces* spp. ve *C. cellulans* türlerine ait fermentasyon denemeleri de yapılmıştır. Yapılan tüm bakteriyel çalışmalarda mikrobiyal gelişimin ya çok az ya da hiç olmadığı belirlenmiştir (Çizelge 4.19). Bu durumun daha önce de belirtildiği gibi, pirinada bulunan bazı minör bileşenlerin bakteriyel gelişimi engellmesinden veya bakterilerin gelişimi için gerekli spesifik büyüme faktörlerini pirinadan sağlayamamasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

4.6. *K. marxianus* ve *D. hansenii* Kullanılarak Domates Küspesinde Yapılan Çalışmalar

4.6.1. *K. marxianus* ve *D. hansenii*'nin domates küspesinde mikrobiyal gelişimlerinin incelenmesi

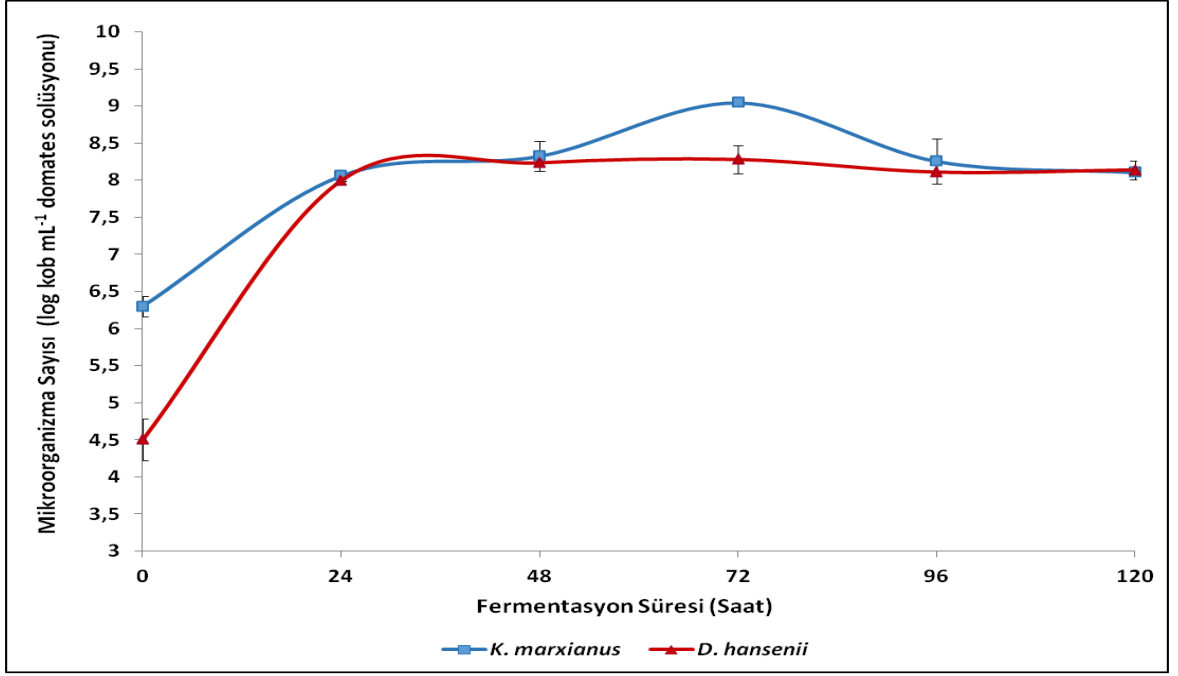
K. marxianus ve *D. hansenii* ile erlen düzeyinde gerçekleştirilen fermentasyon denemelerinde gözlemlenen mikrobiyal gelişimler Çizelge 4.20'de verilmiştir. Yapılan varyans analizi sonucunda domates küspesinde *K. marxianus* ve *D. hansenii*'nin mikrobiyal gelişimlerinin fermentasyon süresi ve mikroorganizma çeşidine bağlı olarak önemli bir değişim göstermediği belirlenmiştir. Buna göre, domates küspesinde *K. marxianus* ve *D. hansenii* gelişiminin birbirine benzer olduğu söylenebilir.

Çizelge 4.20. Domates küspesinde *K. marxianus* ve *D. hansenii*'nin erlen düzeyinde gelişimleri

Fermentasyon süresi (saat)	Hücre sayısı	
	Ortalama±S.E (log kob mL ⁻¹ domates solüsyonu)	
	<i>K. marxianus</i>	<i>D. hansenii</i>
0	7.0±0.01	7.0±0.01
24	7.95±0.04	8.68±0.61
48	7.88±0.11	8.06±0.18
72	8.07±0.02	8.42±0.38
<i>P</i> değeri	0.587	

SE: standart hata, kob: koloni oluşturan birim

Çizelge 4.20 incelendiğinde 72 saat fermentasyon boyunca domates küspesinde *K. marxianus*'un hücre sayısında maksimum 1.07 log'luk bir artışın olduğu, *D. hansenii*'nin hücre sayısında ise maksimum 1.68 log'luk bir artışın meydana geldiği görülmektedir. *K. marxianus*'un domates küspesinde mikrobiyal gelişiminin durağan faza 24 saat sonunda, *D. hansenii*'nin ise fermentasyonun 48. saatinden sonra geçtiği belirlenmiştir. İki mikroorganizma için fermentasyon sonunda belirlenen hücre sayıları arasında önemli bir farkın olmadığı da tespit edilmiştir (Çizelge 4.20). Biyoreaktör düzeyindeki üretimlere ait *K. marxianus* ve *D. hansenii*'nin mikrobiyal gelişimleri ise Şekil 4.5'de gösterilmiştir. Biyoreaktör düzeyinde *K. marxianus*'un hücre sayısı artışının 2.74 log olduğu, *D. hansenii*'nin hücre sayısında ise 3.77 log'luk bir artışın meydana geldiği belirlenmiştir. Erlen düzeyindeki mikrobiyal gelişime benzer olarak *K. marxianus* ve *D. hansenii*'nin gelişimlerinin durağan faza sırasıyla fermentasyonun 24. ve 48. saatinde geçtikleri belirlenmiştir. Daha önceki bölümlerde ifade edildiği gibi mikroorganizmaların gelişimlerinin durağan faza geçiş süresi veya durağan fazın süresi, mikroorganizmalar tarafından üretilen ikincil metabolitlerin çeşidini, verimlerini ve konsantrasyonunlarını önemli derecede etkileyen faktörlerden birisidir (Bailey ve Ollis,1986).



Şekil 4.5. Domates küspesinde biyoreaktör koşullarında *K. marxianus* ve *D. hansenii*'nin gelişimleri

Her iki mikroorganizmanın mikrobiyal üreme kinetiği incelendiğinde, *K. marxianus* için spesifik üreme hızınının (μ) 0.081 1sa.^{-1} , *D. hansenii* için ise bu değer 0.177 sa^{-1} olduğu hesaplanmıştır. Mikroorganizmaların ikilenme süreleri (t_d) ise sırasıyla 8.55 sa. (*K. marxianus* için) ve 3.89 sa. (*D. hansenii* için) olarak belirlenmiştir. Biyoreaktör düzeyinde fermentasyon boyunca her iki maya türüne ait hücre sayıları ile μ ve t_d değerleri birlikte değerlendirildiğinde, *K. marxianus*'un biyoreaktör koşullarında domates küspesinde gelişiminin *D. hansenii*'den daha yavaş olduğu söylenebilir. Ancak, her iki mayanın durağan fazdaki hücre sayılarının birbirine yakın olduğu ve canlılıklarını domates küspesinde birbirlerine benzer şekilde korudukları ifade edilebilir (Şekil 4.5). Çalışmamızda *K. marxianus* ve *D. hansenii*'nin erlen düzeyinde domates küspesinde gelişimine ait elde ettiğimiz bulgular, yapılan diğer bazı çalışmalardaki sonuçlarla benzerdir (Wilkins ve ark., 2007; Duarte ve ark., 2008; Mantzouridou ve Paraskevopoulou, 2013; Lalaou ve ark., 2013). Ancak, *K. marxianus* ve *D. hansenii*'nin domates küspesindeki gelişimlerine ait bulduğumuz spesifik üreme hızı ve ikilenme süresi değerlerinin, yapılan diğer çalışmalarda bulunan değerlerden daha düşük olduğu bulunmuştur (Fonseca ve ark., 2013; Duarte ve ark., 2008; Rech ve ark., 1999).

Fonseca ve ark., (2013) glikoz, galaktoz, fruktoz gibi farklı karbon kaynakları içeren sentetik besiyerinde 30-37 °C'de geliştirilen *K. marxianus* CBS 6556 için spesifik üreme hızının 0.39 sa⁻¹ ile 0.49 sa⁻¹ arasında değiştiğini belirtmişlerdir. Yapılan diğer bir çalışmada *K. marxianus* CBS 6556' nın maya ekstraktı katkılı hidrolize peynir altı suyunda spesifik üreme hızı 0.61 sa.⁻¹ ve ikilenme süresi ise 1.15 sa. olarak belirtilmiştir (Rech ve ark., 1999). Duerte ve ark., (2008) *D. hansenii* CCMI 941'in biracılık artığı olan hidrolize malt küspesinde 30 °C ve 150 rpm karıştırma hızındaki fermentasyon koşullarında spesifik büyüme hızını 0.35 sa⁻¹ olarak belirtmişlerdir. *K. marxianus* ve *D. hansenii* için belirlediğimiz spesifik büyüme hızlarının düşük olması kullanılan mayaların türlerinden, fermentasyon koşullarından ve tarımsal atığın fizikokimyasal bileşiminden kaynaklanabilir. Nitekim, yapılan bir çalışmada, kültür ortamının pH'sının 2.0'den 7.5'e doğru düzenli şekilde artması ile *D. hansenii* UFV 170 'in spesifik büyüme hızının 0.025 sa⁻¹'den 0.038 sa.⁻¹'e doğru artış gösterdiği ifade edilmiştir (Sampaio ve ark., 2006).

Sonuç olarak, hem *K. marxianus* hem de *D. hansenii*'nin erlen ve biyoreaktör düzeyinde gelişimlerine ait elde ettiğimiz hücre sayısı artışı ve spesifik üreme hızı değerleri incelendiğinde, domates küspesinde *D. hansenii*'nin *K. marxianus*'dan daha iyi ürettiği söylenebilir. Her iki mikroorganizmanın hücre sayısı artışının biyoreaktör düzeyinde belirlenenden daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Her iki mayanın domates küspesindeki gelişimleri için bulduğumuz spesifik büyüme hızları ise literatürde farklı kültür ortamlarında rapor edilen üreme hızlarından daha düşüktür.

4.6.2. *K. marxianus* ve *D. hansenii*'nin domates küspesinde ürettiği aroma maddelerinin incelenmesi

K. marxianus ve *D. hansenii* ile erlen düzeyinde fermente edilmiş domates küspelerinde 28 adet aroma bileşeni belirlenmiştir. Fermente domates küspesinde GCO analizi ile belirlenen aroma bileşenleri Çizelge 4.21'de gösterilmiştir. Çizelge 4.21 incelendiğinde, domates küspelerindeki aroma bileşenlerin çoğunlukla asit, aldehit, ester ve alkol türevli olduğu görülmektedir. Genel olarak kontrol grubu domates küspelerinde yoğunlukları yüksek olan aroma bileşenleri diasetil (tereyağı), hekzenal (çimen), 1-okten-3-ol (mantar), (Z)-1,5-oktadien-3-on (sardunya), bilinmeyen 1 (kirli), 2,3-dietil-5-metil prazin (biber) olarak belirlenmiştir.

Çizelge 4.21. *K. marxianus* ve *D. hansenii* ile fermente edilmiş domates küspesinde belirlenen aroma aktif bileşenler

RI ^a	Uçucu Bileşen	Aroma Tanımı	Belirleme yöntemi	Aroma yoğunluğu (ortalama±SE) ^b		
				Kontrol	<i>K. marxianus</i>	<i>D. hansenii</i>
<500	Metanetiylol	Sülfür	RI, O	0.5±0.4	0.4±0.3	0.7±0.01
582	Diasetil	Tereyağı	RI, MS,	3.0±0.7	T.E	T.E
625	Asetik asit	Sirke	RI, MS, O	T.E	0.8±0.5	T.E
767	Izoamil alkol	Muz	RI, MS, O	1.0±0.7	3.3±0.2	2.5±0.1
777	Hekzenal	Çimen, yaprak	RI, MS, O	2.0±1.41	T.E	T.E
783	Izobutil asetat	Şekerli sakız	RI, MS, O	T.E	0.8±0.2	T.E
860	Izovalerik asit	Ter, ekşi	RI, MS, O	1.5±1.0	3.8±2.5	5.0±0.7
872	Izoamil asetat	Meyvemsi	RI, MS, O	1.0±0.7	3.0±2.0	3.5±0.4
903	Heptanon	Besiyeri	RI, O	0.3±0.2	T.E	0.5±0.4
910	Metiyonal	Haşlanmış patates	RI, O	2.5±1.7	0.4 ±0.2	0.4±0.3
932	2-asetil-1-pirolin	Patlamış mısır	RI, O	1.0±0.7	0.8±0.5	0.5±0.4
978	1-okten-3-ol	Mantar	RI, MS, O	5.3±0.2	4.0±0.7	3.7±2.0
984	(Z)-1,5-oktadien-3-on	Sardunya	RI, MS, O	3.0±2.1	2.5±2.5	0.5±0.4
1000	Hekzil asetat	Kolonya, ferah	RI, O	T.E	0.5±0.4	T.E
1050	Benzenasetaldehit	Gül, çiçek	RI, MS, O	T.E	0.5±0.1	1.0±1.0
1058	Bilinmeyen 1	Kirli, tozlu	RI, O	2.3±0.2	4.5±0.4	3.5±1.7
1096	2,5-dimetil-3-etilpirazin	Yanık şeker	RI, O	1.0±0.7	1.8±1.2	T.E
1106	Linalool	Çay, çiçek	RI, O	T.E	1.0±0.5	T.E
1125	3,5-oktadien-2-on	Kızarmış yağ	RI, MS, O	T.E	0.5±0.4	T.E
1132	Fenil etil alkol	Gül, çiçek	RI, MS, O	T.E	3.5±0.4	2.0±0.1
1151	İzobutil-2-metil butanoat	Bitkisel, tatlı	RI, MS, O	0.8±0.5	T.E	2.0±0.1
1162	(E,Z)-2,6-nonadienol	Saman	RI, MS, O	0.4±0.4	0.3±0.2	T.E
1186	2,3-dietil-5-metil-pirazin	Biber	RI, O	2.0±2.0	1.3±1.0	3.8±0.7
1232	2,4-nonadienal	Okside yağ	RI, MS, O	0.8±0.5	1.0±0.1	1.3±0.7
1248	3-karvomenthenon	Balikhane	RI, MS, O	T.E	1.3±1.0	T.E
1263	Geraniol	Çiçek,	RI, MS, O	T.E	0.8±0.5	0.3±0.2
1294	Sitral	Sitrus	RI, O	0.3±0.2	T.E	T.E

^aRI: Alıkonma indeksi HP-5 MS kolonda hesaplanmıştır, ^b72 saat fermentasyon sonunda belirlenen aroma yoğunluğu, SE: standart hata, T.E: Tespit edilmedi, MS:kütle spektrometresi, O: Koku

Kontrol grubu domates küspelerinde belirlenen ancak *K. marxianus* ile fermente olmuş domates küspelerinde tespit edilmeyen aroma bileşenleri diasetil (tereyağı), hekzenal (çimen), izobutil-2-metil butanoat (bitkisel) ve sitral (sitrus) dir. Benzer şekilde kontrol grubu domates küspelerinde belirlenen ancak *D. hansenii* ile fermente edilmiş domates küspelerinde tespit edilmeyen aroma bileşenleri ise diasetil (tereyağı), hekzenal (çimen), (E,Z)-2,6-nonadienol (saman), 3-karvomenthenon (biber) ve sitral (sitrus)dir.

K. marxianus ve *D. hansenii* ile fermente edilen domates küspelerinde belirlenen ve yoğunlukları kontrol grubundan daha yüksek olan aroma maddeleri ise izoamil alkol (muz), izovalerik asit (ekşi), izoamil asetat (meyvemsi) ve fenil etil alkol (gül) dür (Çizelge 4.21). Yoğunlukları artan aroma maddelerinin tespit edilmesi, her iki mayanın da domates küspesinden fermentasyon yoluyla bu aroma maddelerini ürettiğini göstermektedir. Ayrıca, izoamil alkol, metil-2-metil pentanoat ve fenil etil alkolün yoğunluğunun *K. marxianus* ile fermente olmuş domates küspelerinde kontrol grubu domates küspesine göre daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Ayrıca, benzenasetaldehitin yoğunluğunun ise *D. hansenii* ile fermente olmuş domates küspesinde yine kontrol grubu domates küspesine göre daha yüksek olduğu tespit edilmiştir.(Çizelge 4.21). Erlen düzeyinde *K. marxianus* ve *D. hansenii* ile fermente olmuş domates küspesinde belirlenen aroma bileşenlerinden miktarı artan aroma maddeleri Çizelge 4.22’ de gösterilmiştir.

Çizelge 4.22. *K. marxianus* ve *D.hansenii* ile fermente edilmiş domates küspesinde GC-MS ile belirlenen bazı aroma maddeleri

Aroma Maddesi	Aroma Tanımı	Ortalama Miktar±S.E (µg kg ⁻¹ domates küspesi solüsyonu) ^a		
		Kontrol	<i>K. marxianus</i>	<i>D. hansenii</i>
Izoamil alkol (P=0.461)	Muz	26.18±8.92	40.49±5.22	35.70±6.93
Metil-2-metilpentanoat (P=0.01)	Ester, meyve	T.E	9.99±2.12 ^B	21.99±0.01 ^A
Izovalerik asit (P=0.01)	Ekşi, meyvemsi	0.99±0.01 ^C	169.64±0.01 ^A	114.28±0.14 ^B
Izoamil asetat (P=0.01)	Fermente meyve	5.56±0.59 ^B	36.09±0.14 ^A	2.02±1.22 ^B
Fenil etil alkol (P=0.02)	Çiçek, gül	77.50±5.38 ^B	201.12±24.33 ^{AB}	292.69±71.93 ^A
Fenil etil asetat (P=0.02)	Çiçek	T.E	140.76±6.37 ^A	3.44±1.00 ^B

^{A-C}Aynı aroma maddelerinde farklı büyük harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemlidir (P≤0.05).
^a72 saat fermentasyon sonunda belirlenen aroma maddelerinin oransal bolluğu, SE: standart hata, T.E: tespit edilemedi.

Fermente domates küspesinde GCO analizi ile belirlenmemesine rağmen fenil etil asetat (bal, çiçek)’in her iki maya tarafından domates küspesinde erlen düzeyinde üretildiği tespit edilmiştir Yapılan varyans analizi sonucunda, *K. marxianus* ve *D. hansenii*’nin metil-2-metil pentanoat (ester, meyve), izovalerik asit (ekşi, peynir), izoamil asetat (fermente meyve), fenil etil alkol (gül) ve fenil asetat üretim miktarları arasında önemli fark olduğu bulunmuştur (P≤0.05). İzovalerik asit (ekşi, peynir), izoamil asetat (fermente

meyve) ve fenil etil asetat (çiçek)'in miktarlarının, *K. marxianus* tarafından fermente edilen domates küspelerinde *D. hansenii* ile fermente edilmiş domates küspelerinden daha yüksek olduğu bulunmuştur. Söz konusu aroma maddelerinin miktarları sırasıyla 21.99 µg kg⁻¹, 36.09 µg kg⁻¹, 169.64 µg kg⁻¹ ve 140.76 µg kg⁻¹ olarak tespit edilmiştir (Çizelge 4.22). İzoamil alkol miktarları açısından kontrol grubu domates küspeleri ile fermente domates küspeleri arasında istatistiksel olarak önemli bir fark bulunmamasına rağmen Çizelge 4.22 incelendiğinde pratikte *K. marxianus* ve *D. hansenii* ile fermente edilmiş domates küspelerinde hem izoamil alkolün hem de fenil etil alkolün kontrol grubuna göre daha yüksek miktarda bulunduğu söylenebilir. Ayrıca, *K. marxianus* ve *D. hansenii* ile fermente edilmiş domates küspelerinde fenil etil alkol miktarı açısından önemli bir fark bulunmamıştır. *K. marxianus* ve *D. hansenii* ile fermente edilmiş domates küspelerindeki fenil alkol miktarı sırasıyla 201.12 µg kg⁻¹ ve 292.69 µg kg⁻¹ dir.

K. marxianus ve *D. hansenii* ile domates küspesinden üretilen aroma maddeleri, farklı mayalar kullanılarak fermente edilen bazı tarımsal atıklarda da bulunmuştur (Mederios ve ark., 2000; Mederios ve ark., 2001; Quilter ve ark., 2003; Rossi ve ark., 2009; Yılmaztekin ve ark., 2009). Örneğin; Mengatti de Oliveira ve ark., (2013) yaptıkları çalışmada topyoka nişastası atık suyunun *K. marxianus* ile fermente edilmesiyle aroma maddesi olarak fenil etil alkolün üretildiğini bildirmişlerdir. Çalışmada, 120 saatlik fermentasyon boyunca üretilen fenil etil alkol (gül) miktarının 190 mg L⁻¹ olduğu bildirilmiştir. Yapılan diğer bir çalışmada ise (Yılmaztekin ve ark., 2008) şeker pancarı melasından *Williopsis saturnus*' un HUT 7087, IAM 12217 ve NCYC 22 suşlarını kullanarak biyoteknolojik yolla izoamil asetat (muz) üretimi gerçekleştirilmiştir. Başka bir bir çalışma da (Quilter ve ark., 2003), şeker melasının *S. cerevisiae* ile fermente edilmesiyle etil asetat (meyve) ve izoamil asetat üretilebileceği gösterilmiştir.

K. marxianus ve *D. hansenii* tarafından domates küspesinde üretilen aroma maddelerinin biyoreaktör düzeyindeki değişimleri sırasıyla Çizelge 4.23 ve Çizelge 4.24'de gösterilmiştir. Yapılan varyans analizi sonucunda, her iki maya tarafından üretilen aroma maddelerinin miktarlarının fermentasyon süresine bağlı olarak değişim gösterdiği belirlenmiştir (P≤0.05). Bununla birlikte, *K. marxianus* fermentasyonu ile erlen düzeyinde domates küspesinde belirlenen metil-2-metil pentanoat (ester, meyve), izoamil asetat (fermente meyve) ve fenil etil asetatın, biyoreaktör düzeyindeki üretimlerde belirlenmemiştir. *D. hansenii* ile biyoreaktör düzeyinde fermentasyon denemelerinde domates küspesinde metil-2-metil pentanoat (ester, meyve), izovalerik asit (ekşi,

meyvemsi) ve izoamil asetat (çiçek) belirlenmemiştir. *K. marxianus* tarafından biyoreaktör koşullarında üretilen aroma maddelerinin değişimi incelendiğinde, izovalerik asit ve fenil etil alkolün miktarlarının fermentasyonun 48. saatinde maksimum düzeyde buldukları belirlenmiştir. Buna göre biyoreaktör ortamında her iki aroma maddesinin maksimum miktarları sırasıyla 205.60 $\mu\text{g kg}^{-1}$ ve 158.72 $\mu\text{g kg}^{-1}$ olarak belirlenmiştir. Diğer taraftan, izoamil alkol miktarının 24 saat fermentasyon süresinde kültür ortamında maksimum konsantrasyonda (34 $\mu\text{g kg}^{-1}$) olduğu bulunmuştur. İzoamil alkolün biyoreaktör ortamında maksimum miktarı 41.48 $\mu\text{g kg}^{-1}$ ve fenil etil alkolün maksimum miktarı ise 119.88 $\mu\text{g kg}^{-1}$ olarak belirlenmiştir. Domates küspesinde biyoreaktör ortamında *K. marxianus* tarafından üretilen izoamil alkol ve fenil etil alkolün miktarının sırasıyla fermentasyonun 24. ve 48. saatinden sonra önemli düzeyde azaldığı belirlenmiştir ($P \leq 0.05$). Buna karşın, izovalerik asit miktarının ise 96 saat fermentasyon süresinden sonra önemli düzeyde azaldığı belirlenmiştir (Çizelge 4.23). *D. hansenii* tarafından biyoreaktör koşullarında üretilen aroma maddelerinin değişimi incelendiğinde ise, üretilen tüm aroma maddelerinin miktarının fermentasyonun 24. saatinde maksimum düzeyde olduğu saptanmıştır. Buna göre izoamil alkol, fenil etil alkol ve fenil etil asetatın kültür ortamındaki maksimum miktarları sırasıyla 126.72 $\mu\text{g kg}^{-1}$, 144.27 $\mu\text{g kg}^{-1}$ ve 2.58 $\mu\text{g kg}^{-1}$ olarak bulunmuştur. *K. marxianus* fermentasyonuna benzer şekilde, biyoreaktör ortamında *D. hansenii* tarafından üretilen aroma maddelerinin miktarlarının fermentasyonun belli bir saatinden sonra azaldığı belirlenmiştir ($P \leq 0.05$).

Çizelge 4.23. Biyoreaktör koşullarında *K. marxianus* ile fermente edilen domates küspesinde GC-MS ile belirlenen bazı aroma maddeleri

Aroma Maddesi	Aroma Tanımı	Ortalama Miktar±S.E (µg kg ⁻¹ domates küspesi solüsyonu) ^a					
		Fermentasyon süresi (saat)					
		0	24	48	72	96	120
İzoamil alkol (P=0.01)	Muz	21.22±0.74 ^B	34.00±0.01 ^A	14.30±0.20 ^{BC}	12.11±4.03 ^{BC}	7.45±0.07 ^C	5.780±0.57 ^C
İzovalerik asit (P=0.01)	Ekşi,meyvemsi	25.0±0.24 ^B	158.89±0.01 ^A	205.60±64.20 ^A	147.14±8.42 ^A	36.12±0.62 ^B	37.10±3.28 ^B
Fenil etil alkol (P=0.01)	Gül, Çiçek	16.08±1.59 ^D	149.90±0.07 ^{AB}	158.72±4.56 ^A	106.80±26.65 ^{BC}	87.7±12.94 ^{BC}	32.32±0.07 ^{CD}

^{A-D}Fermentasyon süresince farklı büyük harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemlidir (P≤0.05). ^a120 saat fermentasyon boyunca belirlenen aroma maddelerinin oransal bolluğu. T.E: tespit edilmedi. S.E: standart hata.

Çizelge 4.24. Biyoreaktör koşullarında *D. hansenii* ile fermente edilen domates küspesinde GC-MS ile belirlenen bazı aroma maddeleri

Aroma Maddesi	Aroma Tanımı	Ortalama Miktar±S.E (µg kg ⁻¹ domates küspesi solüsyonu) ^a					
		Fermentasyon süresi (saat)					
		0	24	48	72	96	120
İzoamil alkol (P=0.01)	Muz	0.23±0.05 ^C	126.72±6.51 ^A	11.0±2.03 ^{AB}	7.18±0.08 ^{AB}	8.71±1.26 ^{AB}	6.40±3.90 ^{BC}
Fenil etil alkol (P=0.01)	Gül, Çiçek	6.52±0.02 ^C	144.27±1.86 ^A	122±19.0 ^{AB}	107.70±2.12 ^{AB}	92.06±7.24 ^{BC}	46.50±17.67 ^C
Fenil etil asetat (P=0.01)	Bal, Çiçek	0.03±0.01 ^B	2.58±1.06 ^A	1.43±0.98 ^{AB}	0.13±0.03 ^{AB}	0.05±0.01 ^B	T.E

^{A-C}Fermentasyon süresince farklı büyük harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemlidir (P≤0.05). ^a120 saat fermentasyon boyunca belirlenen aroma maddelerinin oransal bolluğu. T.E: tespit edilmedi. S.E: standart hata.

Domates küspesinde *K. marxianus* ve *D. hansenii* tarafından üretilen aroma maddelerinin verimlilik değerleri Çizelge 4.25’de gösterilmiştir. Çizelge 4.25 incelendiğinde, en yüksek verimlilik değerine sahip aroma maddesinin domates küspesinin *D. hansenii* ile fermentasyonu sonucu üretilen fenil etil alkole ait olduğu görülmektedir. En düşük prodüktivite değerine sahip aroma maddesi ise fenil etil asetat olarak tespit edilmiştir. *K. marxianus* tarafından üretilen aroma maddelerinden verimlilik değeri en yüksek olan aroma maddesi ise izovalerik asittir.

Çizelge 4.25. *K. marxianus* ve *D. hansenii* tarafından domates küspesinde üretilen aroma maddelerinin verimlilikleri

Uçuşu bileşen	Ortalama ^a ±S.E	
	(µg kg ⁻¹ domates küspesi solüsyonu sa ⁻¹)	
	<i>K. marxianus</i>	<i>D. hansenii</i>
İzoamil alkol	1.41±0.01	5.27±0.27
İzovalerik asit	4.28±1.89	-
Fenil etil alkol	3.30±0.09	6.0±0.07
Fenil etil asetat	-	0.10±0.04

^aAroma maddesinin maksimum miktarının belirlendiği fermentasyon süresine göre hesaplanmıştır. S.E: standart hata

Sonuç olarak, domates küspesinin *K. marxianus* ve *D. hansenii* ile fermente edilmesiyle alkol, asit ve ester türevli aroma bileşiklerin üretildiği tespit edilmiştir. Domates küspesinden *K. marxianus* ve *D. hansenii* ile erlen düzeyinde üretilen aroma maddelerinin özellikle çiçek ve meyvemsi aroma kalitesine sahip olan izoamil alkol, metil-2-metil pentanoat, izovalerik asit, izoamil asetat, fenil etil alkol ve fenil etil asetat olduğu tespit edilmiştir. Biyoreaktör düzeyindeki denemelerde, izoamil alkol ve izovalerik asitin diğer aroma maddelerine göre daha yüksek miktarda üretildiği tespit edilmiştir. Özellikle izovalerik asit (ekşi, meyvemsi)’in *K. marxianus*’un fermentasyonunda en hızlı ve en fazla üretimi gerçekleştiren aroma maddesi olduğu, *D. hansenii* fermentasyonunda ise en hızlı ve en fazla üretilen aroma maddesinin fenil etil alkol olduğu belirlenmiştir.

4.6.3. *K. marxianus* ve *D. hansenii* ile fermente edilmiş domates küspesinin duyuşal özellikleri

K. marxianus ve *D. hansenii* ile fermente edilmiş domates küspelerinin duyuşal karakteristikleri 10 adet duyuşal tanımlayıcı terim ile ortaya konmuştur (Çizelge 4.26).

Çizelge 4.26. *K. marxianus* ve *D. hansenii* ile fermente edilmiş domates küspesinin duyuşal özellikleri

Aromatik Özellik	Duyusal Puan ^a (Ortalama± SE)			P değeri
	Kontrol	<i>K. marxianus</i>	<i>D. hansenii</i>	
Pişmiş domates	0.96±0.19 ^B	1.71±0.14 ^A	1.92±0.07 ^A	0.01
Çimen	0.85±0.21	1.57±0.27	1.42±0.17	0.07
Fasulyemsi	0.78±0.10 ^B	1.10±0.15 ^B	1.82±0.23 ^A	0.01
Islak bulgur	1.03±0.20	1.00±0.21	1.07±0.17	0.86
Toprak	0.35±0.14	0.50±0.10	0.64±0.17	0.43
Tatlı aromatik	0.35±0.14	0.64±0.07	0.71±0.21	0.27
Metalik	0.50±0.24	0.78±0.18	0.78±0.14	0.55
Tarhana	1.28±0.63 ^B	5.46±0.82 ^A	1.28±0.18 ^B	0.01
Depo/küf	0.89±0.24	0.57±0.42	0.64±0.41	0.37
Gül	T.E ^B	1.07±0.42 ^A	1.42±0.38 ^A	0.01

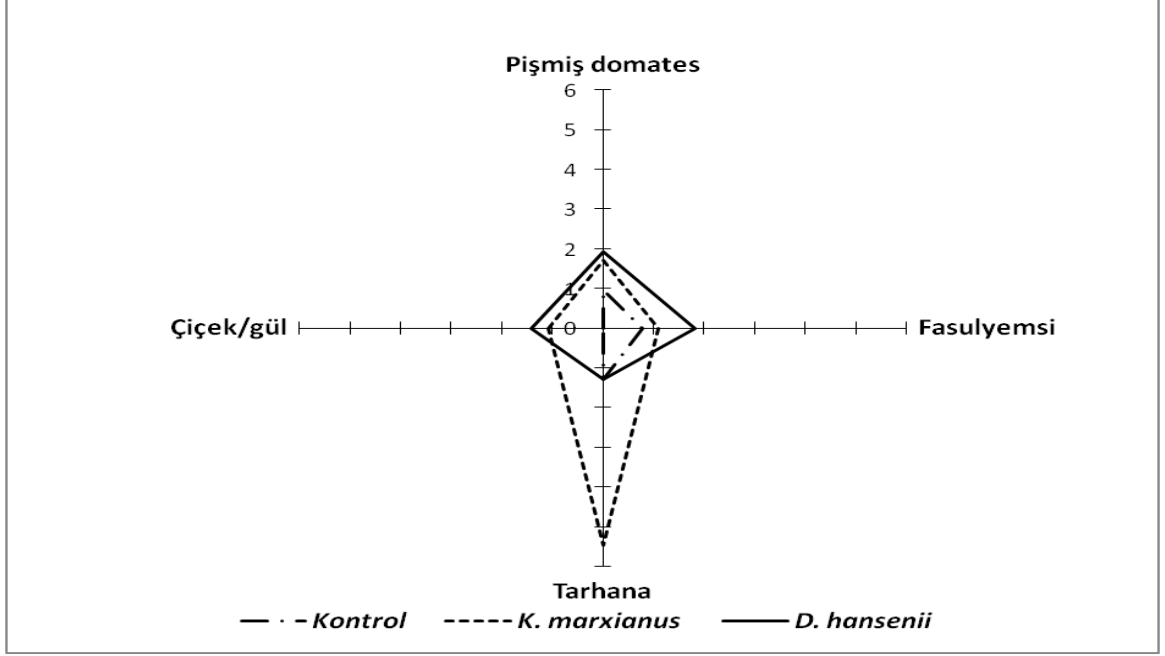
^{A-B} Aynı aromatik özellikte farklı büyük harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemlidir (P<0.05).

^a 72 saat fermentasyon sonunda belirlenmiştir, SE: standart hata.

Domates küspelerinde belirlenen duyuşal aroma terimleri; pişmiş domates, çimen, pişmiş yeşil fasulye, ıslak bulgur, toprak, tatlı aromatik, metalik, tarhana, depo/küf ve güldür. Yapılan varyans analizi sonucunda, ıslak bulgur, toprak, tatlı aromatik, metalik ve depo/küf aromaları hariç diğer aromatik özellikler açısından fermente domates küspelerinin arasında önemli farklılıkların olduğu belirlenmiştir (P≤0.05). Buna göre, *K. marxianus* ile fermente edilmiş domates küspesinde yüksek yoğunlukta tarhana aroması algılanırken, *D. hansenii* ile fermente edilmiş domates küspesinde pişmiş yeşil fasulye aroması daha yüksek yoğunlukta algılanmıştır (Şekil 4.6). Bununla birlikte, çimen aroması bakımından kontrol grubu örnekleri ile *K. marxianus* ve *D. hansenii* ile fermente olmuş domates küspeleri arasında istatistiksel olarak fark bulunmamasına rağmen, her iki maya ile fermente olmuş domates küspelerinde çimen aromasının kontrol grubuna göre daha yüksek oranda algılandığı söylenebilir.

Duyusal değerlendirmeler sonucunda, *K. marxianus* ve *D. hansenii* ile fermente edilmiş domates küspelerinde kontrol grubu domates küspelerine göre tarhana, pişmiş yeşil fasulye ve pişmiş domates aromalarının panelistler tarafından yüksek yoğunlukta algılanması, her iki maya tarafından fermentasyon sonucu miktarları artan asetat ve alkol türevli izoamil alkol, izovalerik asit, izoamil asetat, fenil etil alkol ve fenil etil asetat ile ilişkili olabilir. Çünkü söz konusu uçucu bileşenlerin aroma kaliteleri meyvemsi, ester, floral ve fermente olarak tanımlanmıştır (Reineccius, 2006). Bir aroma maddesinin farklı matrislerde konsantrasyona bağlı olarak farklı duyuşal algılara neden olduğu göz önünde

bulundurulduğunda, *K. marxianus* ve *D. hansenii*'nin domates küspesi ortamında üretilen aroma maddelerinin özellikle fermente tarhana veya pişmiş yeşil fasulye gibi ekşi bitkisel aroma özelliği algısını uyandırdığı söylenebilir.



Şekil 4.6. *K. marxianus* ve *D. hansenii* ile fermente edilmiş domates küspesinin bazı duyu özelliklerine ait örümcek ağı diyagramı

4.7. *A. sojae* ve *T. atroviride* Kullanılarak Domates Küspesinde Yapılan Çalışmalar

4.7.1. *A. sojae* ve *T. atroviride*'nin domates küspesinde mikrobiyal gelişimlerin incelenmesi

Domates küspesinde *A. sojae* ve *T. atroviride* küfleri ile erlen düzeyinde gerçekleştirilen denemelerde gözlemlenen mikrobiyal gelişimler Çizelge 4.27'de verilmiştir.

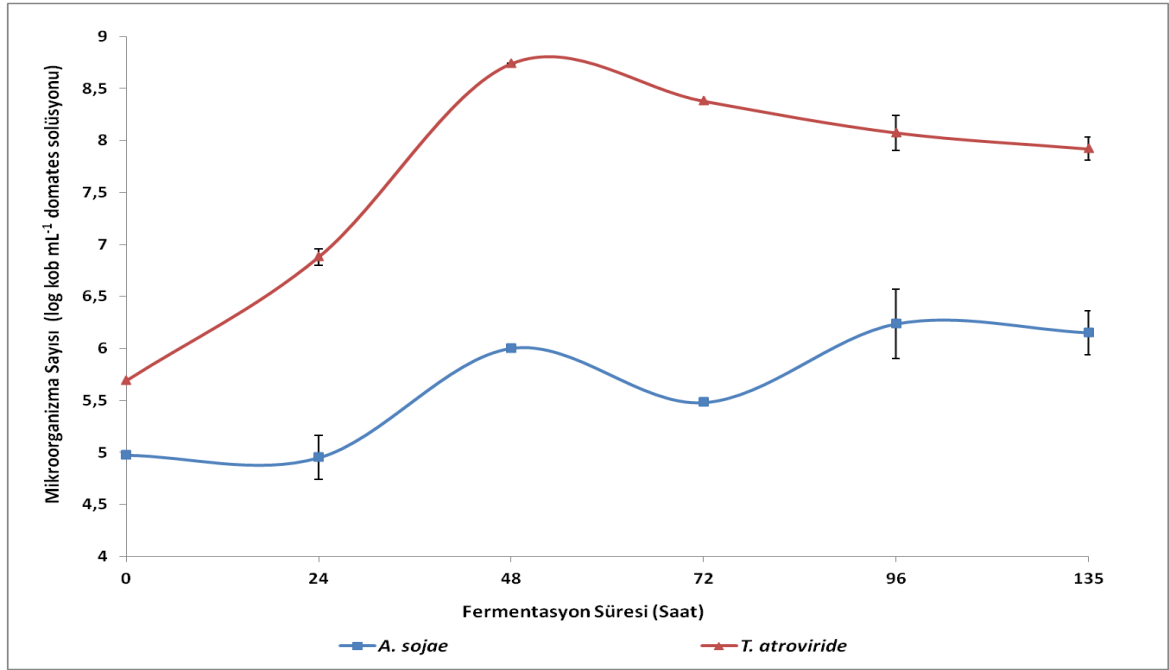
Çizelge 4.27. Domates küspesinde *A. sojae* ve *T. atroviride*'nin erlen düzeyinde mikrobiyal gelişimleri

Fermentasyon süresi (saat)	Hücre sayısı Ortalama±SE (log kob mL ⁻¹ domates küspesi solusyonu)	
	<i>A.sojae</i>	<i>T. atroviride</i>
0	6.0±0.01 ^{BCa}	6.0±0.01 ^{Ba}
24	5.47±0.01 ^{Ca}	6.22±0.45 ^{Ba}
48	7.0±0.01 ^{ABa}	5.85±0.37 ^{Bb}
72	7.49±0.19 ^{Aa}	6.93±0.06 ^{ABa}
96	7.0±0.01 ^{ABa}	7.56±0.12 ^{Aa}
120	6.41±0.01 ^{ABCb}	7.62±0.14 ^{Aa}
P değeri	0.01	

^{A-C} Aynı mikroorganizma çeşidinde farklı büyük harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemlidir (P<0.05). ^{a-b} Aynı fermentasyon süresinde farklı küçük harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemlidir (P<0.05). kob: koloni oluşturan birim, SE: standart hata

Yapılan varyans analizi sonucunda domates küspesinde mikrobiyal gelişimin fermentasyon süresi ve mikroorganizma çeşidine bağlı olarak değiştiği belirlenmiştir (P=0.01). 120 saatlik fermentasyon boyunca domates küspesinde *A. sojae*'nin hücre sayısında maksimum 1.49 log'luk bir artış olduğu, *T. atroviride*'nin hücre sayısında ise maksimum 1.62 log'luk bir artış meydana geldiği belirlenmiştir. *A. sojae*'nin mikrobiyal gelişiminin durağan faza 48 saat sonra geçtiği, *T. atroviride*'nin ise mikrobiyal gelişiminin *A.sojae*'ya göre daha yavaş olduğu ve gelişimin durağan faza 72 saat sonunda geçtiği tespit edilmiştir. 96 saatlik fermentasyon boyunca *T. atroviride* ve *A. sojae*'nin hücre sayıları arasında önemli bir fark olmadığı (48 saat fermentasyon süresi hariç) belirlenmiştir. Ancak fermentasyon sonunda *T. atroviride*'nin hücre sayısının *A. sojae*'den daha yüksek olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4.27). *A. sojae* ve *T. atroviride*'nin biyoreaktör düzeyinde mikrobiyal gelişimleri Şekil 4.7'de gösterilmiştir. Şekil 4.7

incelendiğinde, biyoreaktör düzeyinde *A. sojæ*'nin maksimum hücre sayısı artışının 1.18 log olduğu, *T. atroviride*'nin hücre sayısında ise 2.23 log'luk bir artışın meydana geldiği belirlenmiştir. Erlen düzeyinden farklı olarak *T. atroviride*'nin gelişiminin 48 saatlik fermentasyon sonunda durağan faza geçtiği, *A. sojæ*'nin ise gelişiminin çok yavaş olduğu ve 48 saatlik fermentasyon süresi sonunda mikrobiyal gelişiminin durağan bir şekilde devam ettiği belirlenmiştir.



Şekil 4.7. Domates küspesinde biyoreaktör koşullarında *A. sojæ* ve *T. atroviride*'nin mikrobiyal gelişimleri

Her iki mikroorganizmanın mikrobiyal üreme kinetiği spesifik maksimum büyüme hızı (μ) ve ikilenme süresi (t_d) açısından incelendiğinde *A. sojæ* için μ değerinin 0.056 sa.⁻¹ olduğu, *T. atroviride* için ise bu değer 0.146 sa.⁻¹ olduğu tespit edilmiştir. İkilenme süreleri ise sırasıyla 12.37 sa. (*A. sojæ* için) ve 4.73 sa. (*T. atroviride* için) olarak hesaplanmıştır. *A. sojæ*'nin biyoreaktör koşullarında domates küspesinde gelişiminin *T. atroviride*'den daha yavaş olduğu ve fermentasyon sonunda özellikle *T. atroviride*'nin domates küspesinde canlılığını daha uzun süre koruduğu söylenebilir. Genel olarak, *T. atroviride* ve *A. sojæ*'nin domates küspesinde hücre artışına ve spesifik üreme hızına ait elde ettiğimiz bulgular yapılan diğer çalışmalarla desteklenmektedir (Demir ve Tar, 2014;

Felse ve Panda, 2000; Ming Lo ve ark., 2010; Sardjono ve ark., 1998). *A. sojae* ve *A. oryzae* kullanılarak acı bakla (lupin) ve soya fasulyesinin katı kültür fermentasyonuna uğratarak protein değeri yüksek fermente gıda ürünü üretmek için yapılan bir çalışmada (Sardjono ve ark., 1998), *A. sojae*'nin acı baklada (lupin) ve soya fasulyesinde 168 saat fermentasyonu süresince spor sayısı artışının sırasıyla ortalama 2.0 log ve 1.8 log olduğu belirlenmiştir. *A. sojae*'nin gelişiminin durağan faza geçiş süresinin ise acı baklada 72 saat, soya fasulyesinde 96 saat olduğu tespit edilmiştir. *A. sojae* fermentasyonu ile poligalakturanaz enziminin buğday kepeğinden üretiminin incelendiği bir çalışmada, buğday kepeğinde *A. sojae*'nin spor sayısı artışının 168 saatlik fermentasyon süresince devam ettiği ve yaklaşık spor sayısı artışının 1.07 log olduğu belirlenmiştir (Demir ve Tar, 2014). *Trichoderma* spp. küfünün farklı bir türü olan *T. reesei*'nin selülaz üretimi için kullanıldığı bir çalışmada şeker pancarı küspesinde spesifik büyüme hızı 0.120 sa^{-1} olarak bulunurken, pirinç atığında 0.10 sa^{-1} olarak belirlenmiştir (Muthuvelayudham ve Viruthagiri, 2006). Yapılan diğer bir çalışma ise *T. reesei* Rut 30'un hidrolize odun talaşında $25 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de sürekli kültür sisteminde spesifik üreme hızı 0.096 sa^{-1} olarak rapor edilmiştir (Ming Lo ve ark., 2010). Yapılan diğer bir çalışmada ise farklı glikoz miktarı içeren sentetik besiyerinde katı kültür, derin kültür ve agar yüzey fermentasyonu koşullarında ve $35 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de *A. niger* için maksimum spesifik üreme hızının 0.09 sa^{-1} - 0.313 sa^{-1} arasında değiştiği belirlenmiştir (Torres ve ark., 1997).

Sonuç olarak, hem *A. Sojae* hem de *T. atroviride* 'nin domates küspesinde erlen ve biyoreaktör düzeyinde mikrobiyal gelişimlerine ait gözlemlendiğimiz hücre sayısı artışı ve durağan faza geçiş süreleri değerlendirildiğinde, *T. atroviride*'nin domates küspesinde gelişiminin daha iyi olduğu söylenebilir. Nitekim, hem erlen düzeyinde hem de biyoreaktör düzeyindeki üretimlerde *T. atroviride*'nin hücre artışının ve spesifik üreme hızının *A. sojae*'den daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Diğer taraftan, *T. atroviride*'nin domates küspesinde canlılığını daha uzun süre koruduğu tespit edilmiştir.

4.7.2. *A. sojae* ve *T. atroviride*'nin domates küspesinde ürettiği aroma maddelerinin incelenmesi

Çalışmada *A. sojae* ve *T. atroviride* ile erlen düzeyinde fermente edilmiş domates küspesinde 25 adet aroma aktif bileşen belirlenmiştir. Fermente domates küspelerinde GCO ile belirlenen aroma aktif bileşenler ve yoğunlukları Çizelge 4.28'de gösterilmiştir.

Çizelge 4.28. *A. sojae* ve *T. atroviride* ile fermente edilmiş domates küspesinde belirlenen aroma aktif bileşenler

RI ^a	Uçucu Bileşen	Aroma Tanımı	Belirleme yöntemi	Aroma yoğunluğu ^b (ortalama±SE)		
				Kontrol	<i>A. sojae</i>	<i>T. atroviride</i>
<500	Metanetiylol	Sülfür	RI, O	T.E	T.E	0.25±0.25
582	Diasetil	Tereyağı	RI, MS,	2.75±0.25	0.80±0.01	1.25±1.25
647	Asetik asit	Ekşi, sirke	RI, MS, O	T.E	T.E	0.50±0.50
761	İzoamil alkol	Muz	RI, MS, O	T.E	T.E	1.15±1.05
795	Hekzanal	Çimen	RI, MS, O	1.15±0.35	0.25±0.25	1.60±1.60
850	Izoamil asetat	Meyvemsi	RI, MS, O	T.E	0.40±0.40	1.0±1.0
854	Bütirik asit	Peynirimsi	RI, O	2.0±2.0	T.E	2.90±2.10
863	İzovalerik sit	Ekşi, meyvemsi	RI, O	2.75±0.25	T.E	1.50±1.50
876	Bilinmeyen 1	Patlamış mısır	RI, MS, O	T.E	0.25±0.25	T.E
891	2-Heptanon	Okside, besiyeri	RI, MS, O	1.50±0.01	T.E	T.E
901	Metiyonal	Patates	RI, O	4.50±0.25	5.75±0.25	5.25±0.75
916	2-asetil-1-pirolin	Patlamış mısır	RI, O	0.40±0.40	6.75±0.75	3.0±0.50
961	1-okten-3-ol	Metalik	RI, O	T.E	4.25±0.75	5.50±0.50
969	2-oktanol	Mantar	RI, O	6.0±0.01	4.25±0.75	T.E
974	(Z)-1,5-oktadien-3-ol	Sardunya	RI, MS, O	4.50±1.50	5.50±1.50	7.0±0.01
1037	Benzenasetaldehit	Pudra, gül	RI, MS, O	0.90±0.10	1.65±0.85	1.0±0.25
1049	(E)-2-oktenal	Okside fıstık	RI, O	T.E	3.0±2.0	2.0±0.01
1081	(E)-2-oktenol	Toz, beton	RI, O	2.75±0.25	3.75±1.25	5.0±0.01
1121	Fenil etil alkol	Gül	RI, MS, O	T.E	T.E	0.5±0.01
1135	(E)-2-nonanal	Saman	RI, MS, O	1.50±0.01	0.50±0.50	1.75±1.75
1166	2,3-dietil-5-metil-pirazin	Biber	RI, MS, O	3.0±0.01	3.50±1.50	4.50±0.50
1186	Bilinmeyen 2	Gül, ekşimsi	RI, O	T.E	0.50±0.50	T.E
1230	2,4-nonadienal	Yağ, kirli	RI, MS, O	0.90±0.10	0.50±0.50	0.25±0.25
1325	(E,E)-2,4-Dekadienal	Sabun	RI, MS, O	T.E	1.0±1.0	T.E
1373	Bilinmeyen 3	Lakton	RI, MS, O	T.E	T.E	0.25±0.25

^aHP-5 MS kolonda hesaplanmıştır, ^b 120 saat fermentasyon sonunda belirlenen aroma yoğunluğu, SE: standart hata, T.E: Tespit edilmedi. RI:alıkonma indeksi, MS:kütle spektrometresi, O: Koku

Genel olarak, domates küspelerinde yoğunluğu yüksek olan aroma aktif bileşenler, bütirik asit (peynirimsi), izovalerik asit (ekşi, meyvemsi), metiyonal (patates), , (Z)-1,5-oktadien-3-ol (sardunya) ve 2,3-dietil-5-metil-pirazin (biber) olarak belirlenmiştir. Kontrol grubunda belirlenen ancak *A. sojae* ve *T. atroviride* ile fermente edilmiş domates küspelerinde yoğunluğu daha düşük olan veya belirlenmeyen aroma maddeleri diasetil (tereyağı), bütirik asit (peynirimsi), izovalerik asit (ekşi, meyve), 2-oktanol (mantar) ve 2-nonadienal (kirli)dir.

Domates küspesinin her iki küf ile fermentasyonu sonucu yoğunluğu artan aroma maddeleri ise (Z)-1,5-oktadien-3-ol (sardunya), 1-okten-3-ol (mantar), (E)-2-oktenal (okside fıstık), (E)-2-oktenol (toz, beton) dür. *T. atroviride* ile fermente edilmiş domates

küspesinde (Z)-1,5-oktadien-3-ol, 1-okten-3-ol ve (E)-2-oktenol'ün yoğunluklarının kontrol grubu ve *A. sojae* ile fermente edilmiş domates küspelerinde daha yüksek olduğu belirlenmiştir. 2-oktenal yoğunluğunun ise *A. sojae* ile fermente edilmiş domates küspesinde *T. atroviride* ile fermente edilmiş domates küspelerinden daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Erlen düzeyindeki fermentasyon denemelerinde *T. atroviride* ve *A. sojae* tarafından domates küspelerinde üretilen aroma bileşenlerinden miktarları artan aroma maddeleri Çizelge 4.29'da gösterilmiştir.

Çizelge 4.29. *A. sojae* ve *T. atroviride* ile fermente edilmiş domates küspelerinde GC-MS ile belirlenen bazı aroma maddeleri

Aroma Maddesi	Aroma Tanımı	Ortalama Miktar \pm S.E ($\mu\text{g kg}^{-1}$ domates küspesi solüsyonu) ^a		
		Kontrol	<i>A. sojae</i>	<i>T. atroviride</i>
(Z)1,5-oktadien-3-ol (P=0.13)	Sardunya	T.E	1.55 \pm 0.02 ^A	4.26 \pm 1.18 ^A
1-okten-3-ol (P=0.02)	Mantar	T.E	5.25 \pm 1.60 ^B	297.46 \pm 46.64 ^A
3-oktanon	Mantar	T.E	3.66 \pm 0.65	T.E
3-oktanol	Mantar	T.E	T.E	13.68 \pm 6.25
(E)-2-oktenal (P=0.61)	Saman, toprak	T.E	2.48 \pm 0.83 ^A	3.38 \pm 1.27 ^A
(E)-2-oktenol (P=0.09)	Yanmış, kirli	T.E	4.59 \pm 2.60 ^B	31.55 \pm 0.33 ^A

^{A-B}Aynı aroma maddelerinde farklı büyük harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemlidir (P \leq 0.05).
^a120 saat fermentasyon sonunda belirlenen aroma maddelerinin oransal bolluğu. T.E: tespit edilemedi. SE: standart hata

Çizelge 4.29 incelendiğinde, GCO analizi ile belirlenmemesine rağmen 3-oktanonun (mantar). *A. sojae* tarafından, 3-oktanolun ise *T. atroviride* tarafından üretildiği tespit edilmiştir. Yapılan varyans analizi sonucunda *A. sojae* ve *T. atroviride* tarafından domates küspesinde üretilen 1-okten-3-ol, 3-oktanol (mantar) ve (E)-2-oktenol (yanmış, kirli)'ün miktarları arasında önemli bir fark bulunmuştur (P \leq 0.05). Buna göre, *T. atroviride*'nin *A. sojae*'dan daha yüksek miktarda 1-okten-3-ol, 3-oktanol, (E)-2-oktenol ürettiği tespit edilmiştir. Söz konusu aroma maddelerinin *T. atroviride* ile fermente edilmiş domates küspesinde belirlenen miktarları sırasıyla 297.65 $\mu\text{g kg}^{-1}$, 13.68 $\mu\text{g kg}^{-1}$ ve 31.55 $\mu\text{g kg}^{-1}$ olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.29). Diğer taraftan, 3-oktanon'un ise domates küspesinde *A. sojae* tarafından üretildiği, ancak *T. atroviride* tarafından üretilmediği saptanmıştır. 3-oktanon'un *A. sojae* ile fermente edilmiş domates küspesinde belirlenen miktarı 3.66 $\mu\text{g kg}^{-1}$ 'dır. *A. sojae* ve *T. atroviride* ile fermente edilmiş domates küspelerinde belirlenen

(E)-2-oktenal ve (Z)-1,5-oktadien-3-ol miktarları açısından istatistiksel olarak önemli bir fark bulunmamıştır ($P \geq 0.05$). Ancak pratikte, *T. atroviride*'nin (Z)-1,5-oktadien-3-ol 'ü *A. sojae*'dan daha yüksek oranda ürettiği söylenebilir.

A. sojae ve *T. atroviride* tarafından domates küspesinde üretilen aroma maddelerinin biyoreaktör düzeyindeki değişimleri sırasıyla Çizelge 4.30 ve Çizelge 4.31'de gösterilmiştir. Yapılan varyans analizi sonucunda, her iki küf tarafından üretilen aroma maddelerinin miktarlarının fermentasyon süresine bağlı olarak değişim gösterdiği belirlenmiştir ($P \leq 0.05$). *T. atroviride* tarafından üretilen aroma maddelerinin değişimi incelendiğinde (Çizelge 4.30), (Z)-1,5 oktadien-3-ol ve 3-oktanone'un 72 saatlik fermentasyon süresinde üretiminin olduğu, 1-okten-3-ol, 3-oktanol, (E)-2-oktenol'ün üretiminin ise 24. saat fermentasyon süresinde gerçekleştiği görülmektedir. Üretimi gerçekleştirilen aroma maddelerinin çoğunun belli bir fermentasyon süresi sonunda miktarlarının domates küspesinde azaldığı tespit edilmiştir. Bu durumun aroma maddelerinin biyoreaktör ortamından mikrobiyal gelişim için verilen hava ile uzaklaşmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Örneğin; 1-okten-3-ol, 3-oktanon, (E)-2-oktenal, (E)-2-oktenol'un 72 saatlik fermentasyon süresinde ortamda maksimum düzeyde üretildiği, 72 saat sonra özellikle 3-oktanon, (E)-2-oktenal, (E)-2-oktenol'un miktarlarının önemli düzeyde azaldığı tespit edilmiştir ($P \leq 0.05$). Buna karşın fermentasyon tamamlanıncaya kadar 1-okten-3-ol ve (Z)-1,5 oktadien-3-ol'ün miktarlarında önemli bir değişim belirlenmemiştir (Çizelge 4.30). Fermentasyon süresince 1-okten-3-ol ve (Z)-1,5 oktadien-3-ol'ün domates küspesinde maksimum miktarları sırasıyla $265.55 \mu\text{g kg}^{-1}$ ve $4.57 \mu\text{g kg}^{-1}$ olarak tespit edilmiştir.

Fenil etil alkolün (gül) erlen düzeyine domates küspesinde GC-MS belirlenmemesine rağmen biyoreaktör koşullarında üretiminin gerçekleştiği tespit edilmiştir. 72 saatlik fermentasyon süresi sonrasında fenil etil alkolün miktarında önemli bir azalmanın meydana geldiği, 120 saatlik fermentasyon süresi sonunda ise ortamda çok düşük düzeyde ($0.83 \mu\text{g kg}^{-1}$) olduğu belirlenmiştir.

Çizelge 4.30. Biyoreaktör koşullarında *T. atroviride* ile fermente edilmiş domates küspesinde GC-MS ile belirlenen bazı aroma maddeleri.

Aroma Maddesi	Aroma Tanımlaması	Ortalama Miktar±S.E (µg kg ⁻¹ domates küspesi solüsyonu) ^a					
		Fermentasyon süresi (saat)					
		0	24	48	72	96	120
(Z)1,5oktadien-3-ol (P=0.123)	Sardunya	T.E	T.E	T.E	4.57±0.26 ^A	4.04±0.35 ^A	3.18±0.35 ^A
1-okten-3-ol (P=0.01)	Mantar	T.E	117.21±8.46 ^C	171.49±0.88 ^B	265.55±2.79 ^A	221.66±8.80 ^{AB}	239.59±16.91 ^A
3-oktanon (P=0.001)	Mantar	T.E	T.E	T.E	19.99±1.32 ^A	2.69±0.26 ^B	2.95±0.57 ^B
3-oktanol (P=0.01)	Mantar	T.E	0.16±0.01 ^C	0.13±0.01 ^C	0.41±0.04 ^{BC}	0.56±0.07 ^B	1.14±0.05 ^A
(E)-2-oktenal (P=0.01)	Saman, kirli	T.E	T.E	0.83±0.02 ^C	3.68±0.19 ^A	2.42±0.07 ^B	2.29±0.07 ^B
(E)-2-oktenol (P=0.01)	Yanık, kirli	T.E	18.19±1.23 ^D	23.80±5.32 ^{CD}	55.65±0.14 ^A	38.03±0.21 ^{BC}	45.12±1.73 ^{AB}
Fenil etil alkol (P=0.05)	Gül	2.85±1.22 ^{AB}	6.17±1.73 ^A	3.84±1.60 ^A	0.67±0.07 ^B	0.62±0.12 ^B	0.83±0.01 ^{AB}

^{A-D}Fermentasyon süresince farklı büyük harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemlidir (P≤0.05). ^a120 saat fermentasyon boyunca belirlenen aroma maddelerinin oransal bolluğu. T.E: tespit edilemedi. S.E: standart hata

79

Çizelge 4.31. Biyoreaktör koşullarında *A. sojae* ile fermente edilmiş domates küspesinde GC-MS ile belirlenen bazı aroma maddeleri.

Aroma Maddesi	Aroma Tanımlaması	Ortalama Miktar±S.E (µg/kg domates küspesi solüsyonu) ^a					
		Fermentasyon süresi(saatt)					
		0	24	48	72	96	120
(Z)1,5oktadien-3-ol (P=0.016)	Sardunya	T.E	T.E	5.08±0.06 ^B	9.56±0.49 ^A	10.57±1.38 ^A	10.70±0.01 ^A
1-okten-3-ol (P=0.07)	Mantar	T.E	T.E	50.91±2.35 ^B	145.81±18.44 ^A	149.83±18.08 ^A	187.47±0.92 ^A
3-oktanon (P=0.013)	Mantar	T.E	T.E	20.67±0.83 ^B	45.43±4.85 ^A	45.31±3.33 ^A	40.65±1.91 ^A
(E)-2-oktenal (P=0.01)	Saman, kirli	T.E	4.04±0.76 ^B	4.20±0.85 ^B	7.99±0.97 ^{AB}	12.24±3.74 ^{AB}	34.88±3.66 ^A
(E)-2-oktenol (P=0.018)	Yanık, kirli	T.E	5.10±0.55 ^B	4.90±0.24 ^B	7.38±0.70 ^{AB}	8.40±1.92 ^{AB}	26.05±4.52 ^A

^{A-B}Fermentasyon süresince farklı büyük harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemlidir (P≤0.05). ^a120 saat fermentasyon boyunca belirlenen aroma maddelerinin oransal bolluğu. T.E: tespit edilemedi. S.E: standart hata

A. sojæ tarafından üretilen aroma maddelerinin değişimi incelendiğinde (Çizelge 4.31), (E)-2-oktenal ve (E)-2-oktanol üretiminin 24 saat fermentasyon süresinde başladığı, ve (Z)1,5oktadien-3-ol, 1-okten-3-ol, ve 3-oktanon'un ise 48 saatlik fermentasyon sonunda *A. sojæ* tarafından üretimine başlandığı belirlenmiştir. Diğer taraftan 72 saatlik fermentasyondan sonra (Z)1,5oktadien-3-ol, 1-okten-3-ol, ve 3-oktanon'un miktarlarının önemli bir değişimin meydana gelmediği belirlenmiştir. Söz konusu aroma maddelerinin maksimum miktarları sırasıyla 10.70 µg kg⁻¹, 18.747 µg kg⁻¹ ve 45.43 µg kg⁻¹ olarak tespit edilmiştir. Diğer taraftan, (E)-2-oktenal ve (E) 2-oktanol'ün miktarlarının ise fermentasyon süresinin sonuna doğru domates küspesinde arttığı belirlenmiştir.

Üretilen aroma maddelerinin miktarlarının maksimum düzeyde olduğu fermentasyon süresi göz önünde bulundurularak hesaplanan verimlilik değerleri Çizelge 4.32'de verilmiştir. Domates küspesinin *T. atroviride* ile fermentasyonunda en yüksek verimlilik değerine sahip aroma maddelerinin 1-okten-3-ol ve (E)-2-oktenol olduğu belirlenmiştir. Söz konusu aroma maddelerinin verimlilik değerleri sırasıyla 3.68 µg kg⁻¹ sa.⁻¹ ve 0.77 µg kg⁻¹ sa.⁻¹ olarak hesaplanmıştır. *A. sojæ*'nin fermentasyonunda ise en yüksek verimlilik değerine yine 1 okten-3-ol ve 3-oktanonun sahip olduğu belirlenmiştir. 1-okten-3-ol ve 3-oktanon'un verimlilik değerleri sırasıyla 1.56 µg kg⁻¹ sa.⁻¹ ve 0.56 µg kg⁻¹ sa.⁻¹ olarak hesaplanmıştır. *T. atroviride*'nin 1-okten-3-ol ve (E)-2-oktenol üretiminin *A. sojæ*'dan daha fazla olduğu, *A. sojæ*'nin 3-oktanone üretiminin ise *T. atroviride*'den daha fazla olduğu söylenebilir.

Çizelge 4.32. *A. sojæ* ve *T. atroviride* tarafından domates küspesinde üretilen aroma maddelerinin verimlilikleri

Uçuşu bileşen	Ortalama±S.E (µg kg ⁻¹ domates küspesi solüsyonu sa. ⁻¹) ^a	
	<i>A.sojæ</i>	<i>T.atroviride</i>
(Z)1,5oktadien-3-ol	0.08±0.001	0.06±0.01
1-okten-3-ol	1.56±0.01	3.68±0.01
3-oktanon	0.56±0.03	0.27±0.02
3-oktanol	-	0.01±0.01
(E)-2-oktenal	0.29±0.04	0.05±0.01
(E)-2-oktenol	0.21±0.05	0.77±0.01
Fenil etil alkol	-	0.25±0.07

^aAroma maddesinin maksimum miktarının belirlendiği fermentasyon süresine göre hesaplanmıştır.S.E. standart sapma

Literatürde *A. sojae* ve *T. atroviride* kullanılarak tarımsal atıklardan özellikle enzim üretimi ile ilgili bir çok çalışma (Maraques ve ark., 2014; Demir ve ark., 2012; Gürkok ve ark., 2011; Öztürk ve ark., 2010; Tokatlı ve ark., 2009) bulunmasına rağmen, doğal aroma maddelerinin üretimi ile ilgili çalışmalar çok kısıtlıdır. Ancak küflerin birincil ve ikincil metabolizması sonucu yaklaşık 250 uçucu organik bileşiğin oluştuğu belirlenmiştir. Küf metabolizması sonucu oluşan uçucu bileşenler basit hidrokarbon, hetero siklik bileşikler, aldehit, keton, alkol, fenol, tiyo alkol ve tiyo ester türevli bileşiklerden oluşmaktadır. 1-okten-3-ol, izoamil asetat, sabinen (biber) 6-pentil- α -piron (hindistan cevizi), β -karyofilen (odunumsu), izo butirik asit (ransit peynir), benzealdehit (acı badem), 1,8-sineol (kafur), 2-metil-1-propanol (alkol), 2-heptanon (peynir), ve izoamil alkol (muz, trüf)' ün küf metabolizması sonucu üretilen yaygın aroma maddeleri olduğu bildirilmektedir (Morath ve ark., 2012; Marek-Nemcovic ve ark., 2008). Bununla birlikte, *Trichoderma* spp. küf cinsleri ile hindistan cevizi aroması veren 6-pentil- α -pironun yüksek miktarda üretilebileceği belirtilmektedir (Araujo ve ark., 2002). Daha önceki bölümlerde de ifade ettiğimiz gibi, özellikle 1-okten-3-ol gibi 8 karbonlu aroma bileşenlerinin, aldehit, keton, ester ve lakton türevli aromatiklerin üretimi yağ asitlerinin enzimatik veya oto oksidasyona uğratılmasıyla gerçekleşmektedir (Schnürer ve ark., 1999; Combet ve ark., 2006).

Kalyani ve ark., (2000) yaptıkları bir çalışmada *T. harzianum* küfü ile 30 °C'de sentetik besiyerinde karıştırmalı (derin kültür) ve karıştırmaz (yüzey fermentasyonu) fermentasyon koşullarında sırasıyla 455 mg L⁻¹ ve 167 mg L⁻¹ düzeyinde 6-pentil- α -piron üretilebileceğini belirlemişlerdir. *Aspergillus* cinsi küflerin aroma üretimleri incelendiğinde, özellikle Japonya ve Çin gibi Uzak Doğu ülkelerinde fermente hububat tanelerinden üretilen soya sosu, koji, sake, miso gibi gıda ürünlerinin aroma profilini oluşturdukları görülmektedir. Örneğin, Feng ve ark., (2013) yaptıkları bir çalışmada soya fasulyesinin *A. oryzae* HN 3.042 ile fermentasyona bırakılması ile üretilen soya sosunda, 1-okten-3-ol, 3-oktanol, (E)-2-oktenal'in yüksek oranda üretildiğini belirlemişlerdir. Ayrıca yapılan diğer bir çalışmada nemlendirilmiş mısır ve yerfıstığı kabuklarının toksijenik olan ve toksijenik olmayan *A. flavus* küfleriyle inkübasyona bırakılmasıyla oluşan metabolik uçucuların çoğunlukla alkol, aldehit ve ester türevli bileşiklerin olduğu belirlenmiştir. Her iki özellikteki *A. flavus* küfünün oluşturduğu aroma maddeleri etil alkol (tatlı), 1-propanol (alkol), bütanal (keskin kakao), 2-metil propanol (viski), 3-metil furan, etil asetat (meyvemsi), 1- bütanol (balsamik), izoamil alkol (muz), etilizobutanoat (meyvemsi), 2-metil-1-bütanol (kavrulmuş), 1-pentanol (alkol), 2-pentanol (fermente), 3-

metil-3-buten-1-ol (meyvemsi), benzaldehit (acı badem), 3-octanon (mantar) ve 2-etil hekzanol (sitrus)dur (Jurjevici ve ark., 2008). Yapılan diğer bir çalışmada da benzer aroma maddelerinin soya fasulyesi ve buğday kepeği karışımının *A. oryzae* ile fermente edilmesiyle üretilebildiği gösterilmiştir (Yanfeng ve Wenyi, 2009).

Sonuç olarak, özellikle mantar aroması ile ilişkilendirilen 1-okten-3-ol, 3-octanon ve 3- oktanol gibi bileşiklerin domates küspesinden *T. atroviride* ve *A.sojae* küfleri ile biyoteknolojik olarak üretilebileceği belirlenmiştir. Bununla birlikte domates küspesinin *T.atroviride* ile fermente edilmesiyle literatürde 6-pentil- α -piron üretiminin gerçekleşmediği, ancak fenil etil alkol üretiminin *T. atroviride* tarafından domates küspesinde üretildiği belirlenmiştir.

4.7.3. *A. sojae* ve *T. atroviride* ile fermente edilmiş domates küspenin duyuşal özellikleri

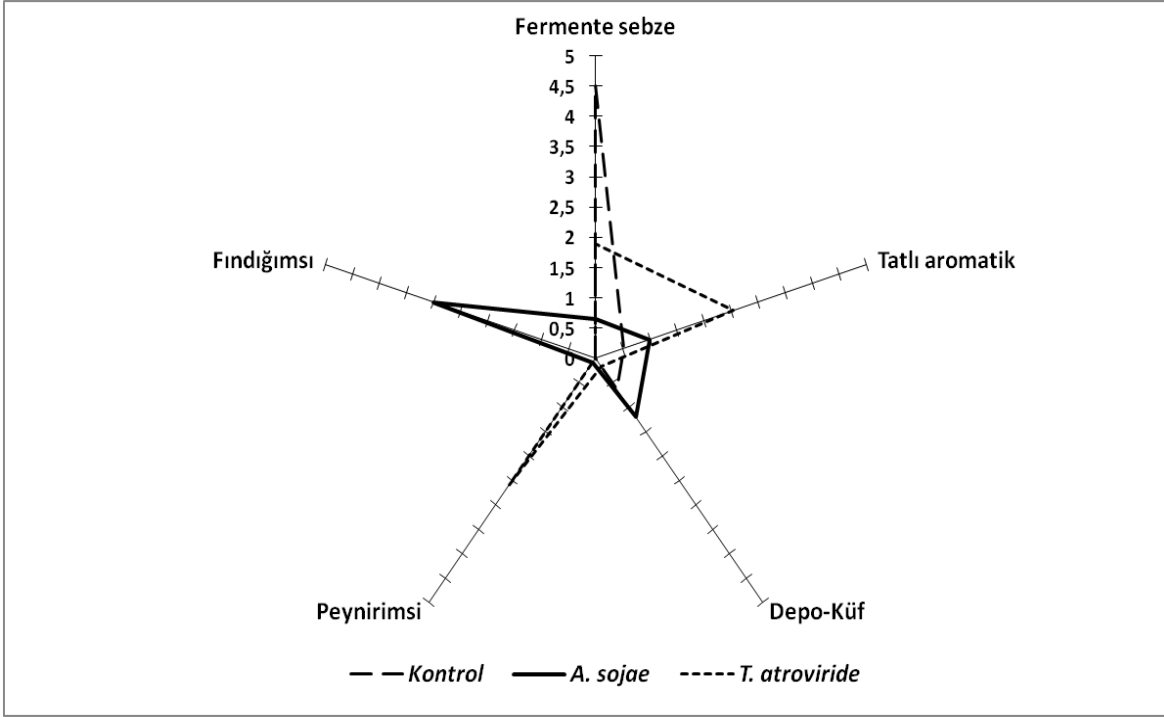
A. sojae ve *T. atroviride* ile fermente edilmiş domates küspesinin duyuşal karakteristikleri 10 adet duyuşal tanımlayıcı terim ile ortaya konmuştur (Çizelge 4.33).

Çizelge 4.33. *A. sojae* ve *T. atroviride* ile fermente edilmiş domates küspesinin duyuşal özellikleri

Aromatik Özellik	Duyuşal Puan ^a (Ortalama \pm S.E)			P değeri
	<i>Kontrol</i>	<i>A. sojae</i>	<i>T. atroviride</i>	
Pişmiş domates	2.07 \pm 0.26 ^A	1.25 \pm 0.09 ^B	1.80 \pm 0.24 ^A	0.01
Fasulyemsi	1.39 \pm 0.07 ^A	1.35 \pm 0.07 ^A	0.26 \pm 0.21 ^B	0.01
Fermente sebze	4.53 \pm 0.22 ^A	0.64 \pm 0.10 ^C	1.89 \pm 0.21 ^B	0.01
Toprak	0.80 \pm 0.09	0.89 \pm 0.15	0.91 \pm 0.09	0.70
Tatlı aromatik	0.52 \pm 0.08 ^B	1.0 \pm 0.10 ^B	2.55 \pm 0.31 ^A	0.01
Metalik	0.87 \pm 0.09 ^A	0.42 \pm 0.08 ^B	0.82 \pm 0.08 ^A	0.01
Tarhana	0.89 \pm 0.14	T.E	T.E	-
Depo/küf	0.64 \pm 0.09 ^A	1.21 \pm 0.59 ^A	0.17 \pm 0.10 ^B	0.01
Peynirimsi	T.E	0.10 \pm 0.10 ^B	2.59 \pm 0.37 ^A	0.01
Fındığımsı/toz/beton	T.E	3.0 \pm 0.61 ^A	T.E	-

^{A-B}Aynı aromatik özellikte farklı büyük harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemlidir (P<0.05).

^a120 saat fermentasyon sonunda belirlenmiştir. T.E:tespit edilmemiştir. SE: standart hata.



Şekil 4.8. *A. sojae* ve *T. atroviride* ile fermente edilmiş domates küspesinin bazı duyuşal özelliklerine ait örümcek ağı diyagramı

Fermente domates küspesinde belirlenen duyuşal aroma terimleri; pişmiş domates, fasulyemsi, fermente sebze, toprak, tatlı aromatik, metalik, tarhana, depo/küf, peynirimsi ve fındığımsı/betondur. Yapılan varyans analizi sonucunda toprak kokusu hariç diğer aromatik özelliklerin yoğunluklarının küf çeşidine göre değişim gösterdiği belirlenmiştir ($P \leq 0.01$). Buna göre, *T. atroviride* ile fermente edilmiş domates küspesinde pişmiş domates, tatlı aromatik ve metalik aromaları, *A. sojae* ile fermente edilmiş domates küspelerine göre daha yüksek düzeyde algılanmıştır. *A. sojae* ile fermente edilmiş domates küspesinde ise fındığımsı/beton aromasının kontrol grubu domates küspesi örneklerinden daha yüksek algılandığı belirlenmiştir. Söz konusu aroma bileşeni *T. atroviride* ile fermente edilmiş domates küspelerinde belirlenmemiştir (Şekil 4.8). Ayrıca, peynirimsi aromasının da *T. atroviride* ile fermente edilmiş domates küspelerinde hem kontrol grubu hem de *A. sojae* ile fermente edilmiş domates küspelerinden daha yüksek yoğunlukta algılandığı tespit edilmiştir.

4.8. Domates K sbesinde Bakteri Fermentasyonu ile Gerçekleştirilen alışmalar

Bakteriyel fermentasyon denemelerinde *Lactobacillus buchneri* B1837 ve *Acetobacter* spp. nin domates k sbesinde mikrobiyal gelişimlerinin olduğu ancak her iki mikroorganizmanın da herhangi bir aroma üretimi gerçekleştirmediği GCO analizleri ile belirlenmiştir. Çizelge 4.34’de *L. buchneri* ve *Acetobacter* spp.’nin domates k sbesindeki gelişimleri gösterilmiştir.

Çizelge 4.34 . Domates k sbesinde *L. buchneri* ve *Acetobacter* spp. erlen düzeyinde gelişimleri

Fermentasyon süresi (saat)	Hücre sayısı Ortalama±S.E (Log kob/mL domates k�sbesi solüsyonu)	
	<i>L. buchneri</i>	<i>Acetobacter</i> spp.
0	7.0±0.01 ^{Ba}	7.0±0.01 ^{Ca}
24	7.92±0.07 ^{Aa}	8.13±0.06 ^{Ba}
48	8.0±0.09 ^{Ab}	8.78±0.21 ^{Aa}
72	7.95±0.01 ^{Ab}	8.87±0.01 ^{Aa}
<i>P değeri</i>	0.01	

^{A-C} Aynı mikroorganizma çeşidinde farklı büyük harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemlidir (P<0.05). ^{a-b} Aynı fermentasyon süresinde farklı küçük harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemlidir (P<0.05). kob: koloni oluşturan birim, SE: standart hata

Yapılan varyans analizi sonucunda domates k sbesinde *L. buchneri* ve *Acetobacter* spp.’nin bakteriyel gelişiminin fermentasyon süresi ve mikroorganizma çeşidine bağlı olarak değişiklik gösterdiği belirlenmiştir (izelge 4.34). Buna göre *L. buchneri*’nin gelişiminin 24 saat boyunca devam ettiği, fermentasyon süresinden sonra ise hücre sayısı artışında önemli bir değişim olmadığı (P≤0.05) yani gelişiminin durağan faza geçtiği belirlenmiştir. Buna karşın biber k sbesinde *Acetobacter* spp. gelişiminin 48 saat fermentasyon boyunca devam ettiği ve 72 saat fermentasyon süresi sonunda gelişiminin durağan faza geçtiği ve hücre sayısında önemli bir değişimin olmadığı belirlenmiştir (P≥0.05, izelge 4.34). 72 saat fermentasyon boyunca *L. buchneri* ve *Acetobacter* spp.’nin hücre sayılarında sırasıyla 1.0 ve 1.87 log’luk bir artışın olduğu gözlenmiştir. Çizelge 4.35’de *L. buchneri* ve *Acetobacter* spp. ile fermente edilmiş domates k sbesinde belirlenen aroma aktif bileşenler gösterilmiştir. Çizelge 4.35 incelendiğinde *L. buchneri* ve *Acetobacter* spp. ile fermente olmuş domates k sbeslerinde belirlenen aroma bileşenlerinin yoğunluklarının kontrol grubunda daha düşük olduğu bulunmuştur. Ayrıca bazı aroma maddelerinin ise fermente domates k sbeslerinde olmadığı tespit edilmiştir.

Çizelge 4.35. *L. buchneri* ve *Acetobacter* spp. ile fermente edilmiş domates küspesinde belirlenen aroma aktif bileşenler.

RI ^a	Uçucu Bileşen	Aroma Tanımlaması	Belirleme yöntemi	Aroma yoğunluğu ^b (ortalama±SE)			
				Kontrol ^c	<i>L. buchneri</i>	Kontrol ^d	<i>Acetobacter spp.</i>
<500	Metanetiylol	Sülfür	RI, O	0.50±0.40	0.40±0.30	0.50±0.40	0.40±0.30
582	Diasetil	Tereyağı	RI,	2.0±1.40	0.40±0.30	3.0±0.70	1.50±0.40
625	Asetik asit	Ekşi, sirke	RI, O	T.E	T.E	T.E	1.0±0.70
777	Hekzanal	Çimen, yaprak	RI, O	T.E	T.E	2.0±1.40	T.E
806	4-metil-3-penten-2-on	Ester	RI, O	0.50±0.40	T.E	0.50±0.40	0.50±0.40
858	metil 2-metil pentanoat	Ester, tatlı	RI, O	0.40±0.30	T.E	0.40±0.30	1.0±0.70
860	Izovalerik asit	Ter, ekşi	RI, O	1.50±1.0	2.0±0.10	1.50±1.0	2.0±0.1
872	Izoamil asetat	Meyvemsi	RI, O	1.0±0.70	1.0±0.70	1.0±0.70	2.0±1.40
903	2-Heptanon	Besiyeri	RI, O	T.E	0.50±0.30	T.E	T.E
910	Metiyonal	Haşlanmış patates	RI, O	2.50±1.80	0.75±0.53	2.50±1.80	T.E
932	2-Asetil-1-pirolin	Patlamış mısır	RI, O	1.0±0.70	0.75±0.53	1.0±0.70	T.E
978	1-okten-3-ol	Mantar	RI, O	5.50±0.40	5.0±0.70	5.3±0.20	4.0±0.01
984	2,3-Oktadienon	Sardunya	RI, O	3.0±0.40	2.25±1.60	3.0±2.0	2.5±1.80
1058	3-okten-2-on	Kirli, tozlu	RI, O	4.0±1.50	1.0±0.7	5.30±0.20	3.0±0.70
1081	Bilinmeyen 1	Metalik	RI, O	2.0±1.0	2.25±1.60	T.E	T.E
1091	Guaiakol	Pamuk şeker	RI, O	T.E	0.40±0.30	T.E	0.50±0.40
1096	2,5-dimetil-3-etilpirazin	Yanık şeker	RI, O	T.E	T.E	1.0±0.70	1.0±0.1
1106	Linalool	Çay, çiçek	RI, O	T.E	T.E	T.E	T.E
1125	3,5-oktadien-2-on	Kızarmış yağ	RI, O	0.40±0.30	T.E	T.E	T.E
1151	Izobutil-2-metil butanoat	Bitkisel, tatlı	RI, O	T.E	T.E	0.80±0.50	0.80±0.50
1156	(Z)-2-nonenal	Salatalık	RI,	0.75±0.50	0.50±0.40	T.E	T.E
1162	(E,Z)-2,6-nonadien-1-ol	Saman	RI, O	T.E	0.75±0.50	0.40±0.30	T.E
1186	2,3-dietil-5-metil-pirazin,	Biber	RI, O	T.E	T.E	2.0±1.40	T.E
1232	2,4-nonadienal	Okside yağ	RI, O	0.75±0.50	0.50±0.40	0.80±0.50	T.E
1248	3-karvomenthenone	Balikhane	RI, O	0.75±0.50	1.0±0.70	T.E	T.E
1294	Sitral	Sitrus	RI, O	0.25±1.80	0.50±0.40	0.30±0.20	T.E

^aHP-5 MS kolonda hesaplanmıştır, ^b72 saat fermentasyon sonunda belirlenen aroma yoğunluğu, ^c37 °C *L. buchneri* inoküle edilmeden inkübe edilen domates küspesi için kontrol örneği, ^d30 °C *Acetobacter* spp. inoküle edilmeden inkübe edilen domates küspesi için kontrol örneği, SE: standart hata, T.E: Tespit edilmedi. RI:alkonma indeksi, O: Koku

Çalışmada domates küspesinde enzim ve asit uygulaması yapılarak *P. fluorescens*, *P. putida*, *C. cellulans* ve *Streptomyces* spp. ile fermentasyon denemeleri de yapılmıştır. Ancak bu denemelerde de mikrobiyal bir gelişim gözlenmemiştir. Çizelge 4.36'da söz konusu bakterilere ait gelişimler verilmiştir. Çizelge 4.36 incelendiğinde domates küspesinde söz konusu tüm mikroorganizmaların başlangıçta inoküle edilen hücre sayıları 72 saat fermentasyon boyunca azalmıştır. *P. putida* ve *P. fluorescens*'ın 48 saatlik fermentasyon süresince hücre sayılarının azaldığı tespit edilmiştir. *C. cellulans* hücre sayısında ise 48 saatlik fermentasyon boyunca önemli bir değişimin olmadığı, ancak

fermentasyonun 72. saatinde hücre sayısının 3 log'dan daha düşük düzeyde belirlenmiştir.

Çizelge 4.36. Domates küspesinde bazı bakterilere ait sayım sonuçları

Mikroorganizama/uygulama	Hücre sayısı			
	Ortalama \pm S.E (log kob/mL domates küspesi solusyonu)			
	Fermentasyon süresi (saat)			
	0	24	48	72
<i>Streptomyces</i> spp.		3.77 \pm 0.07	3.65 \pm 0.04	4.38 \pm 0.60
<i>C. cellulans</i> (asit uygulaması)		- ^A	6.70 \pm 0.01	<3
<i>C. cellulans</i> (enzim uygulaması)		-	7.52 \pm 0.60	<3
<i>P. putida</i> (enzim uygulaması)	7.0 \pm 0.01	-	5.00 \pm 0.01	<1
<i>P. putida</i> (asit uygulaması)		-	<3	<1
<i>P. fluorescens</i> (enzim uygulaması)		-	<3	<3
<i>P. fluorescens</i> (asit uygulaması)		-	<3	<1

^A Sayım alınmamıştır. kob: koloni oluşturan brim, SE: standart hata

4.9. *K. marxianus* ve *D. hansenii* Kullanılarak Biber K sbesinde Yapılan alışmalar

4.9.1. *K. marxianus* ve *D. hansenii*'nin biber k sbesinde mikrobiyal gelişimlerinin incelenmesi

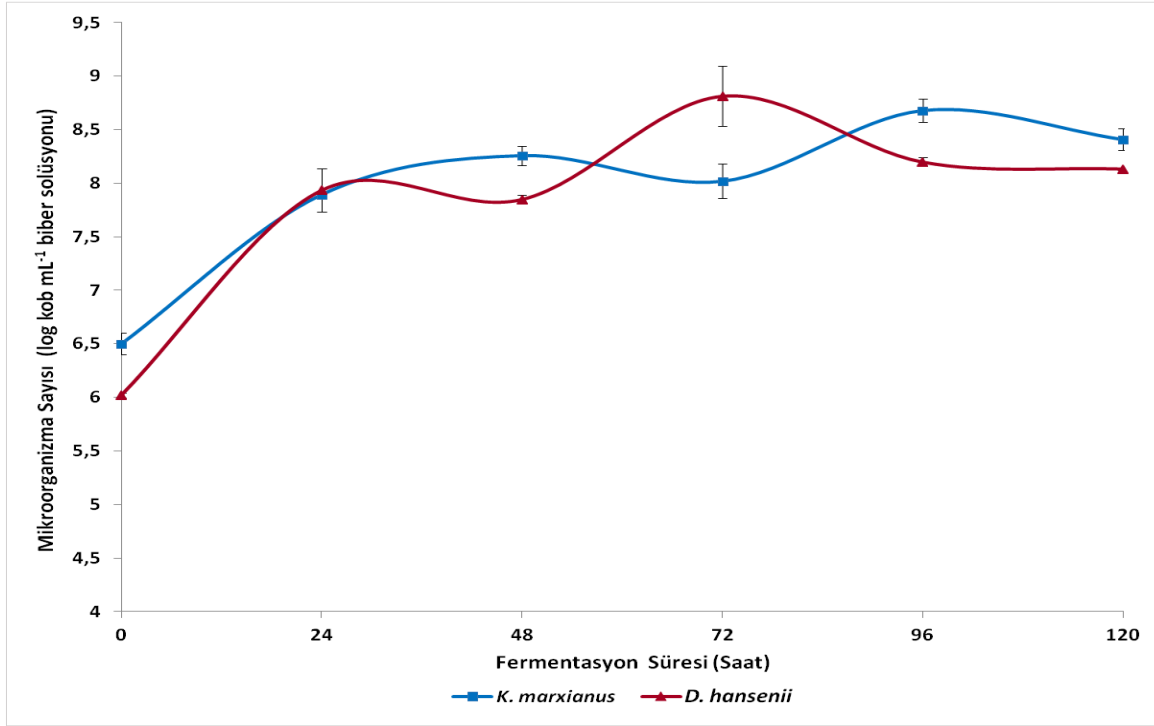
Biber k sbesinde *K. marxianus* ve *D. hansenii* mayaları ile erlen düzeyinde gerçekleştirilen fermentasyon denemelerinde gözlemlenen mikrobiyal gelişimler izelge 4.37'de verilmiştir.

Çizelge 4 .37. Biber k sbesinde *K. marxianus* ve *D. hansenii*'nin erlen düzeyinde gelişimleri

Fermentasyon süresi (saat)	Hücre sayısı	
	Ortalama±SE (log kob mL ⁻¹ biber k�sbesi solüsyonu)	
	<i>K. marxianus</i>	<i>D. hansenii</i>
0	7.00±0.01 ^{Ca}	7.00±0.01 ^{Ba}
24	8.33±0.09 ^{Ba}	8.27±0.06 ^{Aa}
48	9.65±0.34 ^{Aa}	8.80±0.36 ^{Ab}
72	8.12±0.07 ^{Ba}	8.76±0.23 ^{Aa}
P değeri	0.04	

^{a-b}Aynı fermentasyon süresinde farklı küçük harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemlidir (P<0.05). ^{A-C}Aynı mikroorganizma çeşidinde farklı küçük harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemlidir (P<0.05)., kob: koloni olşuturan birim, SE: standart hata

Yapılan varyans analizi sonucunda biber k sbesinde her iki mikroorganizmanın mikrobiyal gelişiminin fermentasyon süresi ve mikroorganizma çeşidine bağlı olarak değişiklik gösterdiği belirlenmiştir (P=0.04). Buna göre, 72 saatlik fermentasyon boyunca biber k sbesinde *K. marxianus*' un hücre sayısında maksimum 2.65 log'luk bir artışın olduğu, *D. hansenii*'nin hücre sayısında ise 1.80 log'luk bir artışın meydana geldiği belirlenmiştir. Her iki mayanın da mikrobiyal gelişiminin durağan faza 48 sonra geçtiği tespit edilmiştir.. Diğer taraftan, fermentasyon boyunca her iki mayanın hücre sayıları arasında önemli bir farklılığın olmadığı bulunmuştur. Çizelge 4.37 incelendiğinde, *K. marxianus* 'un mikrobiyal gelişiminin pratikte *D. hansenii*'den daha hızlı olduğu ve ölüm fazına yüksek miktarda hücre kaybıyla geçtiği söylenebilir. Biber k sbesinde biyoreaktör düzeyinde gerçekleştirilen fermentasyonda gözlemlenen mikrobiyal gelişimler Şekil 4.9'da gösterilmiştir.



Şekil 4.9. Biber küspesinde biyoreaktör koşullarında *K. marxianus* ve *D. hansenii*'nin gelişimleri

Biyoreaktör düzeyinde *K. marxianus*'un maksimum hücre sayısı artışının 2.14 log olduğu, *D. hansenii*'nin hücre sayısındaki artışın ise 2.79 log düzeyinde olduğu belirlenmiştir. Domates küspesindeki mikrobiyal gelişime benzer olarak *K. marxianus*'un gelişiminin yine 24 saatlik fermentasyon sonunda durağan faza geçtiği, *D. hansenii*'nin mikrobiyal gelişiminin ise 48 saatlik fermentasyon süresi sonunda durağan bir şekilde devam ettiği görülmektedir. Her iki mikroorganizmanın spesifik üreme hızı (μ) ve ikilenme süresi (t_d) incelendiğinde *K. marxianus* için μ değerinin 0.05 sa^{-1} , *D. hansenii* için ise bu değer 0.09 sa^{-1} olduğu hesaplanmıştır. Mikroorganizmaların ikilenme süreleri ise sırasıyla 14.14 sa. (*K. marxianus* için) ve 7.78 sa. (*D. hansenii* için) olarak belirlenmiştir. Çalışmamızda *K. marxianus* ve *D. hansenii*'nin erlen düzeyinde biber kabuğunda gelişimine ait elde ettiğimiz bulgular yapılan diğer bazı çalışmalardaki sonuçlarla benzerdir. Ancak *K. marxianus* ve *D. hansenii*'nin biber küspesinde gelişimlerine ait bulduğumuz spesifik üreme hızı ve ikilenme süreleri yapılan diğer çalışmalarda bulunan değerlerden daha düşüktür (Duarte ve ark., 2008; Dominguez ve ark., 1997; Hong ve ark., 2007; Pinheiro ve ark., 2003; Rajoka, 2007).

Karbon kaynağı olarak farklı şeker türevlerini içeren sentetik besiyerinde *K. marxianus*'un β -ksilosidaz enzim üretiminin incelendiği çalışmada, *K. marxianus*'un

spesifik üreme hızının 0.26 ile 0.59 sa⁻¹ arasında değiştiği belirlenmiştir. En yüksek spesifik üreme hızı glikoz içeren besiyerinde hesaplanmıştır (Rajoka, 2007). Lane ve ark., (2011) yaptıkları bir çalışmada 13 adet farklı *K. marxianus* türünün sentetik etil alkol üretme potansiyelini araştırmışlardır. Çalışma sonucunda, 30 °C'de 180 rpm karıştırma hızında erlen düzeyinde fermentasyon koşullarında *K. marxianus* türlerinin maya YPL besiyerinde spesifik üreme hızlarının 0.50 ile 0.99 sa⁻¹ arasında değiştiği belirlenmiştir ve en yüksek spesifik üreme hızına *K. marxianus* CBS 745'in sahip olduğu ifade edilmiştir. Yapılan diğer bir çalışmada ise 50 g L⁻¹ ile 300 g L⁻¹ arasında ksiloz içeren sentetik besiyerinde, 30 °C, 250 rpm karıştırma hızında ve mikroaerobik fermentasyon koşullarında *D. hansenii* NRRL Y-7426'nın spesifik üreme hızının 0.0012 ile 0.0054 sa⁻¹ arasında değiştiği belirlenmiştir (Converti ve ark., 2002).

Sonuç olarak, hem *K. marxianus* hem de *D. hansenii*'nin erlen ve biyoreaktör düzeyinde gelişimlerine ait elde ettiğimiz hücre sayısı artışı değerleri incelendiğinde, erlen düzeyindeki üretimlerde *K. marxianus*'un biber küspesinde gözlemlenen hücre sayısı artışının *D. hansenii*'den daha yüksek olduğu, ancak biyoreaktör koşullarında her iki mayanın da hücre sayısı artışının benzer olduğu belirlenmiştir. Her iki maya türü için hesaplanan spesifik üreme hızları değerlendirildiğinde, *D. hansenii*'nin biber küspesinde gelişiminin daha hızlı olduğu söylenebilir. Bununla birlikte, her iki mayanın durağan fazdaki hücre sayılarının birbirine yakın olduğu ve fermentasyon süresince biber küspesinde canlılıklarını birbirlerine benzer şekilde korudukları ifade edilebilir (Çizelge 4.9). Ayrıca *K. marxianus* ve *D. hansenii* için domates küspesinde hesapladığımız spesifik üreme hızlarının ve ikilenme sürelerinin literatürde her iki mikroorganizma için sentetik besiyerlerinde rapor edilen değerlerden daha düşük olduğu görülmüştür.

4.9.2. *K. marxianus* ve *D. hansenii*'nin biber küspesinde ürettiği aroma maddelerinin incelenmesi

Çalışmada erlen düzeyinde *K. marxianus* ve *D. hansenii* ile fermente edilmiş biber küspelerinde toplam 30 adet aroma aktif bileşen belirlenmiştir. Fermente biber küspelerinde belirlenen aroma bileşenleri Çizelge 4.38'de gösterilmiştir. Fermente biber küspelerinde belirlenen aroma aktif bileşenler, domates küspesinde olduğu gibi asit, aldehit ve alkol türevli bileşiklerden oluşmaktadır.

Çizelge 4.38. *K. marxianus* ve *D. hansenii* ile fermente edilmiş biber küspesinde belirlenen aroma aktif bileşenler

RI ^a	Uçucu bileşen	Aroma Tanımı	Belirleme yöntemi	Aroma yoğunluğu ^b (ortalama±SE)		
				Kontrol	<i>K.marxianus</i>	<i>D.hansenii</i>
592	Diasetil	Tereyağ	RI, MS, O	3.8±0.6	0.8±0.2	T.E
617	Asetik asit	Ekşi, sirke	RI, MS, O	2.0±1.5	T.E	1.5±1.0
801	Hekzanal	Çimen, yaprak	RI, MS, O	1.8±0.6	0.5±0.4	T.E
861	Izovalerik asit	Ekşi meyvemsi	RI, O	2.0±0.1	2.5±1.5	2.3±0.5
871	Izoamil asetat	Meyvemsi	RI, MS, O	0.3±0.2	6.0±0.1	2.5±1.5
883	Stiren	Balsamik	RI, MS, O	3.0±2.0	0.5±0.4	T.E
899	2-Heptanon	Besiyeri	RI, MS, O	1.5±1.0	T.E	T.E
907	Metiyonal	Haşlanmış patates	RI, O	5.5±0.4	1.5±1.0	2.0±0.7
910	2,4 hekzadienal	Haşlanmış sebze	RI, O	T.E	T.E	1.0±0.1
933	2-asetil-1-pirolin	Patlamış mısır	RI, O	0.4±0.3	2.0±0.7	T.E
957	2-hepten-1-al	Yeşil yaprak	RI, O	T.E	0.5±0.4	T.E
981	1-okten-3-ol	Mantar	RI, MS, O	5.8±1.5	2.5±0.4	3.5±0.4
984	(Z)-1,5 oktadien-3-on	Sardunya	RI, MS, O	1.5±1.0	2.5±1.5	2.0±0.7
952	Hekzanoik asit	Ekşi, asit	RI, MS, O	0.3±0.2	T.E	T.E
1001	Hekzil asetat	Ferah, kolonya	RI, MS, O	0.3±0.2	T.E	1.0±0.7
1052	Benzenasetaldehit	Gül, çiçek	RI, MS, O	0.8±0.5	0.8±0.5	1.5±1.0
1061	Bilinmeyen 1	Yanık, kirli	RI, O	1.3±0.5	2.5±1.0	3.5±1.5
1081	Bilinmeyen 3	Yoğurt	RI, O	T.E	0.5±0.4	T.E
1084	Bilinmeyen 2	Yanık, baharat	RI, MS, O	T.E	T.E	0.8±0.5
1097	3,5-oktadien-2-on	Kızarmış yağ	RI, MS, O	4.0±0.7	1.5±1.0	0.5±0.4
1106	Linalool	Çay	RI, MS, O	2.5±1.7	2.0±1.5	1.5±1.0
1140	Fenil etil alkol	Gül	RI, MS, O	0.5±0.4	2.3±1.5	4.5±0.4
1147	(E)-2-nonenal	Okside yağ	RI, O	T.E	T.E	0.5±0.4
1160	(E,Z)-2,6-nonadienol	Saman, tütün	RI, O	4.5±0.4	T.E	T.E
1173	Dekanal	Saman	RI, MS, O	5.0±0.7	1.5±1.0	1.0±0.7
1183	2,3-dietil-5-metil-pirazin,	Biber	RI, O	6.5±0.4	6.3±0.5	6.0±0.7
1246	3-karvomenthenon	Balıklıhane	RI, MS, O	1.0±0.7	1.0±0.7	0.5±0.4
1333	(E,E)-2,4-dekadienal	Yağ	RI, MS, O	3.5±0.4	0.5±0.4	0.9±0.1
1349	α-kubenen	Saman, kuru bitki	RI, MS, O	0.5±0.4	T.E	T.E
1488	β-damasenon	Tatlı, üzüm	RI, MS, O	1.5±1.0	T.E	0.8±0.5

^aRI:Alıkonma indeksi HP-5 MS kolonda hesaplanmıştır, ^b72 saat fermentasyon sonunda belirlenen aroma yoğunluğu, SD: standart sapma, T.E: Tespit edilmedi, MS:kütle spektrometresi, O: Koku

K. marxianus ve *D. hansenii* ile fermente edilmiş biber küspelerinde izoamil asetat (meyvemsi), fenil etil alkol (gül) ve yanık kirli aroma ile ilişkilendirilen bilinmeyen 1 nolu aroma bileşenlerinin yoğunluğunun kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu belirlenirken, diğer aroma aktif bileşenlerin yoğunluklarının genelde kontrol örneklerine benzer olduğu bulunmuştur. Kontrol grubu biber küspelerinde belirlenen ancak fermente

domates küspelerinde belirlenemeyen aroma bileşenleri de tespit edilmiştir. Örneğin; 2-heptanon (besiyeri), hekzanoik asit (ekşi, asit), (E,Z)-2,6-nonadienol ve α -kubenen her iki maya ile fermente edilmiş biber küspelerinde belirlenmezken, asetik asit (sirke), hekzil asetat (kolonya), (E)-2-nonenal ve β -damasenon *K. marxianus* ile fermente edilmiş biber küspelerinde tespit edilmemiştir. *D. hansenii* ile fermente edilmiş biber küspelerinde tespit edilemeyen aroma bileşenleri ise diasetil (tereyağı), stiren (balsamik), hekzanal (çimen), 2-asetil-1-pirolin (patlamış mısır) dir.

Erlen düzeyinde *K. marxianus* ve *D. hansenii* ile fermente olmuş biber küspesinde belirlenen aroma bileşenlerinden miktarı artanlar Çizelge 4.39’ da gösterilmiştir.

Çizelge 4.39. *K. marxianus* ve *D. hansenii* ile fermente edilmiş biber küspesinde belirlenen bazı aroma maddeleri

Aroma Maddesi	Aroma Tanımı	Ortalama Miktar \pm S.E ($\mu\text{g kg}^{-1}$ biber küspesi solüsyonu) ^a		
		Kontrol	<i>K. marxianus</i>	<i>D. hansenii</i>
Izoamil alkol (P=0.05)	Meyvemsi	T.E	59.73 \pm 13.35 ^B	176.50 \pm 23.80 ^A
Izoamil asetat (P=0.03)	Fermente meyve	T.E	2.62 \pm 0.83 ^B	16.90 \pm 3.81 ^A
Fenil etil alkol (P=0.019)	Çiçek, gül	3.77 \pm 0.36 ^B	78.52 \pm 10.08 ^B	49.42 \pm 4.19 ^{AB}
Fenil etil asetat (P=0.01)	Bal, çiçek	T.E	13.12 \pm 1.42 ^B	34.93 \pm 0.12 ^A

^{A-C}Aynı uçucu bileşende farklı büyük harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemlidir (P<0.05). ^a72 saat fermentasyon sonunda belirlenen aroma maddelerinin oransal bolluğu, T.E: tespit edilemedi

K. marxianus ve *D. hansenii* ile fermente edilmiş biber küspesinde GCO analizi ile tespit edilememesine rağmen izoamil alkol (muz) ve fenil etil asetat (bal, çiçek) her iki mikroorganizma tarafından fermente edilen biber küspesi örneklerinde GC-MS analizi ile tespit edilmiştir. Bu durum, mayaların biber küspesinde bu iki aroma maddesini de ürettiklerini göstermektedir. Yapılan varyans analizi sonucunda, *K. marxianus* ve *D. hansenii*’nin biber küspesinde ürettikleri izoamil alkol, izoamil asetat, fenil etil alkol ve fenil etil asetat miktarları arasında önemli bir fark bulunmuştur (P \leq 0.05,). Buna göre, izoamil alkol, izoamil asetat, fenil etil alkol ve fenil etil asetat’ın *D. hansenii* tarafından daha yüksek miktarda üretildiği belirlenmiştir. Her iki maya türü tarafından üretimi gerçekleştirilen aroma maddeleri içinde izoamil alkol (muz) ve fenil etil alkolün (bal, çiçek) diğer aroma maddelerine göre daha yüksek miktarda üretildiği tespit edilmiştir. *K. marxianus* ve *D. hansenii*’nin 72 saatlik fermentasyon süresince ürettiği izoamil alkol miktarlarının sırasıyla 59.73 ve 176.50 $\mu\text{g kg}^{-1}$ olduğu belirlenirken, fenil etil alkol üretimleri ise sırasıyla 78.52 ve 49.42 $\mu\text{g kg}^{-1}$ olarak tespit edilmiştir (Çizelge 4.39). *K. marxianus* ve *D. hansenii* tarafından biber küspesinde üretilen aroma maddelerinin

biyoreaktör düzeyindeki değişimleri Çizelge 4.40 ve 4.41’de gösterilmiştir. Yapılan varyans analizi sonucunda, her iki maya tarafından biber küspesinde üretilen aroma maddelerinin miktarlarının fermentasyon süresine bağlı olarak değişim göstermiştir ($P \leq 0.05$). *K. marxianus* tarafından biyoreaktör koşullarında üretilen aroma maddelerinin değişimi incelendiğinde, izoamil asetat ve fenil etil asetatın 24 saat boyunca üretiminin devam ederek maksimum düzeye ulaştığı belirlenmiştir. Her iki aroma maddesinin maksimum miktarları sırasıyla 6.35 ve 4.54 $\mu\text{g kg}^{-1}$ olarak belirlenmiştir. Diğer taraftan, izoamil alkol’un üretiminin 72 saatlik fermentasyon boyunca devam ettiği, fenil etil alkolün ise 48 saat boyunca devam ettiği belirlenmiştir. İzoamil alkolün biyoreaktör ortamında maksimum miktarı 41.48 $\mu\text{g kg}^{-1}$, fenil etil alkolün ise 119.88 $\mu\text{g kg}^{-1}$ olduğu belirlenmiştir. Genel olarak biber küspesinde de biyoreaktör ortamında üretilen aroma maddelerinin miktarlarının belirli bir fermentasyon süresinden sonra önemli düzeyde azaldığı belirlenmiştir ($P \leq 0.05$). Bu durum ikincil metabolit olarak üretilen aroma maddelerinin biyoreaktör ortamından uzaklaştığını göstermektedir. Özellikle asetat türevli olan izoamil asetat (fermente meyve) ve fenil etil asetat (bal, çiçek)’in 120 saatlik fermentasyon sonunda kültür ortamında ya hiç tespit edilmediği ya da çok düşük miktarlarda bulunduğu belirlenmiştir. Bununla birlikte, fenil etil alkol ve izoamil alkolün kültür ortamında çok fazla kaybının olmadığı bulunmuştur ($P \geq 0.05$). Bu durum her iki aroma maddesinin kültür ortamından uzaklaşmasına rağmen fermentasyon boyunca üretiminin devam etmesinden ve uçuculuklarının diğer aroma maddelerine göre daha düşük olmasından kaynaklanmış olabilir.

Çizelge 4. 40. Biyoreaktör koşullarında *K. marxianus* ile fermente edilmiş biber küspesinde GC-MS ile belirlenen bazı aroma maddeleri

Aroma Maddesi	Aroma Tanımı	Ortalama Miktar±S.E (µg kg ⁻¹ biber küspesi solüsyonu) ^a					
		Fermentasyon süresi (saat)					
		0	24	48	72	96	120
İzoamil alkol (P=0.04)	Muz	T.E	18.01±3.06 ^B	26.47±0.13 ^{AB}	41.48±0.32 ^A	25.15±5.60 ^{AB}	22.63±0.01 ^{AB}
İzoamil asetat (P=0.01)	Fermente meyve	0.35±0.34 ^B	6.35±0.93 ^A	0.10±0.01 ^B	0.05±0.01 ^B	0.04±0.01 ^B	T.E
Fenil etil alkol (P=0.01)	Gül, Çiçek	5.16±0.06 ^C	52.86±6.17 ^B	92.43±10.64 ^A	119.88±1.66 ^A	101.46±5.09 ^A	92.93±0.01 ^A
Fenil etil asetat (P=0.01)	Bal, Çiçek	0.72±0.01 ^B	4.54±0.04 ^A	2.02±0.66 ^B	0.82±0.52 ^B	0.80±0.10 ^B	0.79±0.01 ^B

^{A-D}Fermentasyon süresince farklı büyük harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemlidir (P≤0.05). ^a120 saat fermentasyon boyunca belirlenen aroma maddelerinin oransal bolluğu. T.E: tespit edilmedi. S.E: standart sapma

Çizelge 4.41. Biyoreaktör koşullarında *D. hansenii* ile fermente edilmiş biber küspesinde GC-MS ile belirlenen bazı aroma maddeleri

Aroma Maddesi	Aroma Tanımı	Ortalama Miktar±S.E (µg kg ⁻¹ biber küspesi solüsyonu) ^a					
		Fermentasyon süresi (saat)					
		0	24	48	72	96	120
Izoamil alkol (P=0.001)	Muz	T.E	66.75±12.0 ^A	19.77±2.25 ^B	10.83±1.11 ^B	12.24±3.35 ^B	4.07±0.33 ^B
Izoamil asetat (P=0.017)	Fermente meyve	0.17±0.14 ^B	0.76±0.01 ^A	0.36±0.06 ^{AB}	0.31±0.01 ^B	T.E	T.E
Fenil etil alkol (P=0.01)	Gül, Çiçek	0.16±0.09 ^D	16.43±4.09 ^C	26.20±3.82 ^{BC}	37.82±0.94 ^{AB}	44.63±1.36 ^A	37.97±3.50 ^{AB}
Fenil etil asetat (P=0.029)	Bal, çiçek	T.E	1.67±0.55 ^A	0.91±0.01 ^B	0.19±0.01 ^B	0.15±0.02 ^B	0.25±0.04 ^{AB}

^{A-C}Fermentasyon süresince farklı büyük harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemlidir (P≤0.05). ^a120 saat fermentasyon boyunca belirlenen aroma maddelerinin oransal bolluğu. T.E: tespit edilmedi. S.E: standart hata

D. hansenii tarafından biyoreaktör ortamında üretilen aroma maddelerinin değişimi incelendiğinde (Çizelge 4.41), fenil etil alkol hariç diğer tüm aroma maddelerinin 24 saatlik fermentasyon süresince üretildiği maksimuma ulaştığı belirlenmiştir. İzoamil alkol (muz), izoamil asetat (fermente meyve) ve fenil etil asetat (bal, çiçek) ın maksimum miktarları sırasıyla 66.75, 0.76 ve 1.67 $\mu\text{g kg}^{-1}$ olarak tespit edilmiştir. Fenil etil alkol miktarının fermentasyonun 96. saatine kadar sürekli artış gösterdiği yani söz konusu aroma maddesinin üretiminin devam ettiği belirlenmiştir. Biber küspesinde fenil etil alkolün belirlenen maksimum miktarı 44.63 $\mu\text{g kg}^{-1}$ dır. Bununla birlikte *K. marxianus* fermentasyonunda olduğu gibi *D. hansenii* ile yapılan biyoreaktör denemelerinde aroma maddelerinin miktarlarının belirli bir fermentasyon süresinden sonra biber küspesinde azaldığı belirlenmiştir. Bununla birlikte, fermentasyonun 96. saatinden sonra izoamil asetat kültür ortamında tespit edilememiştir (Çizelge 4.41).

Çizelge 4.42 'de *K. marxianus* ve *D. hansenii* tarafından biyoreaktör koşullarında biber küspesinde üretilen aroma maddelerinin verimlilik değerleri verilmiştir. Aroma maddelerinin verimlilikleri incelendiğinde, hem izoamil asetat (fermente meyve) hem de fenil etil asetatın (bal, çiçek) verimlilik değerlerinin diğer aroma maddelerine göre daha düşük olduğu görülmektedir. *K. marxianus* tarafından üretilen aroma maddelerinden verimlilik değeri en yüksek olan aroma maddesi fenil etil alkol (gül) olarak belirlenmiştir. Diğer bir ifade ile fermentasyon boyunca saatte en hızlı ve en fazla üretimi gerçekleştiren aroma maddesinin fenil etil alkoldür. *D. hansenii* tarafından üretilen aroma maddelerinin verimlilik değerleri incelendiğinde ise, en yüksek verimlilik değerinin 2.78 $\mu\text{g kg}^{-1} \text{sa.}^{-1}$ ile izoamil alkole (muz) ait olduğu görülmektedir. En düşük verimlilik değeri ise izoamil asetat (fermente meyve) için belirlenmiştir. Buna göre *D. hansenii*'nin fermentasyonu boyunca biber küspesinde en hızlı ve en fazla üretimi gerçekleştiren aroma maddesinin izoamil asetat, en yavaş ve en az üretimi olan aroma maddesinin ise izoamil asetat olmuştur.

Çizelge 4.42. *K. marxianus* ve *D. hansenii* tarafından biber küspesinde üretilen aroma maddelerinin verimlilikleri.

Uçuşu bileşen	Ortalama±S.E (µg kg ⁻¹ biber küspesi solüsyonu sa ⁻¹) ^a	
	<i>K. marxianus</i>	<i>D. hansenii</i>
İzoamil alkol	0.57±0.01	2.78±0.50
İzoamil asetat	0.26±0.03	0.01±0.01
Fenil etil alkol	1.66±0.02	0.46±0.01
Fenil etil asetat	0.18±0.01	0.06±0.02

^aAroma maddesinin maksimum miktarının belirlendiği fermentasyon süresine göre hesaplanmıştır. S.D: standart hata

K. marxianus ve *D. hansenii* ile biber küspesinden üretilen aroma maddeleri yapılan diğer çalışmalarda da belirlenmiştir (Medeiros ve ark., 2001; Garavaglia ve ark., 2007; Manuel Salgado ve ark., 2012; Christen ve ark., 1997; Etschmann ve ark., 2003). Örneğin, Mederois ve ark.. (2001) dolgu kolon reaktörde topyaka küspesinin *K. marxianus* ATCC 10022 ile katı faz fermentasyonu sonucu 11 adet aroma maddesinin üretilebildiğini tespit etmişlerdir. Çalışmada, *K. marxianus* tarafından üretildiği belirlenen aroma maddelerinin etil asetat, asetaldehit, etil alkol, propil asetat, butil asetat, etil propionat, etil izobutirat, izoamil alkol, izoamil asetat ve 2 adet belirlenemeyen aroma bileşenler ifade edilmiştir. Portakal küspesi, patates küspesi, şeker pancarı melası, peyniraltı suyu, biracılık artığı ve malt artığı karıştırılarak elde edilen tarımsal atık karışımının katı faz fermentasyon tekniğiyle *K. marxianus*, *K. kefir* ve *S. cerevisiae* ile fermente edilmesiyle tek hücre proteini, aroma maddesi ve yağ üretimi incelenmiştir (Aggelopoulos ve ark., 2014). Çalışma sonucunda karışım halindeki tarımsal atıktan, *K. marxianus* ve *K. kefir*'in izoamil asetat, fenil etil alkol, etil alkol üretimlerini gerçekleştirdiği, *K. kefir*'in ise ε-pinen üretimini gerçekleştirdiği belirlenmiştir. Manuel Salgado ve ark., (2012) ise şarap üretiminde açığa çıkan üzüm kabuklarının hemiselulozik hidrolizatlarından *D. hansenii* ile yüksek gül aroması veren fenil etil alkol miktarda (38.9 mg L⁻¹) üretiminin gerçekleştiğini belirlemişlerdir. *K. marxianus* ve *D. hansenii*'nin biyoteknolojik kullanımlarına bakıldığında, her iki mikroorganizmanın süt ve et ürünlerinde aromatik kültür olarak ve farklı özellikteki enzimlerin üretiminde kullanıldığı görülmektedir (Breuer ve Harms, 2006; Fonseca ve ark., 2008). Bu kapsamda yapılan bir çalışmada, 12 farklı *D. hansenii* türünün model peynir ortamında yüksek miktarda izo butiraldehit (çiçek) izovaleraldehit (çikolata), izobutil alkol (viski), izoamil alkol (muz) ve izopirenol (meyvemsi) aromalarını ürettiği bulunmuştur (Gori ve ark., 2012). Leclercq-Perlat ve ark., (2004) ise *D. hansenii*

ve *K. marxianus*'un model peynir ortamında aroma üretimlerini karşılaştırmışlardır. Çalışma sonucunda, *D. hansenii*'nin metil keton türevli aroma bileşenleri ile fenil etil alkolü, *K. marxianus*'un ise meyve aroması veren esterleri ürettiği belirlenmiştir. Etil asetat ve izoamil asetatın *K. marxianus* tarafından, fenil etil alkolün ise *D. hansenii* tarafından model ortamda diğer aroma maddelerine göre daha yüksek miktarda üretildiği bulunmuştur.

Çalışmamızda biber küspesinin *K. marxianus* ve *D. hansenii* ile biyoreaktör ortamında üretilen aroma maddeleri hakkında elde ettiğimiz sonuçlar, literatürde belirtilen farklı maya ve kültür ortamlarında üretilen aroma maddeleri ile benzerlik göstermektedir (Löser ve ark., 2011; Urit ve ark., 2011; Mantzouridou ve ark., 2013; Rossi ve ark., 2009; Yılmaztekin ve ark., 2009). Rossi ve ark., (2009) soya fasulyesi kepeği ve şeker kamışı melası ile karıştırılmış portakal kabuğunun *C. fimbriata* ile erlen düzeyinde fermentasyonu ile üretilen etil asetat ve izoamil asetat konsantrasyonlarının 48 saat boyunca arttığını ve bu süre sonunda her iki aroma maddesinin konsantrasyonunun azaldığını belirlemişlerdir. Mederios ve ark., (2001) tarafından topyaka küspesinin *K. marxianus* ile paketlenmiş yataklı kolon biyoreaktörde fermentasyonu sonucu üretilen etil alkolün miktarının 92 saatlik fermentasyon boyunca artış gösterdiğini ve bu süre sonunda etil alkol konsantrasyonunda bir azalmanın meydana geldiğini belirlemişlerdir. Ayrıca aynı ortamda üretilen etil asetatın konsantrasyonunun 22 saat sonra maksimum düzeye ulaştığı ve bu süre sonunda söz konusu aroma maddesinin konsantrasyonunun kademeli bir şekilde azaldığı belirlenmiştir. *C. fimbriata* küfü ile farklı tarımsal atıkların katı faz fermentasyonu yapılarak aroma maddelerinin üretiminin araştırıldığı diğer bir çalışmada, buğday kepeğinin fermentasyonu ile üretilen etil alkol, etil asetat, asetaldehit ve izoamil alkol konsantrasyonlarının 60 saatlik fermentasyon süresince arttığı ve bu süre sonunda yine kademeli olarak tüm aroma maddelerinin konsantrasyonlarının azaldığı saptanmıştır (Christen ve ark., 1997).

Sonuç olarak, biber küspesinin *K. marxianus* ve *D. hansenii* ile fermente edilmesiyle asetat esterleri ve alkol türevli aroma bileşiklerin üretildiği tespit edilmiştir. Yapılan çalışmalarda ester türevli bileşiklerin mayalar tarafından üretilen asetil koenzimA ve asetiltransferaz enzimleriyle, alkol türevli bileşiklerin ise Erlich metabolik yoluyla dallanmış amino asitlerin transaminasyonu, dekarboksilasyonu, oksidasyonu ve indirgemesi ile biyokimyasal olarak üretildiği bildirilmektedir (Hazelwood ve ark., 2008; Mason ve Dufour, 2000; Yılmaztekin 2009). Bu çalışmada *K. marxianus* ve *D. hansenii*

tarafından üretilen aroma maddelerinin özellikle çiçek ve meyvemsi aroma kalitesine sahip olan izoamil alkol, izoamil asetat, fenil etil alkol ve fenil etil asetat olduğu tespit edilmiştir. Yürütülen erlen ve biyoreaktör düzeyindeki denemelerde izoamil alkol ve fenil etil alkolün diğer aroma maddelerine göre daha yüksek miktarlarda üretildiği tespit edilmiştir. Özellikle fenil etil alkolün *K. marxianus*'un fementasyonunda en hızlı ve en fazla üretimi gerçekleştiren aroma maddesi olduğu, *D. hansenii* fermentasyonunda ise en hızlı ve en fazla üretimi olan aroma maddesinin izoamil alkol (muz) olduğu belirlenmiştir.

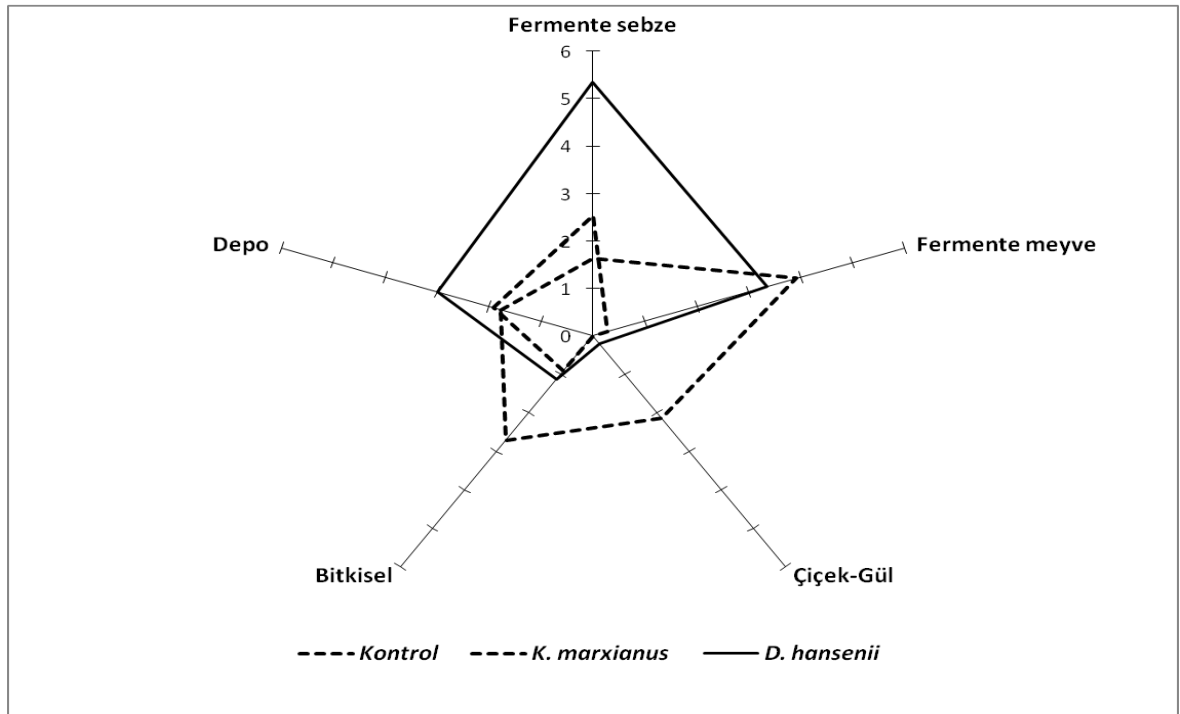
4.9.3. *K. marxianus* ve *D. hansenii* ile fermente edilmiş biber küspesinin duyuşal özelliklerinin incelenmesi

K. marxianus ve *D. hansenii* ile fermente edilmiş biber küspelerinin duyuşal özellikleri dokuz adet duyuşal tanımlayıcı terim ile ortaya konmuştur (Çizelge 4.43). Biber küspelerinde belirlenen aroma terimleri; taze biber, bitkisel, fermente sebze, pişmiş, odun, fermente meyve, depo, gül/çiçek ve keskin aromatiktir. Yapılan varyans analizi sonucunda, biber küspelerinde belirlenen duyuşal özelliklerin yoğunluklarının bitkisel ve odun aroması hariç maya çeşidine göre değişim gösterdiği belirlenmiştir ($P \leq 0.05$, Çizelge 4.43). Buna göre bitkisel ve gül/çiçek aromalarının *K. marxianus* ile fermente edilmiş biber küspesinde yoğunlukları yüksek bulunurken, keskin aromatik, depo ve fermente sebze aromalarının yoğunluğu *D. hansenii* ile fermente edilen biber küspesinde daha yüksek olduğu bulunmuştur ($P \leq 0.05$). Fermente meyve aromasının ise her iki maya ile fermente edilmiş biber küspesinde benzer yoğunlukta olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca, fermente biber küspelerinde fermente meyve aromasının diğer aromatik özelliklere göre daha yoğun hissedildiği belirlenmiştir (Şekil 4.10).

Çizelge 4.43. *K. marxianus* ve *D. hansenii* ile fermente edilmiş biber küspesinin duyuusal özellikleri

Aromatik Özellik	Ortalama ^a ± S.E			P değeri
	Kontrol	<i>K. marxianus</i>	<i>D. hansenii</i>	
Taze biber	2.78±0.32 ^A	1.64±0.17 ^B	2.14±0.09 ^{AB}	0.01
Bitkisel	0.92±0.13 ^B	2.71±0.26 ^A	1.14±0.17 ^B	0.01
Fermente sebze	2.53±0.51 ^B	1.64±0.26 ^B	5.35±0.62 ^A	0.01
Pişmiş	2.71±0.18	2.64±0.21	2.03±0.23	0.10
Odun	1.0±0.10	1.07±0.17	0.92±0.07	0.90
Fermente meyve	0.28±0.14 ^B	3.92±0.33 ^A	3.35±0.55 ^A	0.01
Depo	1.92±0.29 ^B	1.78±0.14 ^B	3.0±0.28 ^A	0.01
Gül/çiçek	T.E	2.14±0.30 ^A	0.21±0.14 ^B	0.01
Keskin aromatik	1.0±0.18 ^A	0.21±0.10 ^B	0.71±0.13 ^A	0.01

^{A-B}Aynı aromatik özelliğe farklı büyük harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemlidir ($P \leq 0.05$). ^a72 saat fermentasyon sonunda belirlenmiştir. T.E: Tespit edilmedi. SE: standart hata



Şekil 4.10. *K. marxianus* ve *D. hansenii* ile fermente edilmiş biber küspesinin bazı duyuusal özelliklerine ait örümcek ağı diyagramı

4.10. *A. sojae* ve *T. atroviride* Kullanılarak Biber K sbesinde Yapılan alışmalar

4.10.1. *A. sojae* ve *T. atroviride*'nin biber k sbesinde mikrobiyal gelişimlerinin incelenmesi

Biber k sbesinin *A. sojae* ve *T. atroviride* küfleri ile erlen düzeyinde gerçekleştirilen fermentasyon denemelerinde gözlemlenen mikrobiyal gelişimler izelge 4.44 'de verilmiştir. Her iki küfün de biber k sbesindeki gelişimleri, domates k sbesindeki gelişimleri ile benzer bulunmuştur.

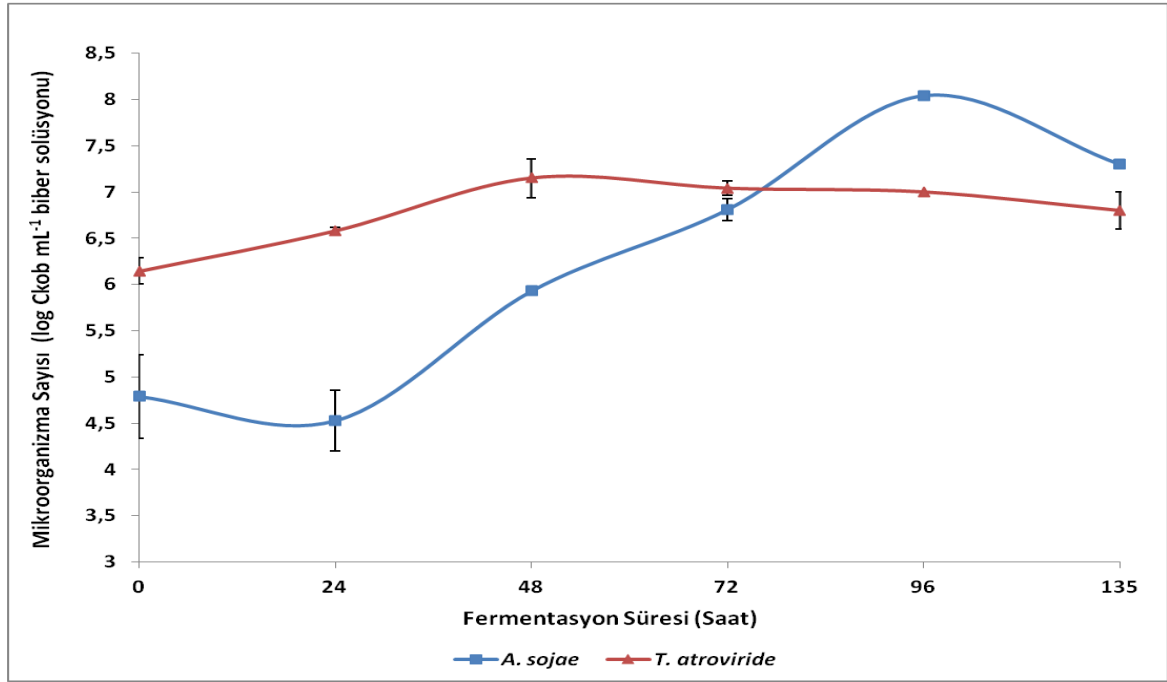
Çizelge 4.44. Biber k sbesinde *A. sojae* ve *T. atroviride*'nin erlen düzeyinde gelişimleri

Fermentasyon süresi (saat)	Hücre sayısı Ortalama±S.E (log kob mL ⁻¹ biber k�sbesi solüsyonu)	
	<i>A. sojae</i>	<i>T. atroviride</i>
0	6.0±0.01 ^{Ca}	6.0±0.01 ^{Ba}
24	6.54±0.23 ^{BCa}	6.19±0.10 ^{Ba}
48	8.28±0.58 ^{Aa}	5.68±0.21 ^{Bb}
72	8.04±0.44 ^{Aa}	7.58±0.01 ^{Aa}
96	7.0±0.01 ^{Bb}	7.80±0.03 ^{Aa}
120	7.0±0.01 ^{Bb}	7.73±0.03 ^{Aa}
P değeri	0.01	

^{a-b} Aynı fermentasyon süresinde farklı küçük harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemlidir (P<0.05). ^{A-C} Aynı mikroorganizma çeşidinde farklı küçük harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemlidir (P<0.05). kob: koloni oluşturucu birim, SE: standart hata

Yapılan varyans analizi sonucunda biber k sbesinde her iki mikrobiyal gelişimin fermentasyon süresi ve mikroorganizma çeşidine bağlı olarak değişiklik gösterdiği belirlenmiştir (P=0.01). Buna göre, 120 saatlik fermentasyon boyunca biber k sbesinde *A. sojae*'nin hücre sayısında maksimum 2.28 log'luk bir artışın olduğu, *T. atroviride*'nin hücre sayısında ise maksimum 1.80 log'luk bir artışın meydana geldiği belirlenmiştir. *A. sojae*'nin mikrobiyal gelişiminin durağan faza 48 saat sonra geçtiği, *T. atroviride*'nin ise mikrobiyal gelişiminin *A. sojae*'ya göre daha yavaş olduğu ve gelişiminin durağan faza 72 saatlik fermentasyon süresi sonunda geçtiği tespit edilmiştir. Ayrıca 72 saatlik fermentasyon sonrasında, fermentasyon tamamlanıncaya kadar *T. atroviride*'nin hücre sayısının *A. sojae*'dan daha yüksek olduğu, diğer bir ifade ile *T. atroviride*'nin ölüm fazının biber k sbesinde daha yavaş ilerlediği belirlenmiştir. Biber k sbesinde biyoreaktör düzeyinde gerçekleştirilen fermentasyon denemelerinde gözlemlenen *A. sojae* ve *T.*

atroviride'nin gelişimleri Şekil 4.11'de gösterilmiştir.



Şekil 4.11. Biber küspesinde biyoreaktör koşullarında *A. sojae* ve *T. atroviride*'nin gelişimleri

Biyoreaktörde fermentasyon süresince *A. sojae*'nin maksimum hücre sayısı artışının 3.25 log olduğu, *T. atroviride*'nin hücre sayısındaki maksimum artışın ise 0.90 log olduğu belirlenmiştir. *T. atroviride*'nin gelişiminin 48 ile 72 saatlik fermentasyon süresince durağan fazda olduğu, *A. sojae*'nin ise gelişiminin hızlı bir şekilde gerçekleştiği görülmektedir. 96 saatlik fermentasyon süresi sonunda *A. sojae*'nin mikrobiyal gelişiminin durağan faza geçtiği görülmektedir (Şekil 4.11). Her iki mikroorganizmanın mikrobiyal üreme kinetiği, spesifik üreme hızı (μ) ve ikilenme süresi (td) açısından incelendiğinde, *A. sojae* için μ değerinin 0.109 sa.^{-1} , *T. atroviride* için ise bu değer 0.028 sa.^{-1} olduğu tespit edilmiştir. İkilenme süreleri ise sırasıyla 6.35 sa. (*A. sojae* için) ve 24.75 sa. (*T. atroviride* için) olarak belirlenmiştir. Biber küspesinde *T. atroviride* ve *A. sojae* ile erlen düzeyinde yapılan fermentasyon denemelerinde elde ettiğimiz sonuçlar, farklı *Trichoderma* spp. ve *Aspergillus* spp. ile yapılan çalışmalarda elde edilen bulgularla benzerdir. (Zuoxing ve Shetty, 1998; Dhillon ve ark., 2011). *A. sojae*'nin biber küspesinde biyoreaktör düzeyinde saptanan spesifik üreme hız değeri ve ikilenme süresi, yapılan diğer çalışmalarda farklı *Aspergillus* cinsleri için bulunan değerlerle uyumlu bulunmuştur (Puri ve ark., 2005; Zawadi ve ark., 2008; Singh ve ark., 2005). Buna karşın, *T. atroviride* için bulduğumuz spesifik üreme hızı ve ikilenme süresi değerlerinin, yapılan diğer çalışmalarda farklı

Trichoderma spp türleri için bulunan değerlerden düşük olduğu bulunmuştur (Akraam-Kashmiri ve ark., 2006; Ming Lo ve ark., 2010; Muthuvelayudham ve Viruthagiri, 2006). Farklı küf türlerinin yaban mersini küspesinde gelişimlerinin incelendiği bir çalışmada %5 CaCO₃, %5 NH₄NO₃ ve %20 su içeren katı kültür ortamında *T. viride* If -26'nın gelişiminin 120 saatlik fermentasyondan sonra durağan faza geçtiği, *T. harzianum*'un ise gelişiminin 72 saatlik fermentasyon süresinden sonra durağan fazda seyrettiği belirlenmiştir (Zuoxing ve Shetty, 1998). Dhillon ve ark. (2011) yaptıkları bir çalışmada farklı tarımsal atıklardan *A. niger* NRRL 567 ve *A. niger* NRRL 2001 küflerini kullanarak sitrik asit üretimini incelemişlerdir. Çalışma sonucunda, elma küspesinde *A. niger* NRRL 2001 gelişiminin durağan faza 120 saatlik fermentasyon sonunda, *A. niger* NRRL 567 ise 72 saatte geçtiği belirlenmiştir.

Akraam-Kashmiri ve ark., (2006) zeytinyağı içeren sentetik besiyerinde *T. viride* ile lipaz üretimini incelemişlerdir ve 30 °C'de 100 rpm karıştırma hızındaki fermentasyon koşullarında spesifik üreme hızını 0.48 sa⁻¹ olarak belirlemişlerdir. Kancelista ve ark., (2013) ise mısır koçanı artığı, seker pancarı katı atığı ve buğday kepeği gibi tarımsal atıklardan *T. virens* TRS 107 ve *T. harzianum* TRS 72'in spesifik üreme hızlarının 0.045 sa⁻¹ ile 0.194 sa⁻¹ arasında değiştiğini belirlemişlerdir. Puri ve ark. (2005) *A. niger* MYCC 1344 kullanarak nariginaz enziminin üretimini inceledikleri bir çalışmada, farklı oranlarda şeker pancarı melası ile farklı başlangıç seker konsantrasyonuna ayarlanmış sentetik besyeri ortamlarında *A. niger* MYCC 1344 için maksimum spesifik üreme hızının 0.15 sa⁻¹ ile 0.23 sa⁻¹ arasında olduğunu belirlemişlerdir. Buna karşın; *A. oryzae* kullanılarak ksilinaz enzimi üretiminin araştırıldığı bir çalışmada, farklı pH'lardaki (4-8 pH) kağıt endüstrisi atığında katı faz fermentasyonu ile geliştirilen *A. oryzae*'nin spesifik üreme hızlarının 0.2 sa⁻¹ ile 0.39 sa⁻¹ arasında değiştiği saptanmıştır (Zawadi ve ark., 2008).

Sonuç olarak, hem *A. sojae* hem de *T. atroviride*'nin erlen ve biyoreaktör düzeyinde gelişimlerine ait elde ettiğimiz hücre sayısı artışı değerleri incelendiğinde, erlen düzeyindeki üretimlerde *A. sojae*'nin biber küspesinde gözlemlenen hücre sayısı artışının *T. atroviride*'den daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Her iki küf türü için hesaplanan spesifik üreme hızları değerlendirildiğinde, *A. sojae*'nin biyoreaktör koşullarında biber küspesinde gelişiminin *T. atroviride*'den daha hızlı olduğu söylenebilir. Ayrıca fermentasyon sonunda özellikle *T. atroviride*'nin hücre sayısının fermentasyon ortamında çok fazla artmadığı ve canlılığını durağan bir şekilde koruduğu belirlenmiştir. *A. sojae*'nin hücre sayısının ise 96 saatlik fermentasyon süresince devamlı artış göstermiştir.

4.10.2. *A. sojae* ve *T. atroviride*'nin biber küspesinde ürettiği aroma maddelerinin incelenmesi

Çalışmada erlen düzeyinde *A. sojae* ve *T. atroviride* ile fermente edilmiş biber küspesinde toplam 27 adet aroma aktif bileşen belirlenmiştir. Fermente biber küspelerinde belirlenen aroma aktif bileşenler Çizelge 4.45'de gösterilmiştir. Biber küspelerinde belirlenen aroma aktif bileşenler; asit, aldehit ve alkol türevli bileşiklerdir. Çizelge 4.45 incelendiğinde, kontrol grubu biber küspelerinde belirlenen ancak fermente biber küspelerinde belirlenmeyen aroma bileşenleri; asetik asit (ekşi, sirke), 2-heptanon (besiyeri), (Z)-2-nonenal (salatalık)'dır. Bununla birlikte yine kontrol grubunda belirlenen ancak fermente biber küspelerinde yoğunlukları kontrol grubundan düşük olan aroma bileşenleri ise diasetil (tereyağı) ve 2,3-dietil-5-metil-pirazin (biber)' dir.

Biber küspesinin hem *A. sojae* hem de *T. atroviride* ile fermente edilmesiyle aroma yoğunluğu artan bileşenler metiyonal (haşlanmış patates), 2-asetil-1-pirolin (patlamış mısır) 1-okten-3-ol (mantar) ve (E)-2-oktenol (yanık kirli) olarak belirlenmiştir. Bununla birlikte, sadece *A. sojae* ile fermente edilmiş biber küspesinde yoğunluğu kontrol grubuna göre yüksek olan aroma bileşenleri (Z)-1,5 oktadien-3-ol, 3- oktanon ve (E)-2-oktanal' olarak tespit edilmiştir. Fenil etil alkol (gül) ve etil butirat (meyvemsi) in yoğunluklarının ise sadece *T. atroviride* ile fermente edilmiş biber küspesinde yüksek olduğu tespit edilmiştir. Özellikle 1-okten 3-ol yoğunluğunun, *T. atroviride* ile fermente edilmiş biber küspesinde hem kontrol grubu hem de *A. sojae* ile fermente edilmiş biber küspelerinden daha yüksek olduğu görülmektedir. (Çizelge 4.45).

Çizelge 4.45. *A. sojae* ve *T. atroviride* ile fermente edilmiş biber küspesinde belirlenen aroma aktif bileşenler

RI ^a	Uçucu Bileşen	Aroma Tanımı	Belirleme yöntemi	Aroma yoğunluğu (ortalama±SE) ^b		
				Kontrol	<i>A. sojae</i>	<i>T. atroviride</i>
577	Diasetil	Tereyağı, tatlı	RI, O	3.0±0.01	0.75±0.25	1.0±0.5
601	2-Butanon	Tatlı, kafur	RI, MS,	1.75±0.25	0.65±0.15	T.E
614	Asetik asit	Ekşi, sirke	RI, MS, O	1.0±1.0	T.E	T.E
762	Izoamil alkol	Muz	RI, MS, O	T.E	T.E	0.65±0.15
799	Hekzanal	Çimen,yaprak	RI, MS, O	0.75±0.75	1.90±1.10	1.25±0.25
848	Etil butirat	Meyvemsi	RI, MS, O	T.E	T.E	2.50±0.50
855	Butirik asit	Peynirimsi	RI, O	1.0±0.01	T.E	2.50±0.50
860	Bilinmeyen 1	Toz	RI, O	T.E	0.25±0.25	T.E
864	Izovalerik asit	Ter, ekşi	RI, MS, O	1.0±0.01	T.E	1.50±0.50
891	2-Heptanon	Besiyeri	RI, MS, O	1.75±0.25	T.E	T.E
896	Metiyonal	Haşlanmış Patates	RI, O	T.E	1.25±0.75	1.75±0.25
918	2-asetil-1-pirolin	Patlamış mısır	RI, O	0.40±0.40	4.0±0.01	4.50±0.50
968	1-okten-3-ol	Mantar	RI, O	3.0±1.0	5.25±1.25	7.0±0.01
976	3-oktanon	Sardunya	RI, O	T.E	5.75±0.25	T.E
981	(Z)-1,5 -Oktadien-3-ol	Sardunya	RI, MS, O	T.E	3.0±3.0	T.E
992	Hekzil asetat	Kolonya	RI, MS, O	0.5±0.5	0.75±0.75	T.E
1049	(E)-2-oktenal	Saman	RI, O	T.E	3.0±1.0	T.E
1083	(E)-2-oktenol	Yanık, kirli	RI, MS, O	2.50±0.50	3.0±1.0	4.50±0.75
1099	3,5-oktadien-2-on	Kızarmış yağ	RI, O	T.E	T.E	0.75±0.25
1128	Fenil etil alkol	Gül	RI, O	T.E	T.E	1.25±0.25
1141	(Z)-2-nonenal	Salatalık	RI, O	2.25±0.75	T.E	T.E
1144	Bilinmeyen 2	Toz	RI, O	1.0±0.01	T.E	1.0±0.01
1156	(E,Z)-2,6-nonadien-1-ol	Saman, tütün	RI, MS, O	1.75±0.25	1.75±0.25	0.75±0.75
1165	2,3-dietil-5-metil-pirazin	Biber	RI, MS, O	3.50±0.50	1.0±0.50	2.0±0.01
1201	2,4-nonadienal	Okside Yağ	RI, MS, O	T.E	0.8±0.01	0.8±0.01
1233	3-Karvomethenon	Balıkhane	RI, MS, O	3.0±1.0	T.E	0.40±0.4
1374	Bilinmeyen 3	Sülfür	RI, MS, O	T.E	0.40±0.40	T.E

^aRI: Alkonma indeksi HP-5 MS kolonda hesaplanmıştır., ^b120 saat fermentasyon sonunda belirlenen aroma yoğunluğu, SD: standart hata, T.E: Tespit edilmedi, MS:kütle spektrometresi, O: Koku

T. atroviride ile fermente edilmiş biber küspesinde GCO analizi ile belirlenmemesine rağmen etil asetat (meyvemsi), benzenasetaldehit (gül) ve fenil etil alkolün *T. atroviride* tarafından üretildiği GC-MS ile belirlenmiştir (Çizelge 4.46). Diğer taraftan fermente biber küspelerinde aroma yoğunluğu kontrol grubu biber küspesine göre yüksek olan 2-asetil-1-pirolin (patlamış mısır) ve metiyonal (haşlanmış patates) biber küspesinde GC-MS ile tespit edilememiştir. Erlen düzeyindeki fermentasyon denemelerinde *T. atroviride* ve *A.*

sojae tarafından biber küspelerinde üretilen aroma bileşenlerinden miktarları artan aroma maddeleri Çizelge 4.46’da gösterilmiştir

Çizelge 4.46. *A. sojae* ve *T. atroviride* ile fermente edilmiş biber küspesinde GC-MS ile bazı belirlenen aroma maddeleri

Aroma Maddesi	Aroma Tanımı	Ortalama±S.E ($\mu\text{g kg}^{-1}$ biber küspesi solüsyonu) ^a		
		Kontrol	<i>A. sojae</i>	<i>T. atroviride</i>
Etil asetat	Meyvemsi	T.E	T.E	435.63±56.00
Etil butirat	Meyvemsi	T.E	T.E	15.80±0.18
(Z)-1,5-oktadien-3-ol	Sardunya	T.E	40.97±1.24	T.E
1-okten-3-ol (p=0.051)	Mantar	T.E	53.88±8.85 ^A	81.28±11.32 ^A
3-oktanon	Mantar	T.E	32.96±0.69	T.E
Benzenasetaldehit	Gül	T.E	T.E	5.05±0.76
(E)-2-oktenal (P=0.024)	Mantar	T.E	53.02±10.76 ^A	3.71±2.13 ^B
(E)-2-oktenol (p=0.013)	Mantar	T.E	10.08±0.59 ^B	22.68±1.97 ^A
Fenil etil alkol	Gül	T.E	T.E	1.80±0.58

^{A-B}Aynı aroma maddelerinde farklı büyük harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemlidir. (P≤0.05). ^a120 saat fermentasyon sonunda belirlenen aroma maddelerinin oransal boluğu, SE: standart hata, T.E: tespit edilemedi

Yapılan varyans analizi sonucunda, *A. sojae* ve *T. atroviride*’nin biber küspesinde (E)-2-oktenol ve (E)-2- oktanol üretim miktarları arasında önemli fark olduğu bulunmuştur (P≤0.05). Buna göre, (E)-2 oktenal’ın *A. sojae* tarafından biber küspesinde yüksek miktarda üretildiği belirlenirken, (E)-2-oktenol’ün ise *T. atroviride* tarafından daha fazla üretildiği belirlenmiştir. *A. sojae* ve *T. atroviride* tarafından biber küspesinde üretilen (E)-2-oktenol (mantar)’ün üretim miktarları sırasıyla 10.08 ve 22.68 $\mu\text{g kg}^{-1}$ ’dir. *A. sojae* ve *T. atroviride*’nin biber küspesinde gelişimi ile (E)-2- oktenal’ın üretim miktarı sırasıyla 53.02 ve 3.71 $\mu\text{g kg}^{-1}$ olarak tespit edilmiştir. Ayrıca, biber küspesinde etil asetat (meyvemsi), etil butirat (meyvemsi), benzenasetaldehit (gül) ve fenil etil alkol (gül)’ün sadece *T. atroviride* tarafından üretildiği, (Z)1,5-oktadien-3-ol ve 3-oktanon ise sadece *A. sojae* tarafından üretildiği belirlenmiştir (Çizelge 4.46).

Her iki küf çeşidinin 1-okten-3-ol üretim miktarı bakımından istatistiksel olarak önemli bir fark bulunmazken, pratikte aynı fermentasyon süresinde (120 saat) *T. atroviride*’nin daha fazla miktarda 1-okten 3-ol ürettiği söylenebilir. *A.sojae* ve *T. atroviride*’nin 1- okten 3-ol üretim miktarları sırasıyla 53.88 ve 81.28 $\mu\text{g kg}^{-1}$ olarak belirlenmiştir. Etil asetat (meyvemsi) ise diğer üretilen aroma maddelerden daha yüksek oranda *T. atroviride* tarafından üretilmiştir. Etil asetatın 120 saat fermentasyon sonucunda biber küspesinde tespit edilen miktarı yaklaşık 436 $\mu\text{g kg}^{-1}$ dir.

A. sojæ ve *T. atroviride* tarafından biber ksesinde üretilen aroma maddelerinin biyoreaktör düzeyindeki değişimleri sırasıyla Çizelge 4.47 ve Çizelge 4.48’de gösterilmiştir. Yapılan varyans analizi sonucunda *A. sojæ* ve *T. atroviride* tarafından üretilen aroma maddelerinin miktarlarının fermentasyon süresine bağlı olarak değişim gösterdiği belirlenmiştir ($P \leq 0.05$). *T. atroviride* tarafından üretilen aroma maddelerinin değişimi incelendiğinde etil asetat ve etil butiratın 24 saatlik fermentasyon boyunca mikrobiyal üretiminin olduğu, 1-okten-3-ol ve (E)-2-oktenol’n üretiminin ise 48 saatlik fermentasyon süresince başladığı belirlenmiştir. Diğer taraftan, (E)-oktenal’ın fermentasyon süresinin sonlarına doğru üretiminin geręekleřtięi (96 saat) tespit edilmiştir. Benzenasetaldehit ve fenil etil alkolün fermentasyonun başlangıcında kültür ortamında bulunduğu ve her ikisinin de miktarının sırasıyla 96 ve 72 saatlik fermentasyon süresinde maksimum düzeyde olduğu belirlenmiştir. Genel olarak etil asetat, etil butirat, benzenasetaldehit ve fenil etil alkolün miktarlarının belli bir fermentasyon süresinden sonra önemli düzeyde azaldığı belirlenmiştir ($P \leq 0.05$). Çalışmamızda daha önce de ifade edildiği gibi bu durum ikincil metabolit olarak üretilen aroma maddelerini, biyoreaktör ortamına mikrobiyal gelişim için verilen hava ile uzaklaştığını göstermektedir. Bununla beraber 1-okten-3-ol, (E) 2-oktenol ve (E)-2-oktenalin fermentasyon süresinin sonuna kadar üretimlerinin devam ettiği ve biyoreaktör ortamında miktarlarının arttığı belirlenmiştir. Bu durumun aroma maddelerinin uçuculuğu ve söz konusu aroma maddelerinin *T. atroviride* tarafından 120 saatlik fermentasyon süresinde bile sürekli olarak üretilmesinden kaynaklandığı düşünülmektedir. 120 saat fermentasyon süresi gözönünde bulundurulduğunda, sırasıyla en fazla 1-okten-3-ol, (E)-2 oktenol, fenil etil alkol ve etil asetat’ın en fazla üretilen aroma maddeleri olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.47). Söz konusu aroma maddelerinin maksimum miktarları sırasıyla 71.07, 29.34, 26.83 ve 31.18 $\mu\text{g kg}^{-1}$ olarak tespit edilmiştir.

Çizelge 4.47. Biyoreaktör koşullarında *T. atroviride* ile fermente edilen biber küspesinde GC-MS ile belirlenen bazı aroma maddeleri

Aroma Maddesi	Aroma Tanımı	Ortalama Miktar±S.E (µg kg ⁻¹ biber küspesi solüsyonu) ^a					
		Fermentasyon süresi (saat)					
		0	24	48	72	96	120
Etil asetat (P=0.002)	Meyvemsi	T.E	26.83±0.97 ^A	23.59±0.01 ^A	23.53±1.05 ^A	11.92±2.62 ^B	12.85±1.05 ^B
Etil butirat (P=0.01)	Meyvemsi	T.E	0.09±0.01 ^B	3.71±0.18 ^A	0.19±0.12 ^B	0.12±0.01 ^B	0.08±0.01 ^B
1-okten-3-ol (P=0.01)	Mantar	T.E	T.E	5.19±1.95 ^C	35.32±2.34 ^B	54.96±4.39 ^{AB}	71.07±5.13 ^A
Benzenasetaldehit (P=0.07)	Gül	1.08±0.07 ^{AB}	0.86±0.02 ^{ABC}	0.65±0.02 ^C	1.19±0.33 ^{ABC}	4.28±0.46 ^A	0.68±0.03 ^{BC}
(E)-2-oktenal (P=0.578)	Mantar	T.E	T.E	T.E	T.E	3.99±0.42 ^A	4.96±1.42 ^A
(E)-2-oktenol (P=0.025)	Mantar	T.E	T.E	0.97±0.03 ^B	12.51±0.09 ^{AB}	20.02±5.86 ^{AB}	29.34±5.18 ^A
Fenil etil alkol (P= 0.01)	Gül	3.04±0.04 ^{CD}	7.34±0.58 ^{BC}	16.07±1.32 ^{AB}	31.18±6.08 ^A	23.71±2.21 ^A	1.96±0.04 ^D

^{A-D}Fermentasyon süresince farklı büyük harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemlidir (P≤0.05). ^a120 saat fermentasyon boyunca belirlenen aroma maddelerinin oransal bolluğu. T.E: tespit edilmedi. S.E: standart hata

Çizelge 4.48. Biyoreaktör koşullarında *A. sojae* ile fermente edilen biber küspesinde GC-MS ile belirlenen bazı aroma maddeleri

Aroma maddesi	Aroma Tanımı	Ortalama Miktar±S.E (µg kg ⁻¹ biber küspesi solüsyonu) ^a					
		Fermentasyon süresi (saat)					
		0	24	48	72	96	120
(Z)-1,5oktadien-3-ol (P=0.01)	Sardunya	T.E	T.E	40.29±1.01 ^A	11.39±1.02 ^B	15.16±2.18 ^B	22.01±3.56 ^B
1-okten-3-ol (P=0.025)	Mantar	T.E	T.E	66.19±3.06 ^{AB}	52.99±2.28 ^B	91.35±5.33 ^A	54.66±9.05 ^B
(E)-2-oktenal (P=0.03)	Mantar	T.E	T.E	93.73±5.79 ^A	5.17±0.53 ^B	12.30±4.0 ^{AB}	15.08±0.87 ^{AB}
(E)-2-oktenol (P=0.001)	Mantar	T.E	T.E	4.26±0.63 ^B	11.33±3.33 ^B	40.95±3.58 ^A	13.96±1.37 ^B

^{A-B}Fermentasyon süresince farklı büyük harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemlidir (P≤0.05). ^a120 saat fermentasyon boyunca belirlenen aroma maddelerinin oransal bolluğu. T.E: tespit edilmedi. S.E: standart hata

A. sojae tarafından üretilen aroma maddelerinin değişimi incelendiğinde (Çizelge 4.48), erlen düzeyinde üretilen 3-oktanonun biyoreaktör koşullarında üretilmediği belirlenmiştir. Biyoreaktör ortamında üretilen tüm aroma maddelerinin 24 saatlik fermentasyon sonrasında üretilmeye başlandığı tespit edilmiştir. *T. atroviride* fermentasyonunda olduğu gibi üretilen aroma maddelerinin miktarlarının, belli bir fermentasyon süresinden sonra biyoreaktör ortamından uzaklaşmasından dolayı önemli düzeyde azaldığı belirlenmiştir ($P \leq 0.05$). Buna göre, sardunya ve mantar aromaları veren (Z)-1,5 oktadien-3-ol ve (E)-2-oktenal'ın maksimum miktarları 48 saatlik fermentasyon süresinde, 1-okten-3-ol ve (E)-2-oktenol'ün maksimum miktarları ise 96 saatlik fermentasyon süresinde belirlenmiştir. *A. sojae* tarafından üretilen söz konusu aroma maddelerinin maksimum miktarları sırasıyla 40.29, 93.73 $\mu\text{g kg}^{-1}$, 91.35 ve 40.95 $\mu\text{g kg}^{-1}$ olarak tespit edilmiştir.

Çizelge 4.49 'da *A. sojae* ve *T. atroviride* tarafından biyoreaktör koşullarında biber küspesinde üretilen aroma maddelerinin verimlilik değerleri verilmiştir.

Çizelge 4.49. *A. sojae* ve *T. atroviride* tarafından biber küspesinde üretilen aroma maddelerinin verimlilikleri

Uçuşu bileşen	Ortalama±S.E ($\mu\text{g kg}^{-1}$ biber küspesi solüsyonu sa. ⁻¹) ^a	
	<i>A. sojae</i>	<i>T. atroviride</i>
Etil asetat	-	1.11±0.05
Etil butirat	-	0.07±0.01
(Z)1,5 oktadien-3-ol	0.83±0.02	-
1-okten-3-ol	0.95±0.07	0.59±0.06
Benzene asetaldehit	-	0.04±0.01
(E)-2-oktenal	1.95±0.17	0.04±0.01
(E)-2-oktenol	0.41±0.03	0.24±0.06
Fenil etil alkol	-	0.43±0.11

^aAroma maddesinin maksimum miktarının belirlendiği fermentasyon süresine göre hesaplanmıştır. S.D: standart sapma

Çizelge 4.49 incelendiğinde, (E)-2-oktenalın *A. sojae* tarafından, etil asetat (meyvemsi)'in ise *T. atroviride* tarafından diğer aroma maddelerine göre daha yüksek miktarda üretildiği görülmektedir. Her iki aroma maddesinin verimlilik değeri sırasıyla 1.95 $\mu\text{g kg}^{-1}\text{sa.}^{-1}$ ve 1.11 $\mu\text{g kg}^{-1}\text{sa.}^{-1}$ dir. Bununla birlikte biber küspesinde 1-okten-3-ol (mantar)' un *A. sojae* tarafından *T. atroviride*'den daha fazla miktarda ürettiği söylenebilir. *T. atroviride* ile fermente edilmiş biber küspelerinde üretilen aroma maddelerinden düşük verimlilik

değerine sahip olanlar ise etil butirat (meyvemsi), (E)-2-oktenal (mantar) ve benzenasetaldehit (çiçek, gül)'tir.

Literatürde farklı tarımsal atıklardan doğrudan *A. sojae* ve *T. atroviride* kullanılarak aroma maddelerinin üretiminin araştırıldığı herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Ancak, özellikle *Trichoderma* spp. küfünün farklı türlerinin 6-pentil- α -piron (hindistan cevizi), 2-heptanon (besiyeri) 2-nonanon (sabun), 2-undekanon (krema), fenil etil alkol (gül), γ -kurkumen (γ -curcumene) (bitkisel) α -zingiberen (baharat) gibi bileşenlerin üretildiği bildirilmektedir (Aroujo ve ark., 2002; Bonnarme ve ark., 1997; Fiedler ve ark., 2001; Lloyd ve ark., 2005; Kalyani ve ark., 2000). Ayrıca fermente biber küspelerinde mantar aroması veren bileşikler olan 1-okten-3-ol, (E)-2-oktenol ve 3-oktanon dışında, *T. atroviride* tarafından üretilen etil asetat (meyvemsi), etil butirat (meyvemsi), benzenasetaldehit (çiçek), fenil etil alkol (gül) gibi alkol ve ester türevli aroma bileşenlerin diğer küf türleriyle de fermente edilmiş soya peyniri, küflü peyniri, Camembert peyniri gibi gıda ürünlerinde de üretimi bildirilmektedir (Ahmad ve ark., 2008; Hayaoğlu ve ark., 2008; Kubickova ve Grosch, 1997).

Bonnarme ve ark., (1997) yaptıkları bir çalışmada, farklı *Trichoderma* spp. türlerinin hint yağı, fındık yağı, üzüm çekirdeği yağı ve keten tohumu yağları ile katkılanmış sentetik besiyerlerinde 6-pentil- α -piron (hindistan cevizi) üretimini gerçekleştirdiğini belirlemişlerdir. Özellikle *T. viride* TSP2 suşunun %20 hint yağı katkılı besiyerinde 6 günlük fermentasyonda 1230 mg L⁻¹ konsantrasyonunda 6-pentil- α -piron üretimi yaptığını tespit etmişlerdir. Yapılan bir başka çalışmada ise (Stoppacher ve ark., 2010), Potato Dextrose Agarda (PDA)'da gelişen *T. atroviride* ATCC 74058 tarafından aroma maddelerinin değişimleri incelenmiştir. Çalışma sonucunda, *T. atroviride* tarafından 61 adet alkol, keton, alkan, lakton, mono ve di-seskiterpen (sesquiterpenes) türevli aroma maddesinin üretildiği saptanmıştır. Belirlenen bu maddelerinden en baskın olan aroma maddesinin 6-pentil- α -piron olduğu ifade edilmiştir.

Sonuç olarak, biber küspesinin *A. sojae* ve *T. atroviride* tarafından fermente edilmesiyle 8 karbonlu ve çoğunlukla mantar aroması ile ilişkilendirilen (Z)-1,5-oktadien-3-ol, 1-okten-3-ol, (E)-2-oktenal ve (E)-2-oktenol gibi aroma bileşenlerinin üretilebileceği belirlenmiştir. Bununla birlikte, domates küspesi fermentasyonundan farklı olarak *T. atroviride* fermentasyonu ile biber küspesinde ester ve alkol türevli olan etil asetat, etil butirat ve fenil etil alkol gibi aroma bileşenlerinin oluştuğu saptanmıştır. Bu durumun, aroma maddesi üretimi için kullanılan ve biber küspesi içeriğinde bulunan bileşenlerin *T. atroviride*

tarafından farklı mikrobiyal yollarla kullanmasından kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Nitekim, yapılan çalışmalarda aynı küf türünün farklı tarımsal atıklardaki aroma maddesi üretimlerinin farklı olduğu rapor edilmiştir (Christen ve ark., 2000; Soares ve ark., 2000). Örneğin; yapılan bir çalışmada farklı endüstriyel atıkların *R. oryzae* ile fermente edilmesiyle aroma maddelerinin üretimi incelenmiştir. Çalışma sonucunda amarant tohumları, elma ve kasava karışımı küspenin fermente edilmesiyle *R. oryzae* tarafından etil propionat (meyvemsi) üretildiği belirlenirken, kasava, soya fasulyesi ve elma küspesi karışımında etil propinatın üretilmediği belirlenmiştir (Christen ve ark., 2000). Benzer şekilde, Soares ve ark. (2000) % 35 glikoz ilave edilmiş kahve atıklarının *Ceratocystis fimbriata* tarafından fermente edilmesiyle kültür ortamında izopropanal, izoamil asetat, 2-oktanon maddelerinin üretiminin gerçekleştiğini, % 35 glikoz ve soya yağı ilavesi yapılmış kahve atıklarının kullanıldığı kültür ortamında ise söz konusu aroma maddelerinin üretilmediğini saptanmışlardır.

Üretim verimlilikleri bakımından (E)-2-oktenal (mantar)'ın *A. sojae*'nin etil asetat (meyvemsi)'in ise *T. atroviride* tarafından diğer aroma maddelerine göre daha yüksek miktarda üretildiği belirlenmiştir. Bununla birlikte, *A. sojae*'nin 1-okten-3-ol (mantar)'ü *T. atroviride*'den daha yüksek miktarda ürettiği tespit edilmiştir. *T. atroviride* tarafından üretilen etil asetat hariç diğer ester ve alkol türevli aroma maddelerinin verimlilik değerleri, diğer aroma maddelerine göre daha düşük bulunmuştur.

4.10.3. *A. sojae* ve *T. atroviride* ile fermente edilmiş biber küspesinin duyuşal özellikleri

A. sojae ve *T. atroviride* ile fermente edilmiş biber küspesinde 10 adet karakteristik tanımla terim belirlenmiştir (Çizelge 4.50). Bunlar, taze biber, bitkisel, nemli toprak, fermente sebze, pişmiş, odun, tatlı aromatik, depo/küf, tatlı kabak ve çiçek/gül dür. Yapılan varyans analiz sonucunda biber küspelerinde belirlenen duyuşal özelliklerin yoğunluklarının küf çeşidine göre değişim göstermektedir ($P \leq 0.05$). Buna göre, *T. atroviride* ile fermente edilmiş biber küspesinde tatlı aromatik ve depo/küf aromalarının daha yüksek olarak algılandığı, çiçek/gül/kolonya ve tatlı kabak aromalarının ise *A. sojae* ile fermente olmuş biber küspesinde daha yüksek algılandığı belirlenmiştir (Şekil 4.12). Diğer aromatik özelliklerin ise kontrol grubunda daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Bu durum, *T. atroviride* ile fermente edilmiş biber küspesinde GC-MS ile belirlenen etil asetat, etil butirat ve 1-okten-3-ol miktarının daha yüksek olmasıyla ilişkilendirilebilir. Benzer şekilde çiçek/kolonya ve pişmiş tatlı kabak aromasının yüksek olması *A. sojae* ile fermente edilmiş biber küspesinde belirlenen (E)-2-oktenol ve 3-oktanon miktarıyla ilişkilendirilebilir. Nitekim, etil asetat ve etil butirat

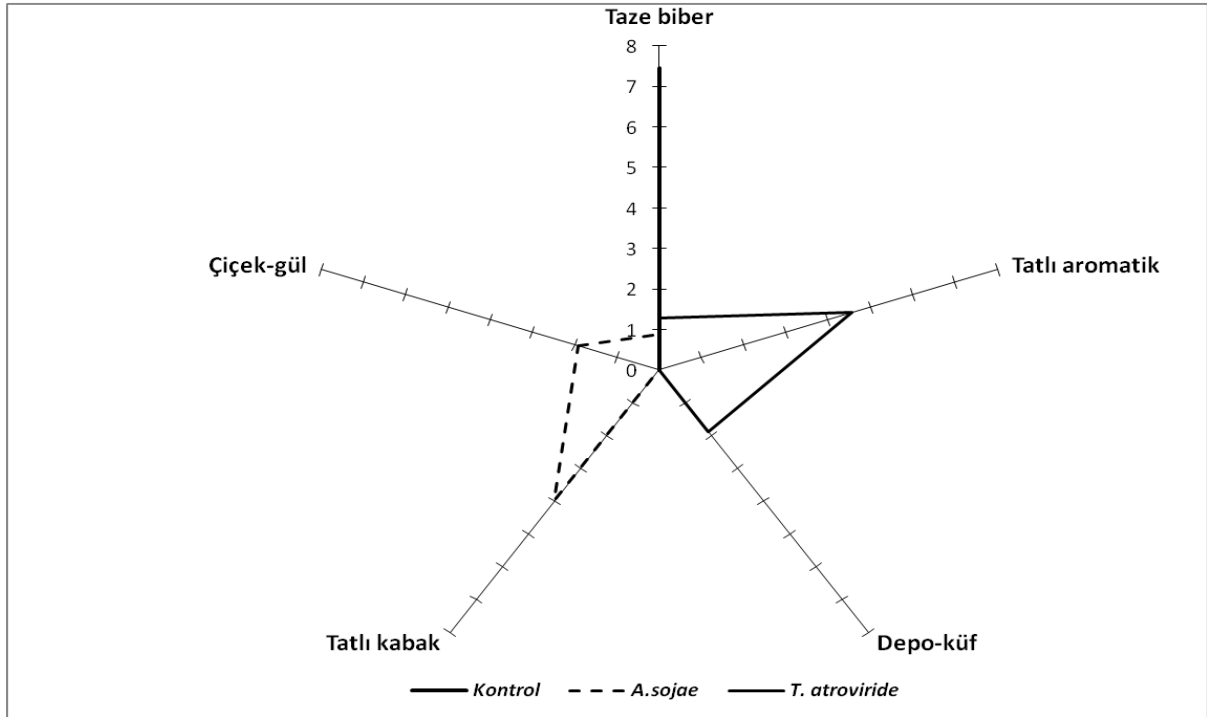
bileşiklerinin meyvemsi tatlı aroma, 1-okten-3-ol, 3-oktanon, (E)-2-oktenol bileşiklerinin ise mantar, toprak ve küf kokusu gibi özelliklere sahip oldukları bilinmektedir (Reineccus, 2006).

Çizelge 4.50. *A. sojae* ve *T. atroviride* ile fermente edilmiş biber küspesinin duyuusal özellikleri

Aromatik Özellik	Ortalama ^a ± S.E			P değeri
	<i>Kontrol</i>	<i>A.sojae</i>	<i>T. atroviride</i>	
Taze biber	7.46±0.26 ^A	0.89±0.13 ^B	1.28±0.08 ^B	0.01
Bitkisel	2.60±0.17 ^A	1.60±0.17 ^B	1.07±0.25 ^B	0.01
Nemli toprak	1.92±0.20 ^A	0.21±0.11 ^B	0.67±0.15 ^B	0.01
Fermente sebze	0.17±0.10 ^A	T.E	0.82±0.29 ^B	0.01
Pişmiş	2.46±0.22 ^A	1.82±0.10 ^B	2.89±0.30 ^A	0.01
Odun	1.21±0.12 ^A	0.17±0.08 ^B	1.10±0.14 ^A	0.01
Tatlı aromatik	T.E	T.E	4.57±0.21	-
Depo/küf	T.E	T.E	1.89±0.17	-
Tatlı kabak	T.E	4.0±0.36	T.E	-
Çiçek/Gül/Kolonya	T.E	1.92±0.16	T.E	-

^{A-B}Aynı aromatik özellikte farklı büyük harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemlidir ($P \leq 0.05$).

^a120 saat fermentasyon sonunda belirlenmiştir. T.E: Tespit edilmedi. SE: standart hata



Şekil 4.12. *A. sojae* ve *T. atroviride* ile fermente edilmiş biber küspesinin bazı duyuusal özelliklerine ait örümcek ağı diyagramı

4.11. Biber K sbesinde Bakteri Fermentasyonu ile Gerçekleştirilen alışmalar

Biber k sbesinde bakteriyel fermentasyon denemelerinde, domates k sbesinde olduğu gibi *Lactobacillus buchneri* B1837 ve *Acetobacter* spp.'nin mikrobiyal gelişimlerinin olduğu, ancak her iki bakterinin de biber k sbesinde herhangi bir aroma üretimini gerekleştirmediiği GCO analizleri ile belirlenmiştir (izelge 4.52). Yapılan varyans analizi sonucunda biber k sbesinde *L. buchneri* ve *Acetobacter* spp.'nin bakteriyel gelişiminin fermentasyon süresi ve mikroorganizma çeşidine bağlı olarak değişiklik gösterdiği belirlenmiştir (P=0.03, izelge 4.51). Buna göre *L. buchneri*'nin gelişiminin 24 saat boyunca devam ettiği, 24 saatlik fermentasyon süresinden sonra ise hücre sayısı artışında önemli bir değişim olmadığı (P≤0.05), yani gelişiminin durağan faza geçtiği belirlenmiştir. Buna karşın biber k sbesinde *Acetobacter* spp. gelişiminin devam ettiği belirlenmiştir. 72 boyunca *L. buchneri* ve *Acetobacter* spp.'nin hücre sayılarında sırasıyla 1.29 ve 3.09 log'luk bir artış gözlenmiştir (izelge 4.51). Çizelge 4.52'de *L. buchneri* ve *Acetobacter* spp. ile fermente edilmiş biber k sbesinde belirlenen aroma aktif bileşenler gösterilmiştir. *L. buchneri* ve *Acetobacter* spp. ile fermente olmuş biber k sbeslerinde belirlenen aroma bileşenlerinin yoğunluklarının kontrol grubunda daha d şuk olduğu bulunmuştur. Ayrıca bazı aroma maddelerinin ise fermente biber k sbeslerinde olmadığı tespit edilmiştir.

Çizelge 4.51. Biber k sbesinde *L. buchneri* ve *Acetobacter* spp. erlen düzeyinde gelişimleri

Fermentasyon süresi (saat)	Hücre sayısı	
	Ortalama±SE (log kob mL ⁻¹ biber k�sbesi solüsyonu)	
	<i>L.buchneri</i>	<i>Acetobacter</i> spp.
0	7.0±0.01 ^{Ba}	7.0±0.01 ^{Ca}
24	8.29±0.20 ^{Aa}	8.19±0.38 ^{Ba}
48	7.73±0.03 ^{ABb}	8.58±0.41 ^{Ba}
72	7.81±0.03 ^{ABb}	10.09±0.26 ^{Aa}
P değeri	0.03	

^{A-C} Aynı mikroorganizma çeşidinde farklı büyük harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemlidir (P<0.05). ^{a-b} Aynı fermentasyon süresinde farklı küçük harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemlidir (P<0.05). kob: koloni oluşturan birim, SE: standart hata

Çizelge 4.52. *L. buchneri* ve *Acetobacter* spp. ile fermente edilmiş biber küspesinde belirlenen aroma aktif bileşenler

RI ^a	Uçuşu bileşen	Aroma Tanımı	Belirleme yöntemi	Aroma yoğunluğu (ortalama±SE) ^b			
				Kontrol ^c	<i>L. buchneri</i>	Kontrol ^d	<i>Acetobacter</i> spp.
592	Diasetil	Tereyağı	RI, O	3.50±0.40	1.25±1.25	3.80±0.40	1.5±1.0
617	Asetik asit	Ekşi, sirke	RI, O	1.0±0.75	1.0±1.0	2.0±1.0	T.E
801	Hekzanal	Çimen, yaprak	RI, O	1.50±0.01	0.25±0.25	1.80±0.40	0.40±0.40
861	Izovalerik asit	Ter, ekşi	RI, O	1.75±1.50	2.50±1.50	2.0±0.10	2.0±1.0
871	Izoamil asetat	Meyvemsi	RI, O	T.E	T.E	0.30±0.10	T.E
883	Stiren	Balsamik	RI, O	T.E	T.E	3.0±1.50	T.E
899	2-Heptanon	Besiyeri	RI, O	3.50±2.0	0.50±0.50	1.50±0.80	T.E
907	Metiyonal	Haşlanmış patates	RI, O	2.50±2.0	1.0±1.0	5.50±0.30	T.E
933	2-asetil-1-pirolin	Patlamış mısır	RI, O	T.E	T.E	0.40±0.20	0.50±0.1
981	2-Oktanöl	Mantar	RI, O	4.25±0.25	5.0±0.10	5.80±1.10	2.0±0.01
984	(Z)-1,5 oktadien-3-on	Sardunya	RI, O	2.50±2.50	2.0±2.0	1.0±0.50	1.50±10
1001	Hekzil asetat	Ferah, kolonya	RI, O	0.40±0.40	0.50±0.50	0.30±0.10	T.E
1052	Benzenasetaldehit	Gül, çiçek	RI, O	0.40±0.40	T.E	0.80±0.40	T.E
1061	Bilinmeyen 1	Yanık, kirli	RI, O	3.50±2.0	3.50±1.0	1.30±0.40	2.0±1.0
1097	3,5-oktadien-2-on	Kızarmış yağ	RI, O	1.25±1.25	2.0±2.0	4.0±0.50	1.50±1.0
1106	Linalool	Çay	RI, O	1.0±1.0	T.E	2.50±1.30	2.0±1.0
1140	2-fenil etil alkol	Gül	RI, O	1.0±0.01	0.50±0.50	0.50±0.30	0.50±0.50
1160	(E,Z)-2,6-nonadienöl	Saman, tütün	RI, O	1.50±1.50	1.50±1.50	4.50±0.30	1.50±1.50
1173	Dekanal	Saman	RI, O	1.25±1.0	0.80±0.25	5.0±0.50	T.E
1183	2,3-dietil-5-metil-pirazin	Biber	RI, O	6.0±0.50	3.0±2.0	6.50±0.30	7.50±0.50
1246	3-karvomenthenon	Balikhane	RI, O	0.50±0.50	T.E	1.0±0.50	1.30±1.30
1333	(E,E)-2,4-dekadienal	Yağ	RI, O	0.75±0.50	T.E	3.50±0.30	0.40±0.40
1349	α-kubenen	Saman, kuru bitki	RI, O	T.E	T.E	0.50±0.30	T.E
1488	β-damasenon	Tatlı, üzüm	RI, O	T.E	T.E	1.50±0.80	T.E

^aHP-5 MS kolonda hesaplanmıştır, ^b72 saat fermentasyon sonunda belirlenen aroma yoğunluğu, ^c 37 °C *L. buchneri* inoküle edilmeden inkübe edilen domates küspesi için kontrol örneği, ^d30 °C *Acetobacter* spp. inoküle edilmeden inkübe edilen domates küspesi için kontrol örneği, SE: standart hata, T.E: Tespit edilmedi. RI: alıkonma indeksi, O: Koku

Çalışmada yine domates küspesine benzer şekilde biber küspesinde de enzim ve asit uygulaması yapılarak *P. fluorescens*, *P. putida*, *C. cellulans* ve *Streptomyces* spp. ile fermentasyon denemeleri yapılmış ancak bu denemelerde de mikrobiyal bir gelişim gözlenmemiştir. Çizelge 4.53’de söz konusu bakterilere ait mikrobiyal gelişimler verilmiştir. Çizelge 4.53 incelendiğinde, biber küspesinde söz konusu tüm mikroorganizmaların başlangıçta inoküle edilen hücre sayılarının (7 log) 72 saatlik fermentasyon boyunca azaldığı görülmektedir.

Çizelge 4.53. Biber küspesinde bazı bakterilere ait erlen düzeyinde mikrobiyal gelişimler

Mikroorganizama/uygulama	Hücre sayısı			
	Ortalama \pm S.E (log kob mL ⁻¹ biber solüsyonu)			
	Fermentasyon süresi (saat)			
	0	24	48	72
<i>Streptomyces</i> spp.		3.73 \pm 0.61	3.53 \pm 0.08	<3
<i>C. cellulans</i> (asit uygulaması)		- ^A	4.80 \pm 0.01	<3
<i>C. cellulans</i> (enzim uygulaması)		-	3.47 \pm 0.31	<3
<i>P. putida</i> (enzim uygulaması)	7.0 \pm 0.01	-	<3	<1
<i>P. putida</i> (asit uygulaması)		-	<3	<1
<i>P. fluorescens</i> (enzim uygulaması)		-	4.99 \pm 0.06	<3
<i>P. fluorescens</i> (asit uygulaması)		-	<3	<1

^A Sayım alınmamıştır. kob: koloni oluşturan birim, SE: standart hata

BÖLÜM 5

SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada farklı bileşimlere sahip tarımsal atıklardan mikrobiyal fermentasyon yoluyla doğal bazı aroma maddelerinin üretilmesi ve seçilen mikroorganizmaların aroma üretme potansiyellerinin ortaya konması amaçlanmıştır. Bu amaçla *Kluyveromyces* spp., *Debaryomyces* spp., *Candida* spp., *Rhizopus* spp., *Aspergillus* spp., *Pseudomonas* spp., ve *Lactobacillus* spp. gibi seçilmiş bazı mikrobiyal kültürlerin pirina, domates ve biber küspeleri üzerinde gelişimi sağlanmıştır. Aroma bileşenlerinin üretimi ve optimizasyonu için erlen ve biyoreaktör düzeylerinde derin kültür fermentasyonu kullanılmıştır. Aroma-aktif bileşenleri belirlemek amacıyla gaz kromatografisi-olfaktometre (GCO) tekniği, aroma maddelerinin miktar belirlemesi ve tanımlanması için ise gaz kromatografisi-kütle spektrometresi (GC-MS) kullanılmıştır. Fermentasyon sonucu oluşan ürünlerin duyuşal aroma profilini belirlemek amacıyla da Spectrum™ metodu uygulanmıştır.

Pirinada *C. tropicalis* ve *T. delbrueckii* hücrelerinin erlen ve biyoreaktör düzeyinde mikrobiyal gelişimlerinde durağan faza geçiş sürelerinin uzun olduğu ve ikincil metabolit üretimlerinin yavaş olduğu belirlenmiştir. Aroma üretme yetenekleri bakımından *T. delbrueckii* ile fermente edilen pirinada fenil etil alkol ve mentolün, *C. tropicalis* ile fermente edilen pirinada ise etil alkol, d-limonen ve metil petanoatın üretildiği tespit edilmiştir. Ancak, tüm aroma maddelerinin verimliliklerinin düşük olduğu belirlenmiştir. Mayaların kullanıldığı pirina örneklerinin duyuşal değerlendirme sonuçları incelendiğinde, nemli bulgur, toprak, ıslak kirli havlu ve fermente aroma bakımından *T. delbrueckii* ile fermente edilmiş pirina örnekleri ile kontrol grubu pirina örnekleri arasında önemli farklılıkların olduğu belirlenmiştir. Ham zeytin ve odun/bitki aromalarının da *C. tropicalis* ile fermente edilmiş pirina örneklerinde kontrol grubu pirina örneklerinden daha yüksek olduğu tespit edilmiştir.

Pirinada hem *T. atroviride* hem de *R. oryzae* küfleri kullanılarak yapılan çalışmada mikrobiyal gelişimlerin yavaş olduğu, *R. oryzae*'nin hücre sayısı artışının *T. atroviride*'ye göre daha yüksek olduğu saptanmıştır. Genel olarak pirinada yoğunlukları yüksek olarak belirlenen aroma bileşenleri izovalerik asit, bilinmeyen 1 ve 2, stiren, *o*-kresol, guaiakol, (E), 2-nonenal, (E,Z)-2,6-nonadienol, 2,4 nonadienal ve (E,E)-2,4-dekadial'dir. *T. atroviride* tarafından pirinada üretilen aroma maddelerinden hem 1-okten-3-olün hem de 2-oktenolün kültür ortamındaki miktarlarının 48 saatlik fermentasyon süresince arttığı; *R. oryzae* ile

fermente edilen pirinada ise limonen, pentanon ve fenil etil alkolün yoğunluğunun arttığı belirlenmiştir. Duyusal özellikler bakımından *T. atroviride* ve *R. oryzae* ile fermente edilmiş pirinada 12 adet duyusal tanımlayıcı terim ortaya konmuştur. Panelistler tarafından *T. atroviride* ile fermente edilmiş pirina örneklerinde fermente ve mantar aroması, kontrol grubu pirina örneklerine göre daha yüksek yoğunlukta algılanmıştır. *R. oryzae* ile fermente edilmiş pirinada belirlenen duyusal aroma özelliklerinden sadece ham zeytin aromasının kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu belirlenmiştir.

Pirinada bakteri fermentasyonu için *Pseudomonas putida* NRRL B-1603, *Pseudomonas fluorescens* NRRL B-252 ve *Cellosimicrobium cellulans* NRRL Y-2381 bakterileri kullanılmıştır. Öncelikle pirinada *Pseudomonas* ve *Enterococcus* türleri ile farklı pH'larda fermentasyon denemeleri gerçekleştirilmiş, ancak pirinada söz konusu mikroorganizmaların mikrobiyal gelişimi gözlenememiştir. Yapılan tüm bakteriyel çalışmalarda mikrobiyal gelişimin ya çok az ya da hiç olmadığı belirlenmiştir. Bu durumun pirinada bulunan bazı minör bileşenlerin bakteriyel gelişimi engellemesinden veya bakterilerin gelişimleri için gerekli spesifik büyüme faktörlerini pirinadan sağlayamamasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Domates küspesi ile yapılan maya çalışmasında *K. marxianus* ve *D. hansenii* kullanılmıştır. Erlen ve biyoreaktör düzeyinde gelişimlerine ait elde ettiğimiz hücre sayısı artışı ve spesifik üreme hızı değerleri incelendiğinde, domates küspesinde *D. hansenii*'nin *K. marxianus*'dan daha iyi ürediği görülmektedir. Domates küspesinin *K. marxianus* ve *D. hansenii* ile fermente edilmesiyle alkol, asit ve ester türevli aroma bileşiklerin üretildiği tespit edilmiştir. Domates küspesinden *K. marxianus* ve *D. hansenii* ile erlen düzeyinde üretilen aroma maddelerinin özellikle çiçek ve meyvemsi aroma kalitesine sahip olan izoamil alkol, metil-2-metil pentanoat, izovalerik asit, izoamil asetat, fenil etil alkol ve fenil etil asetat olduğu tespit edilmiştir. Biyoreaktör düzeyindeki denemelerde, izoamil alkol ve izovalerik asitin diğer aroma maddelerine göre daha yüksek miktarda üretildiği tespit edilmiştir. Özellikle izovalerik asitin (ekşi, meyvemsi) *K. marxianus*'un fermentasyonunda en hızlı ve en fazla üretimi gerçekleşen aroma maddesi olduğu, *D. hansenii* fermentasyonunda ise en hızlı ve en fazla üretilen aroma maddesinin fenil etil alkol olduğu belirlenmiştir. Yapılan duyusal analizlerle, *K. marxianus* ve *D. hansenii* ile fermente edilmiş domates küspelerinin duyusal karakteristikleri 10 adet duyusal tanımlayıcı terim ile ortaya konmuştur. Duyusal değerlendirmeler sonucunda, *K. marxianus* ve *D. hansenii* fermente edilmiş domates küspelerinde kontrol grubu domates küspelerine göre tarhana, fasulyemsi ve pişmiş domates

aromalarının panelistler tarafından yüksek yoğunlukta algılanması her iki maya tarafından fermentasyon sonucu miktarları artan asetat ve alkol türevli izoamil alkol, izovalerik asit, izoamil asetat, fenil etil alkol ve fenil etil asetat ile ilişkili olabilir. Söz konusu uçucu bileşenlerin aroma kaliteleri meyvemsi, ester, floral ve fermente olarak tanımlanmıştır.

Domates küspesinde yapılan küf çalışmasında *A. sojae* ve *T. atroviride* kullanılmış olup, *T. atroviride*'nin domates küspesinde gelişiminin daha iyi olduğu görülmüştür. Hem erlen düzeyinde hem de biyoreaktör düzeyinde üretimlerde *T. atroviride*'nin hücre artışının ve spesifik üreme hızının *A. sojae*'den daha yüksek olduğu daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Domates küspesinin her iki küf ile fermentasyonu sonucu yoğunluğu artan aroma maddeleri ise (Z)-1,5-oktadien-3-ol, 1-okten-3-ol, (E)-2-oktenal, (E)-2-oktenoldür. *T. atroviride* ile fermente edilmiş domates küspesinde (Z)-1,5-oktadien-3-ol, 1-okten-3-ol ve (E)-2-oktenol'ün yoğunluklarının kontrol grubu ve *A. sojae* ile fermente edilmiş domates küspelerinden daha yüksek olduğu belirlenmiştir. 2-oktenal yoğunluğunun ise *A. sojae* ile fermente edilmiş domates küspesinde daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Özellikle mantar aroması ile ilişkilendirilen 1-okten-3-ol, 3-oktanon ve 3-oktanol gibi bileşiklerin domates küspesinden *T. atroviride* ve *A. sojae* küfleri ile biyoteknolojik olarak üretilebileceği belirlenmiştir. Duyusal özellikler bakımından *A. sojae* ve *T. atroviride* ile fermente edilmiş domates küspelerinde 10 adet tanımlayıcı terim ortaya konmuştur. Fermente domates küspelerinde belirlenen duyusal aroma terimleri; pişmiş domates, yeşil fasulye, fermente sebze, toprak, tatlı aromatik, metalik, tarhana gibi, depo/küf, ransit ve fındığımsı/betondur. *T. atroviride* ile fermente edilmiş domates küspesinde pişmiş domates, tatlı aromatik ve metalik aromaları, *A. sojae* ile fermente edilmiş domates küspelerinden daha yüksek düzeyde algılanmıştır. *A. sojae* ile fermente edilmiş domates küspelerinde fındığımsı/beton aromasının daha yüksek düzeyde algılandığı belirlenmiştir.

Yapılan bakteri çalışmasında *Lactobacillus buchneri* B1837 ve *Acetobacter* spp. nin domates küspesinde mikrobiyal gelişimlerinin olduğu ancak her iki mikroorganizmanın da herhangi bir aroma üretimi gerçekleştirmediği belirlenmiştir. Çalışmada domates küspesinde enzim ve asit uygulaması yapılarak *P. fluorescens*, *P. putida*, *C. cellulans* ve *Streptomyces* spp. ile fermentasyon denemeleri de yapılmıştır. Ancak bu denemelerde de mikrobiyal bir gelişim gözlenmemiştir.

Biber küspesi ile yapılan maya çalışmasında kullanılan *K. marxianus* ve *D. hansenii*'nin erlen ve biyoreaktör düzeyinde gelişimleri incelendiğinde, erlen düzeyindeki üretimlerde *K.*

marxianus'un biber küspesinde gözlemlenen hücre sayısı artışının *D. hansenii*'den daha yüksek olduğu, ancak biyoreaktör ortamında mayaların hücre sayısı artışının benzer olduğu belirlenmiştir. Her iki maya türü için hesaplanan spesifik üreme hızları değerlendirildiğinde, *D. hansenii*'nin biber küspesinde gelişiminin daha hızlı olduğu söylenebilir. Aroma üretme potansiyelleri incelendiğinde ise biber küspesinin *K. marxianus* ve *D. hansenii* ile fermente edilmesiyle asetat esterleri ve alkol türevli aroma bileşiklerin üretildiği tespit edilmiştir. Fermente biber küspelerinde belirlenen aroma aktif bileşenler domates küspesinde olduğu gibi asit, aldehit ve alkol türevli bileşiklerden oluşmaktadır. *K. marxianus* ve *D. hansenii* ile fermente edilmiş biber küspelerinde izoamil asetat, fenil etil alkol ve yanık kirli aroma ile ilişkilendirilen bilinmeyen 1 nolu aroma bileşeninin yoğunluğunun kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Domates küspesinde ve pirinadaki biyoreaktör koşullarında elde ettiğimiz aroma değişimlerine benzer şekilde, genel olarak biber küspesinde de biyoreaktör ortamında üretilen aroma maddelerinin miktarları belirli bir fermentasyon süresinden sonra azalmaktadır. Bu durum ikincil metabolit olarak üretilen aroma maddelerinin biyoreaktör ortamından uzaklaştığını göstermektedir. *K. marxianus* ve *D. hansenii* ile fermente edilmiş biber küspelerinin duyuşsal özellikleri dokuz adet duyuşsal tanımlayıcı terim ile ortaya konmuştur. Biber küspelerinde belirlenen aroma terimleri; taze biber, bitkisel, fermente sebze, pişmiş, odun, fermente meyve, depo, gül/çiçek ve keskin aromatiktir. Bitkisel, gül/çiçek aromalarının *K. marxianus* ile fermente edilmiş biber küspesinde yoğunlukları yüksek bulunurken, keskin aromatik, depo ve fermente sebze yoğunluğunun *D. hansenii* ile fermente edilen biber küspesinde daha yüksek olduğu tespit edilmiştir.

Biber küspesi ile yapılan küf çalışmasında *A. sojae* ve *T. atroviride* kullanılmış olup erlen düzeyindeki üretimlerde *A. sojae*'in biber küspesinde gözlemlenen hücre sayısı artışının *T. atroviride*'den daha yüksek olduğu belirlenmiştir. *A. sojae* ve *T. atroviride* ile fermente edilmiş biber küspesinde toplam 27 adet aroma-aktif bileşen belirlenmiştir. Biber küspelerinde belirlenen aroma aktif bileşenler asit, aldehit ve alkol türevli bileşiklerdir. Biber küspesinin hem *A. sojae* hem de *T. atroviride* ile fermente edilmesiyle aroma yoğunluğu artan bileşenler metiyonal (haşlanmış patates), 2-asetil-1-pirolin (patlamış mısır) 1-okten-3-ol (mantar) ve (E)-2-oktenol (yanık kirli) olarak belirlenmiştir. Bununla birlikte, sadece *A. sojae* ile fermente edilmiş biber küspesinde yoğunluğu kontrol grubuna göre yüksek olan aroma bileşenleri (Z)-1,5 oktadien-3-ol, 3- oktanon ve (E)-2-oktanaldır. Biber küspesinin *A. sojae* ve *T. atroviride* tarafından fermente edilmesiyle üretilen aroma maddeleri çoğunlukla mantar aroması ile ilişkilendirilen (Z)-1,5-oktadien-3-ol, 1-okten-3-ol, (E)-2-oktenal ve (E)-2-oktenol

gibi aroma bileşenlerdir. Bununla birlikte, domates küspesi fermentasyonundan farklı olarak *T. atroviride* fermentasyonu ile biber küspesinde ester ve alkol türevli olan etil asetat, etil bütirat ve fenil etil alkol gibi aroma maddelerinin oluştuğu saptanmıştır. *A. sojae* ve *T. atroviride* ile fermente edilmiş biber küspelerinin duyuşal özellikleri incelendiğinde 10 adet duyuşal tanımlayıcı terim saptanmıştır. Bunlar, taze biber, bitkisel, nemli toprak, fermente sebze, pişmiş, odun, tatlı aromatik, depo/küf, pişmiş tatlı kabak ve çiçek/güldür. *T. atroviride* ile fermente edilmiş biber küspesinde tatlı aromatik ve depo/küf aromalarının daha yüksek düzeyde algılandığı, çiçek/kolonya pişmiş tatlı kabak aromalarının ise *A. sojae* ile fermente olmuş biber küspesinde daha yüksek düzeyde algılandığı belirlenmiştir.

Yapılan bakteri çalışmasında yine domates küspesine benzer şekilde biber küspesinde de enzim ve asit uygulaması yapılarak *P. fluorescens*, *P. putida* ile *C. cellulans* ve *Streptomyces* spp. ile fermentasyon denemeleri yapılmış, ancak bu denemelerde de mikrobiyal bir gelişim gözlenmemiştir. Bu nedenle fermentasyonun gerçekleşmediği ve biber küspesinde herhangi bir aroma değişiminin olmadığı gözlenmiştir.

Elde edilen bulguların genel değerlendirmesi yapılacak olursa aroma üretiminde kullanılan tarımsal atıkların bazıları mikroorganizmalardan aroma üretimi için uygun besin ortamlarına sahiptirler. Özellikle tercih edilen tarımsal atıklardan domates ve biber küspesi maya ve küfler kullanılarak aroma maddelerinin üretimi konusunda uygun bulunmuştur. Ancak pirinada bazı mikroorganizmaların gelişemediği ve buna bağlı olarak aroma üretimlerinin düşük olduğu ve bunun da pirinada bulunan ve mikrobiyal faaliyeti engelleyen bazı bileşenlerden kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir. Tarımsal atıklar gibi besin ortamlarından bu tür bileşenlerin uzaklaştırılmasıyla veya ortama mikroorganizmaların gelişimini teşvik edecek diğer besin öğelerinin ilavesiyle mikroorganizmaların gelişmesi sağlanabilir. Çalışmada kullanılan maya ve küflerin atıklarda gelişebildikleri ve aroma maddesi üretebildikleri görülmüştür. Tarımsal atıklarda mikroorganizmaların gelişimi ve aroma üretimi bakımından en büyük sorun bakterilerde görülmüştür. Bir çok bakteri çeşidi denenmiş ancak bunların atıklarda gelişmediği veya aroma üretmediği tespit edilmiştir. Bu sorunu çözebilmek amacıyla çeşitli adaptasyon çalışmaları, asit veya enzim uygulamaları yapılmıştır. Ancak bu denemeler sonucunda da uygun gelişimler sağlanamamıştır.

Çalışmada gerek mikrobiyal gelişimler gerekse aroma maddelerinin analizi erlen ve biyoreaktör düzeylerinde gerçekleştirilmiştir. Erlen düzeyindeki çalışmalarla kıyaslandığında biyoreaktör düzeyinde yapılan aroma çalışmalarında kayıplar olduğu gözlenmiştir. Bunun da

biyoreaktörün havalandırma sisteminden kaynaklanabileceği tahmin edilmektedir. Biyoreaktör sistemlerinden bu tür kayıpların olması kaçınılmazdır. Bu kayıpları engellemek için sisteme farklı aparatlar takılarak gaz fazın toplanması veya çeşitli absorbantların gaz çıkışına bağlanması ile kısmen de olsa bazı uçucu bileşenlerin toplanması sağlanabilir.

Gerçekleştirilen bu proje, bazı tarımsal atıklarda maya, küf ve bakteri gibi çeşitli mikroorganizma grupları kullanılarak doğal aroma maddelerinin araştırıldığı ilk çalışmalardan biridir. Oldukça kapsamlı olan bu çalışmada elde edilen bulgular ileride yapılması planlanan benzer çalışmalara kaynak oluşturabilecek niteliktedir. İleride spesifik grup mikroorganizmalar seçilerek bunlardan belirli aroma maddelerinin eldesi ve izolasyonu üzerine çalışmalar yapılması önerilebilir.

BÖLÜM 6

KAYNAKLAR

- Adams A., Kimpe N., 2007. Formation of Pyrazines and 2-acetyl-1-pyrroline by *Bacillus cereus*. *Food Chemistry*, 101: 1230–1238.
- Aggelopoulos T., Katsieris K., Bekatorou A., Pandey A., Banat M.A., Koutinas A.A., 201. Solid State Fermentation of Food Waste Mixtures for Single Cell Protein, Aroma Volatiles and Fat Production. *Food Chemistry*, 145:710-716.
- Aguedo M., Huong Ly M., Bel, I., Teixeira J.A., Belin J.M., Wache, Y., 2004. The Use of Enzymes and Microorganisms for the Production of Aroma Compounds from Lipids. *Food Technology and Biotechnology*, 42 (4): 327–336.
- Ahmad N., Li L., Yang X.Q., Ning Z.X., Randhawa A., 2008. Improvements in the Flavour of Soy Cheese. *Food Technology and Biotechnology*, 46(3):252-261.
- Akram Kashmiri A.M., Adnan A., Waseen Butt B., 2006. Production, Putrifaction and Partial characterization of Lipase from *Trichoderma viride*. *African Journal of Biotechnology*, 5(10):878-882.
- Alchihab M., Dubois-Dauphin R., Aguedo M., Destain J., Thonart P., 2010. Peroxisomal β -oxidation and Production γ -Decalactone by The Yeast *Rhodotorula aurantiaca*. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 38(2):68-72.
- Almeida M.J., Pais C., 1996. Leaving Ability and Freeze Tolerance of Yeasts Isolated from Traditional Corn and Rye Bread Doughs. *Applied and Environmental Microbiology*, 62:4401-4404.
- Alves-Araujo C., Pacheco A., Almeida M.J., Spencer-Martins I., Leao C., Sousa M.J., 2007. Sugar Utilization Patterns and Respiro-fermentative Metabolism in the Baker's Yeast *Torulaspora delbrueckii*. *Microbiology*, 153: 898–904
- Anonim, 1985. US Code of Federal Regulations 21, 101.22a.3. Food and Drug Administration, Washington, D.C.
- Anonim, 1988. The Council of the European Communities, Council Directive 88/388/EEC.
- Anonim, 1997. Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliği, 560 K.H.K, Ankara.
- Anonim, 2000. Improvements of Treatments and Validation of the Liquid-Solid Waste from the Two-Phase Olive Oil Extraction. <http://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download;jsessionid=01859483EE0859EBB7F9E4344B74BFF6?doi=10.1.1.130.8755&rep=rep1&type=pdf>. Erişim tarihi: 02/02/2013

- Anonim 2003. Impel Olive Oil Project. <http://europa.eu.int/comm/environment/impel>.
Erişim tarihi: 02/10/2013
- Anonim, 2011. An Overview of the Global Flavours and Fragrances Market, 6th Edition, IAL Consultant Market Report, <http://www.ialconsultants.com/website/press2009.asp>.
Erişim tarihi: 10/01/2011.
- Anonim, 2012. <http://www.leffingwell.com/chirality/limonene.htm>, Erişim tarihi: 10/05 2012.
- Anonim, 2013. An Overview of the Global Flavours and Fragrances Market, 6th Edition, IAL Consultant Market Report, <http://www.ialconsultants.com/website/press2009.asp>.
Erişim tarihi: 10/02/2013.
- Anonim, 2014. Flavornet. <http://www.flavornet.org/flavornet.html>. Erişim tarihi:13/01/2014.
- AOAC, International 2000. *Official methods of analysis of AOAC International*, 17th edn. AOAC International, Gaithersburg.
- Araujo A.A., Pastore M.G., Berger G.R., 2002. Production of Coconut Aroma by Fungi Cultivation in Solid-State Fermentation. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 98: 747-751.
- Atlas M.R., 2004. *Handbook of Microbiological Media*, CRC Press, Boca Raton, USA.
- Avsar Y.K., Karagul-Yuceer Y., Drake M.A., Singh T.K., Yoon Y., Cadwallader K.R. 2004. Characterization of Nutty Flavor in Cheddar Cheese. *Journal of Dairy Science*, 87:1999–2010.
- Baeta-Hall L., Saagua M.C., Bartolom M.L., Anselmo A.M., Rose M.F., 2005. Bio-Degradation of Olive Oil Husks in Composting Aerated Piles. *Biosource Technology*, 96(1):69-78.
- Bailey J.M., Ollis D.F., 1986. Metabolic Stoichiometry and Energetics. In: Bailey J.E., Ollis, D.F. (Eds). *Biochemical Engineering Fundamentals*. Singapore: McGrawHill Book Company, pp:331454.
- Barrosa D.P.C., Fonseca L.P., Fernandes P., Cabral M.S.J., Mojovic L., 2009. Biosynthesis of Ethyl Caproate and Other Short Ethyl Esters Catalyzed by Cutinase in Organic Solvent. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 60: 178-185.
- Başçetinçelik A., Öztürk, H.H., Karaca C., 2009. Türkiye’de Tarımsal Biyokütleden Enerji Üretimi Olanakları. *Tesisat Mühendisliği*, 109, 7-13.
- Belitz H.D., Grosch W., Schieberle, P., 2009. *Food Chemistry*. Berlin, Heidelberg, Springer-Verlag.

- Besson I., Creuly C., Gros j.B., Larroche C., 1997. Pyrazine production by *Bacillus subtilis* in Solid State Fermentation on Soybeans. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 47:489–495.
- Bicas J.L., Barros F.F.C., Wagner R., Godoy H.T., Pastore G.M. 2008. Optimization of R-(+)- α -terpineol Production by the Biotransformation of R-(+)-Limonene. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 35:1061-1070.
- Bluemke W., Schrader J., 2001. Integrated Bioprocess for Enhanced Production of Natural Flavors and Fragrances by *Ceratocystis moniliformis*. *Biomolecular Engineering*, 17: 137–142.
- Bonnarme P., Latrasse A.D., Feron G., Ginies C., Durand A., Le Quere J.L., 1997. Production of 6-Pentyl- α -Pyrone by *Trichoderma* sp. from Vegetable Oils. *Journal of Biotechnology*, 56:143 – 150.
- Braga A., Belo I., 2013. Immobilization of *Yarrowia lipolytica* for Aroma Production from Castor Oil. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 169(7):2202-2211.
- Bramorski A., Christen P., Ramirez M., Soccol C.R., Sergio R.,1998. Production of Volatile Compounds by the Edible Fungus *Rhizopus oryzae* During Solid State Cultivation on Tropical Agro-Industrial Substrates. *Biotechnology Letters*, 20 (4): 359–362.
- Breuer U., Harms H., 2006. *Debaryomyces hansenii*- an Extremophilic Yeast with Biotechnological Potential. *Yeast*, 23(6):415-437.
- Cabaroğlu T., Yılmaztekin, T., 2010. Aroma Biyoteknolojisi. In: Necla A., Ed. *Gıda Biyoteknolojisi*, Nobel Yayın Dağıtım Tic. Ltd.Şti. Ankara, s: 375-390.
- Cayabyab V.A., Uyenco R.F., Rosario E.J., 1977. Batch-culture Production of *Candida tropicalis* in acid hydrolyzate of rice straw. *Philippine Journal of Crop Science*, 2: 238-244.
- Celinska E., Kubiak P., Bialas W., Dziadas M., Grajek W., 2013. *Yarrowia lipolytica*: the Novel and Promising 2-phenylethanol Producer. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 40:389-392.
- Chatterjee T, De BK, Bhattacharyya DK. 1999. Microbial Oxidation of Alpha-pinene to (+)-Alpha-Terpineol by *Candida tropicalis*. *Indian Journal of Chemistry*, 38B:515–7.
- Christen P., Meza J. C., Revah S., 1997. Fruity Aroma Production in Solid State Fermentation by *Ceratocystis fimbriata*: Influence of the Substrate Type and the Presence of Precursors. *Mycological Research*, 101(8): 911-919.

- Christen P., Bramorski A., Revah S., Soccol C.R., 2000. Characterization of volatile compounds produced by *Rhizopus* Strains Grown on agro-Industrial solid Wastes. *Bioresource Technology*, 71: 211-215.
- Cichewicz R.H., Thorpe P.A., 1996. The Antimicrobial Properties of Chile Peppers (Capsicum species) and Their Uses in Mayan Medicine. *Journal Ethnopharmacology*, 52:61-70.
- Combet E., Henderson J., Eastwood D.C. 2006. Eight-carbon Volatiles in Mushroom and Fungi: Properties, Analysis, and Biosynthesis. *Mycoscience*, 47: 317-326.
- Converti A., Perego P., Sordi A., Torre P., 2002. Effect of Starting Xylose Concentration on the Microaerobic Metabolism of *Debaryomyces hansenii*. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 101:15-29.
- Couto S.R., Sanroman A., Application of Solid-State Fermentation to Food Industry-A Review. *Journal of Food Engineering*, 76: 291-302.
- Dastager G.S., 2009. Aroma Compounds, In: Singh nee'Nigam, P., Pandey,A. Eds., *Biotechnology for Agro-Industrial Residues Utilisation*. A. Springer Science +Business Media, p.105-127.
- Deetae P., Bonnarme P., Spinnler H.E., Helinck S. 2007. Production of Volatile Aroma Compounds by Bacterial Strains Isolated from Different Surface-Ripened French Cheeses. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 76:1161–1171.
- Davies K. M., Deroles S.C., 2014. Prospects for the Use of Plant Cell Cultures in Food Biotechnology. *Current opinion in Biotechnology*. 26:133-140.
- Del Campo I., Alegria I., Zazpe M., Echeverria M., Echeverria I., 2006. Diluted Acid Hydrolysis Pretreatment of Agri-Food Wastes for Bioethanol Production. *Industrial Crops and Prodcuts*, 24 (3):214-221.
- Del Valle, M., Camara, M., Esperanza Torija, M., 2006. Chemical characterization of tomato pomace. *Journal of Food and Agriculture*, 86: 1232-1236.
- Demir H., Göğüş N., Tarı C., Heerd D., Lahore M.F., 2012. Optimization of the Process Parameters for the Utilization of Orange Peel to Produce Polygalacturonase By Solid-State Fermentation from an *Aspergillus Sojae* Mutant Strain. *Turkish Journal of Biology*, 36:394-404.
- Demir H., Tarı, C. 2014. Valorization of Wheat Bran for the Production of Polygalacturonase in SSF of *Aspergillus sojae*. *Industrial Crops and Products*, 54:302-309.

- Dhillon G.S., Brar S.K., Verma M., Tyagi R.D., 2011. Utilization of Different Agro-Industrial Wastes for Sustainable Bioproduction of Citric Acid by *Aspergillus niger*. *Biochemical Engineering Journal*, 54(2):83-92.
- Dignum M.J.W., Kerler J., Verpoorte R., 2001. Vanilla Production: Technological, Chemical, and Biosynthetic Aspects. *Food Reviews International*, 17:199-219.
- Di Gioia D., Sciubba L., Setti L., Luziatelli F., Ruzzi M., Zanichelli D., Fava F., 2007. Production of Biovanillin from Wheat Bran. *Enzyme and Microbial Technology*, 41:498-505.
- Dominguez J.M., Gong S.C., Tsao G., 1997. Production of Xylitol from d-Xylose by *Debaryomyces hansenii*. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 63-65:117-127.
- Duarte L.C., Carvalheiro F., Lopes S., Neves I., Girio F.M., 2008. Yeast Biomass Production in Brewery's Spent Grains Hemicellulosic Hydrolyzate. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 148:119-129.
- Dubal S.A., Tilkari Y.P., Momin S.A., Borkar V.I., 2008. Biotechnological Routes in Flavour Industries. *Advanced BioTech*, 6(9):20-31.
- El-Adaway T., Taha K. M., 2001. Characteristics and Composition of Watermelon, Pumpkin, and Paprika Seed Oils and Flours. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 49: 1253-159.
- Elibol M, Yaşa I, Karaçancı S, Özsoy G., 2008. Zeytinyağı İşletmelerin Katı (Pirina) ve Sıvı (Karasu) Atıklardan Mikrobiyal Lipaz Üretimi. TÜBİTAK projesi no:106M464, Ankara-Turkey.
- Esmaili A., Hashemi E.2011. Biotransformation of Myrcene by *Pseudomonas aeruginosa*. *Chemistry Central Journal*, 5:26.
- Etschmann M.M.W., Sell D., Schrader J., 2003. Screening of Yeast for the Production of the Aroma Compounds 2-Phenylethanol in a Molasses-Based Medium. *Biotechnology Letters*, 25(7):531-536.
- Fabritius D., Schafer H.J, Steinbüchel A., 1998. Bioconversion of Sunflower oil, Rapeseed oil and Ricinoleic acid by *Candida tropicalis* M25. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 50:573-578
- Felse P.A., Panda T., 2000. Submerged Culture Production of Chitinase by *Trichoderma harzianum* in Stirred Tank Bioreactors- the Influence of Agitator Speed. *Biochemical Engineering Journal*, 4(2):115-120.

- Feng Y., Cui C., Zhao H., Gao X., Zhao M., Sun, W., 2013. Effect of Koji Fermentation on Generation of Volatile Compounds in Soy Sauce Production. *International Journal of Food Science and Technology*, 48: 609–619.
- Fiedler K., Schütz, E., Geh, S., 2001. Detection of Microbial Volatile Organic Compounds (MVOCs) Produced by Moulds on Various Materials. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, 204:111–121
- Fonseca G.G., Heinzle E., Wittmann C., Gombert A.K., 2008. The Yeast *Kluyveromyces marxianus* and Its Biotechnological Potential. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 79(3):339-354.
- Fonseca G.G., de Carvalho N.M.B., Gombert A.K., 2013. Growth of the Yeast *Kluyveromyces marxianus* CBS 6556 on Different Sugar Combinations as Sole Carbon and Energy Source. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 97:5055– 5067.
- Garavaglia J., Flores S., Pizzolato T., Peralba M., Ayub M., 2007. Bioconversion of L-Phenylalanine into 2-Phenylethanol by *Kluyveromyces marxianus* in Grape Must Cultures. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 23:1273–1279.
- Georgieva T.I., Ahring K., 2007. Potential of Agroindustrial Waste from Olive Oil Industry for Fuel Ethanol Production. *Biotechnology Journal*, 2(12):1547-1555.
- Gori K., Sorensen L.M., Petersen M.A., Jerpersen L., Arneborg N., 2012. *Debaryomyces hansenii* strains Differ in Their Production of Flavor Compounds in a Cheese-Surface Model. *Microbiology Open*, 1(2):161-18.
- Gounaris Y., 2010. Biotechnology for the Production of Essential Oils, flavours and Volatile Isolates. A Review. *Flavour and Fragrance Journal*, 25:367-386.
- Grover A., Yadav J.S., Biswas R., Pavan C.S.S., Mishra P., Bisaria V.S., Sundar D. 2012. Production of Monoterpenoids and Aroma Compounds from Cell Suspension Cultures of *Camellia sinesis*. *Plant Cell Tissue and Organ Culture*, 108:323-331.
- Gurkok, S., Cekmecelioglu D., Ogel, Z.B., 2011. Optimization of Culture Conditions for *Aspergillus sojae* Expressing an *Aspergillus fumigatus* α -Galactosidase. *Bioresource Technology*, 102:4925-4929.
- Güneşer O., Karagül-Yüceer, Y. 2010. Gıdalarda Aroma Maddelerinin Belirlenmesinde Gaz Kromatografisi-Olfaktometri (GCO) Tekniklerinin Kullanılması. *Gıda*, 35 (5): 371-378.
- Haffner T., Tressl R., 1996. Biosynthesis of (R)- γ -Decanolactone in the Yeast *Sporobolomyces Olorus*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44: 1218-1223.

- Harlander S., 1994. Biotechnology for the Production of Flavouring Materials, In: Reineccius G, Ed. *Source of Book of Flavors*, Aspen Publisher, Maryland, USA, p: 155-173.
- Hayaoglu A.A., Brechany E.Y., Deegan K.C., McSweeney P.H.L., 2008. Characterization of the Chemistry, Biochemistry and Volatile Profile of Kufli Cheese, a Mould-Ripened Variety. *LWT - Food Science and Technology*, 41(7):1323–1334.
- Hazelwood L.L., Daran J.M., van Maris A.J.A., Pronk J.T., Dickinson J.R., 2008. The Ehrlich Pathway for Fusel Alcohol Production: a Century of Research on *Saccharomyces cerevisiae* Metabolism. *Applied and Environmental Microbiology*, 74(8):2259-3920.
- Herent M.F, Collin S., 1998. Pyrazine and Thiazole Structural Properties and Their Influence on the Recovery of Such Derivatives in Aroma Extraction Procedures, *Journal Agricultural and Food Chemistry*, 46 (5): 1975-1990.
- Hong, J., Wang Y., Kumagai H., Tamaki H., 2007. Construction of Thermotolerant Yeast Expressing Thermostable Cellulase. *Journal of Biotechnology*, 130: 114–123.
- Hrazdina G. 2006. Aroma Production by Tissue Cultures. *Journal Agricultural and Food Chemistry*, 54(4): 1116–1123.
- Huang L.P., Jin B., Lant P., Zhou J., 2005. Simultaneous saccharification and fermentation of potato starch wastewater to lactic acid by *Rhizopus oryzae* and *Rhizopus arrhizus*. *Biochemical Engineering Journal*, 23(3):265-276.
- Jelen H., Majcher M., Ginja A., Kulogowski M. 2013. Determination of Compounds Responsible for Tempeh Aroma. *Food Chemistry*, 141:459-465.
- Jin B, Pinghe Y, Yihong M, Ling Z., 2005. Production of Lactic Acid and Fungal Biomass by *Rhizopus* Fungi from Food Processing Waste Streams. *Journal Industrial Microbiology and Biotechnology*, 32:678–686.
- Jurjevici Z., Rainsi G.C., Wilson D.M., Lewis W.J., 2008. Volatile Metabolites Associated with One Aflatoxigenic and One Nontoxigenic *Aspergillus flavus* Strain Grown on Two Different Substrates. *Phytopathologia Mediterranea*, 47: 266–271.
- Kalyani A., Prapulla S.G., Karanth N.G., 2000. Study on the Production of 6-Pentyl- α -Pyrone Using Two Methods of Fermentation. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 53: 610-612.
- Kancelista A., Tril U., Stempniewicz R., Piegza M., Szczech M., Witkowska D., 2013. Application of Lignocellulosic Waste Materials for the Production and stabilization of *Trichoderma* Biomass. *Polish Journal Environmental Studies*, 22 (4):1083-1090.
- Keszler A., Forgacs E., Kotai L., 2000. Separation and Identification of Volatile Components in the Fermentation Broth of *Trichoderma atroviride* by Solid-phase Extraction and

- Gas Chromatography-Mass Spectrometry. *Journal of Chromatography Science*, 38:421–424.
- Kim J.H., Ryu Y.W., Seo J.H., 1999. Analysis and Optimization of a Two-Substrate Fermentation for Xylitol Production Using *Candida tropicalis*. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 22: 181–186.
- Kim T.H., Shin J.H., Baek H.H., Lee H. J. 2001. Volatile Flavour compounds in Suspension Culture of *Agastache rugosa* Kuntze (Korean mint). *Journal of Science of Food and Agriculture*, 81:569-575.
- King A., Dickinson J.R. 2000. Biotransformation of Monoterpene Alcohols by *Saccharomyces cerevisiae*, *Torulaspora delbrueckii* and *Kluyveromyces lactis*. *Yeast*, 16:499-506.
- Krings U., Berger R.G. 1998. Biotechnological Production of Flavours and Fragrances. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 49: 1-8.
- Kubickova J., Grosch K.W. 1997. Evaluation of Potent Odorants of Camembert Cheese by Dilution and Concentration Techniques. *International Dairy Journal*, 7(1):65-70.
- Kuo C.H., Chen G.J., Chen C.I, Liu Y.C, Shieh C.J.,2014. Kinetics and Optimization of Lipase-Catalyzed Synthesis of Rose Fragrance 2-Phenyl Ethyl Acetate Through Transesterification. *Process Biochemistry*, 49:437-444.
- Kurita S., Kitagawa E., Kim C.H., Momose Y., Iwahashi H., 2002. Studies on the Antimicrobial Mechanisms of Capsaicin Using Yeast DNA Microarray. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry*, 66(3):532-6.
- Lalou S., Mantzouridou F., Paraskevopoulou A., Bugarski B., Levic S., Nedovic V., 2013. Bioflavour Production from Orange Peel Hydrolysate Using Immobilized *Saccharomyces cerevisiae*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 97(21):9397-9407.
- Lane M.M., Burke N., Karreman R., Wolfe K.H., O’Byrne C.P. Morrissey J.P., 2011. Physiological and Metabolic Diversity in the Yeast *Kluyveromyces marxianus*. *Antonie van Leeuwenhoek*, 100:507–519.
- Larroche C., Besson I., Gros J.B.,1999. High Pyrazine Production by *Bacillus subtilis* in Solid Substrate Fermentation on Ground Soybeans. *Process Biochemistry*, 34(6-7):667-64.
- Laufenberg G., Rosato P., Kunz B., 2004. Adding Value to Vegetable Waste: Oil Press Cakes as Substrates for Microbial Decalactone Production. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 106: 207-217.
- Laurence Lesage-Meessen, L.L., Lomascolo A., Bonnin E., Thibault J.F., Buleon A., Roller

- M., Asther M., Record E., Ceccaldi C.B., Asther M., 2002. A Biotechnological Process Involving Filamentous Fungi to Produce Natural Crystalline Vanillin from Maize Bran. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 102-103 (1-6):141-153.
- Leclercq-Perlat M.N., Corrieu G., Spinnler H.E., 2004. Comparison of Volatile Compounds Produced in model Cheese Medium Deacidified by *Debaryomyces hansenii* and *Kluveromyces marxianus*. *Journal of Dairy Science*, 87:1545-1550.
- Liu S.Q., Holland R., Crow V.L., 1998. Ethyl Butanoate Formation by Dairy Lactic Acid Bacteria. *International Dairy Journal*, 8: 651-657.
- Liu S.Q., Holland R., Crow V.L., 2003. Ester Synthesis in an Aqueous Environment by *Streptococcus thermophilus* and Other Dairy Lactic Acid Bacteria. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 63: 81–88.
- Lloyd S.W., Grimm, C.C., Klich, M.A., Beltz, S.B., 2005. Fungal Infections of Fresh-Cut Fruit Can be Detected by the Gas chromatography–Mass Spectrometric Identification of Microbial Volatile Organic Compounds. *Journal of Food Protection*, 68:1211–1216.
- Lomascolo A., Lesage-Meessen L., Haon M., Navarro D., Antona C., Faulds C., Marcel A., 2001. Evaluation of the potential of *Aspergillus niger* Species for the Bioconversion of L-phenylalanine into 2-phenylethanol. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 17(1):99-102.
- Lomascolo A., Stentelaire C., Asther M., Lesage-Meessen L., 1999. Basidiomycetes as New Biotechnological Tools to Generate Natural Aromatics Flavours for the Food Industry. *Trends of Biotechnology*, 17:282-289.
- Longo M.A., Sanroman M.A., 2006. Production of Food Aroma Compounds: Microbial and Enzymatic Methodologies. *Food Technology and Biotechnology*, 44 (3): 335–353.
- Löser C., Urit, T., Nahl F., Bley T., 2011. Screening of *Kluveromyces* Strains for the Production of Ethyl Acetate: Design and Evaluation of a Cultivation System. *Engineering in Life Science*, 11(4): 369–381.
- Mantzouridou F., Paraskevopoulou, A., 2013. Volatile Bio-ester Production from Orange Pulp-Containing Medium Using *Saccharomyces cerevisiae*. *Food Bioprocess and Technology*, 6, 3326-3334.
- Manuel Salgado J., Gonzalez-Barrelro C., Rodriguez-Solana R., Simal-Gandara J., Domingez J. M., Cortes S., 2012. Study of the Volatile Compounds Produced by *Debaryomyces hansenii* NRRL Y-7426 during the Fermentation of Detoxified Concentrated

- Distilled Grape Marc Hemicellulosic Hydrolysates. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 28: 3123-3134.
- Marek Nemcovic, M., Jakubikov, L., Viden I., Farkas, V., 2008. Induction of Conidiation by Endogenous Volatile Compounds in *Trichoderma* spp. *FEMS Microbiol Letters*, 284:231–236.
- Marostica-Junior M., Mota, N.O., Baudet N., Pastore G. M., 2007. Fungal Nitrotransformation of Monoterpenes Found in Agro-Industrial Residues from Orange and Pulp Industries into Aroma compounds: Screening using Solid Phase Microextraction. *Food Science and Biotechnology*, 16 (1): 37-42.
- Marques T., Baldo C., Borsato D., Buzato J.B., Celligoi M.A.P.C., 2014. Utilization of Dairy Effluent as Alternative Fermentation Medium for Microbial Lipase Production. *Romanian Biotechnological Letters*, 19(1):9042-9050.
- Mason A.B., Dufour J.P., 2000. Alcohol Acetyltransferases and the Significance of Ester Synthesis in Yeast. *Yeast*, 16:1287-1298.
- Mdaini N., Gargouri M., Hammami M., Monser L., Moktar H., 2006. Production of Natural Fruity Aroma by *Geotrichum candidum*, *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 128: 227-235.
- Medeiros A.B.P., Pandey A., Christen P., Fontoura P.S.G, Freitas R.J.S., Soccol C.R., 2000. Optimization of the Production of Aroma Compounds by *Kluyveromyces marxianus* In Solid-State Fermentation Using Factorial Design and Response Surface Methodology, *Biochemical Engineering Journal*, 6: 33–39.
- Medeiros A.B.P., Pandey A., Christen P., Fontoura P.S.G, Freitas R.J.S., Soccol C.R., 2001. Aroma Compounds Produced by *Kluyveromyces marxianus* in Solid State Fermentation on A Packed Bed Column Bioreactor. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 17: 767–77.
- Medeiros A.B.P, Christen P., Roussos S., Gern C.J., Soccol C.R., 2003. Coffee Residues As Substrates for Aroma Production by *Ceratocystis fimbriata* in Solid State Fermentation. *Brazilian Journal of Microbiology*, 34:245-248.
- Meilgaard M., Civille G.V., Carr B.T., 1999. *Sensory Evaluation Techniques*, CRC Pres, Inc. Boca Raton, FL, p. 448.
- Mendes-Ferreira A., Barbosa C., Falco V., Leao C., Mendes-Faia A., 2009. Hydrogen sulphide and Other Aroma Compounds Production by Wine Strains of *Saccharomyces cerevisiae* in Synthetic Media with Different Nitrogen Concentrations. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 36:571-583.

- Menegatti de Oliveira S.M., Gomes S.D., Sene L., Coelho M.S.R., Barana A.C., Cereda M.P., Christ D., Piechontcoski J., 2013. Production of 2-Phenylethanol by *Geotrichum fragrans*, *Saccharomyces cerevisiae* and *Kluyveromyces marxianus* in Cassava Wastewater. *Journal of Food, Agriculture and Environment*, 11(2):158-163.
- Ming Lo C., Zhang Q., Callow N.V., Ju L.K., 2010. Cellulase production by continuous culture of *Trichoderma reesei* Rut 30 using Acid Hydrolysate Prepared to Retain More Oligosaccharides for Induction. *Bioresource Technology*, 101(2):717-723.
- Minitab, 2010. Minitab Version 16.1.0. Minitab Inc., United Kingdom.
- Moradi H., Asadollahi M.A., Nahvi I., 2013. Improved γ -decalactone Production from Castor Oil by Fed-Batch Cultivation of *Yarrowia lipolytica*. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 2(1):64–68.
- Morath S. U., Hung R., Bennett J.W., 2012. Fungal Volatile Organic Compounds: A Review with Emphasis on Their Biotechnological Potential. *Fungal Biology Reviews*, 26:73-83.
- Muthuvelayudham R., Viruthagiri T., 2006. Fermentative Production and Kinetics of Cellulose Protein on *Trichoderma reesei* Using Sugarcane Bagasse and Rice Straw. *African Journal of Biotechnology*, 5 (20):1873-1881.
- Naranong N., Poocharoen D., 2001. Production of L-Lactic Acid from Raw Cassava Starch by *Rhizopus oryzae* NRRL 395. *Kasetsart Journal: Natural Science*, 35(2):164 – 170.
- Nas S., Gökalp H.Y., Ünsal M., 2001. *Bitkisel Yağ Teknolojisi*, Pamukkale Üniversitesi, Mühendislik-Fakültesi, Ders Kitapları Yayın no: 005 Denizli. s: 329.
- nee’Nigam P., Nulan G., Anthwal A., 2009. Pre-treatment of Agro-Industrial Residues, In: Singh nee’Nigam, P., Pandey,A. Eds., *Biotechnology for Agro-Industrial Residues Utilisation*. A. Springer Science +Business Media, p.105-127.
- Neto R.S., Pastore G.M., Macedo G.A., 2004. Biocatalysis and Biotransformation Producing γ -Decalactone, *Journal of Food Science*, 69: 7, C677-690.
- Nissen P., Nielsen D., Arneborg N., 2003. Viable *Saccharomyces cerevisiae* Cells at High Concentrations Cause Early Growth Arrest of Non-*Saccharomyces* Yeasts in Mixed Cultures by a Cell–Cell Contact-Mediated Mechanism. *Yeast*, 20:331-341.
- NIST/EPA/NIH mass spectral library (NIST 08)., 2008. National Institute of Standards and Technology Standard Reference Data Program, Gaithersburg, MD 20899.
- Oh D.K., Kim S.Y., Increase of Xylitol Yield by Feeding Xylose and Glucose in *Candida tropicalis*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 50: 419-425.

- Ozturk B., Cekmecelioglu D., Ogel Z.B., 2010. Optimal Conditions for Enhanced β -mannanase Production by Recombinant *Aspergillus sojae*. *Journal of Molecular Catalysis B:Enzymatic*, 64:135-139.
- Pandey A., Soccol C.R., Mitchell D., 2000. New Developments in Solid State Fermentation: I-Bioprocesses and Products. *Process Biochemistry*, 35: 1153-1169.
- Park J., Rodriguez-Moya M., Li M., Pichersky E., Yiu San K., Gonzalez R., 2012. Synthesis of Methyl Ketones by Metabolically Engineered *Escherichia coli*. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*. 39:1703-1712.
- Pawliszyn, J., 2012. Theory of Solid Phase Microextraction. In: Pawliszyn J., Ed. *Handbook of Solid Phase Microextraction*. Waltham, Elsevier Inc, MA, USA, p.13-57.
- Pinheiro R., Belo I., Mota M., 2003. Growth and β -Galaktosidase Activity in Cultures of *Kluyveromyces marxianus* Under Increased Air Pressure. *Letters in Applied Microbiology*, 37:438–442.
- Pinto M.M.M., 2009. Carotenoid Breakdown Products the—Norizoprenoids—in Wine Aroma, *Archives Biochemistry and Biophysics*, 483: 236–245.
- Plata C., Millan Mauricio, J.C. 2003. Formation of ethyl Acetate and Isoamyl Acetate by Various Species of Wine Yeast. *Food Microbiology*, 20(2):217-224.
- Puri M., Banerjee A., Banerjee U.C., 2005. Optimization of Process Parameters for the Production of Naringinase by *Aspergillus niger* MTCC 1344. *Process Biochemistry*, 40(1):195-201.
- Rajoka M.I., 2007. Kinetics Parameters and Thermodynamic Values of β - Xylosidase Production by *Kluyveromyces marxianus*. *Bioresource Technology*, 98:2212-2219.
- Ray B., 2004. Microbial Growth Characteristics. In: Ray B., Ed., *Fundamental Food Microbiology*. CRC Press, Boca Raton, Florida, pp 57-67.
- Rech R., Cassini C.F., Secchi A., Ayub M., 1999. Utilizatiton of Protein-Hydrolyzed Cheese Whey for Production of β -Galactosidase by *Kluyveromyces marxianus*. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 23:91-96.
- Reineccius G., 1994. The Flavor Chemistry, In: Reineccius, G., Ed, *Source Book of Flavors*, Aspen Publisher, Maryland, ABD, p: 61-115.
- Reineccius G., 2006. *Flavor Chemistry and Technology*. CRC Press, Taylor & Francis Group., Boca Raton, FL 33487-27, ABD
- Rossi S.C., Vandenberghe L.P.S., Pereira B.M.P., Gago F.D., Rizzolo J.A., Pandey A., Soccol C.R., Medeiros A.B.P., 2009. Improving Fruity Aroma Production by Fungi in SSF Using Citric Pulp. *Food Research International*, 42: 484–486.

- Quilter M.G., Hurley J.C., Lynch F.J., Murphy M.G., 2003. The Production of Isoamyl alcohol by *Saccharomyces cerevisiae*. *Journal of The Institute of Brewing*, 109:34-40.
- Sampaio F.C., Faveri D. Mantovani H.C., Passos F.M.L., Parego P., Converti A. 2006. Use of Response Surface Methodology for optimization of Xylitol Production by the Yeast strain *Debaryomyces hansenii* UFV-170. *Journal of Food Engineering*, 76 (3):376-386.
- Sanchez L., Seila R.L., Christen P., Revah S., 2002. Effect of Leucine on Aroma Volatiles Production from *Ceratocystis fimbriata* Grown in Liquid Culture. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 18 (3): 231-238.
- Sanchez L., Sanchez F., Christen P., Revah S., 2004. Effects of Water Activity, Leucine and Thiamine on Production of Aroma Compounds by *Ceratocystis fimbriata*. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 20(2):151-160.
- Sanchez L.D.T., Sanchez S., Ortiz M.A., Villanueva S., Lugo-Cervantes E., 2006. Generation of Aroma Compounds from *Ditaxis heterantha* by *Saccharomyces cerevisiae*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 72: 155–162. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 24:709–716
- Sanchez S., Bravao V., Garcia J.F., Cruz N., Cuevas M., 2008. Fermentation of D-glucose and D-xylose Mixtures by *Candida tropicalis* NBRC 0618 for Xylitol Production. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 24(5): 709-716.
- Sardjono, Zhu Y., Knol, W., 1998. Comparison of Fermentation Profiles between Lupine and Soybean by *Aspergillus oryzae* and *Aspergillus sojae* in Solid-State Culture Systems. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46:3376–3380.
- Schnürer J., Olsson J., Börjesson T., 1999. Fungal Volatiles as Indicators of Food and Feeds Spoilage. *Fungal Genetics and Biology*, 27(2-3):209-217.
- Schrader J., Etschmann M.M.W., Sell D., Hilmer J. M., Rabenhorst J., 2004. Applied Biocatalysis for the Synthesis of Natural Flavour Compounds—Current Industrial Processes and Future Prospects. *Biotechnology Letters*, 26(6): 463-72.
- Scragg, A.H., 2007. The Production of Flavours by Plant Cell Cultures. In Berger, R.G. Ed. *Flavours and Fragrances*, Springer, Berlin, p.599-614.
- Sheskin D.J., 2004. *Parametric and Nonparametric Statistical Procedures*. Chapman & Hall/CRC, New York, USA.
- Simmonds J., Robinson G.K., 1998. Formation of Benzaldehyde by *Pseudomonas putida* ATCC 12633. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 50:353-358.

- Singh O.V., Kapur N., Singh R.P., 2005. Evaluation of Agro-food by Products for Gluconic Acid Production by *Aspergillus niger* ORS-4.410. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 21:519-524.
- Soares M., Christen P., Pandey A., Soccol C.R., 2000. Fruity Flavour Production by *Ceratocystis fimbriata* Grown on Coffee Husk in Solid-State Fermentation. *Process Biochemistry*, 35: 857–861.
- Soccol C., Leon J.R., Marin B., Roussos S., Raimbult M., 1993. Growth Kinetics of *Rhizopus arrhizus* in Solid State Fermentation of Treated Cassava. *Biotechnology Techniques*, 7(8):563-568.
- SPSS, 2011. SPSS Professional Statistics 20.0. Chicago, IL: SPSS Inc.
- Stentelaire C., Lesage-Meessen L., Oddou J., Bernard O., Bastin G., Ceccaldi B.C., Asther M., 2000. Design of a Fungal Bioprocess for Vanillin Production from Vanillic Acid at Scalable Level by *Pycnoporus cinnabarinus*. *Journal of Bioscience nad. Bioengineering*, 89:223-230.
- Stoppacher N., Kluger B., Zeilinger S., Krska R., Schuhmacher, R., 2010. Identification and Profiling of Volatile Metabolites of the Biocontrol Fungus *Trichoderma atroviride* by HS-SPME-GS-MS. *Journal of Microbiological Methods*, 81:187-193.
- Tafesh A., Najami N., Jadoun J., Halahlih F., Riepl H., Azaizeh H. 2011. Synergistic Antibacterial Effects of Polyphenolic Compounds from Olive Mill Wastewater. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. Article ID 431021, pp:1-9. Web sitesi: <http://www.hindawi.com/journals/ecam/2011/431021/> Erişim tarihi:08/05/2014.
- Temino D.M.R.D., Hartmeier W., Ansorge-Schumacher M.B., 2005. Entrapment of the Alcohol Dehydrogenase from *Lactobacillus kefir* in Polyvinyl Alcohol for the Synthesis of Chiral Hydrophobic Alcohols in Organic Solvents. *Enzyme and Microbial Technology*, 36(1):3-9.
- Temiz A., 2008. *Genel Mikrobiyoloji Uygulama Teknikleri*. Hatiboğlu Yayınevi, Ankara, s: 291.
- Thibault J.F., Asther M., Ceccaldi C.B., Couteau D., Delattre M, Duarte J.C., Faulds C., Hansen H.P.H., Kroon P., Meessen L.L., Micard V., Catherine M.G.C., 1998. Fungal Bioconversion of Agricultural By-Products to Vanillin. *Lebensm.-Wiss. u.-Technol.*, 31: 530-536.
- Thomas A. F., Bessiere Y. 1989. Limonene. *Natural Product Reports*, 6: 291-309.

- Thongchul N., Navankasattusas S., Yang S.T., 2010. Production of Lactic Acid and Ethanol by *Rhizopus oryzae* Integrated with Cassava Pulp Hydrolysis. *Bioprocess and Biosystem Engineering*, 33: 407-416.
- Tokatlı F., Tari, C., Unluturk S.M., Baysal N.G., 2009. Modeling of Polygalacturonase Enzyme Activity and Biomass Production By *Aspergillus Sojæ* ATCC 20235. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 36:1139–1148
- Toniazzo G., Oliveira D., Dariva C., Oestreicher E.G., Antues O.A.C., 2005. Biotransformation of (-) β -pinene by *Aspergillus niger* ATCC 9642. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 123 (1-3):837-844.
- Torres E.F., Lopez, J.C., Rivero M.G., Rojas M.G., 1997. Kinetics of Growth of *Aspergillus niger* during Submerged, Agar Surface and Solid State Fermentations. *Process Biochemistry*, 33:103-107.
- Tretzel J., Marx S., 2007. Biotechnological Processes. In: *Flavourings: Production, Composition, Applications, Regulations.*, Ziegler H., Ed., Wiley-VCH Verlag GmbH & Co., Weinheim, Almany, p: 120-131.
- Tunail N., 2009. Mikroorganizmaların Beslenmeleri ve Gelişmeleri. In: Tunail N., ed., *Mikrobiyoloji*. Danone Enstitüsü Derneği, Pelin Ofset, Ankara sy.151-169.
- Urit T, Loser C., Wunderlich M, Bley T., 2011. Formation of Ethyl Acetate by *Kluyveromyces marxianus* on Whey: Studies of the Ester Stripping. *Bioprocess and Biosystem Engineering*, 34:547–559.
- Valenkar H.R. Heble, M.R., 2003. Biotransformation of L-L-citronellal to Citronellol by Free and Immobilized *Rhodotorula minuta*. *Electronic Journal of Biotechnology*, 6 (2),90-103.
- Vandamme E.J., 2009. Agro-Industrial Residue Utilization for Industrial Biotechnology Products. In: Singh nee'Nigam, P., Pandey,A. Eds., *Biotechnology for Agro-Industrial Residues Utilisation*. A. Springer Science +Business Media, p. 3-13.
- Vandamme E.J., Soetaer W., 2002. Bioflavours and Fragrances via Fermentation and Biocatalysis, *Journal Chemical Technology and Biotechnology*, 77:1323–1332.
- Van den Dool H., Kratz P.D. 1963. A Generalization of the Retention Index System Including Linear Temperature Programmed Gas Liquid Partion Chromatography. *Journal of Chromatography A*, 11: 463-471.
- Visser W., Scheffers W.A., Batenburg-van der Vegte W.H., van Dijken J.P., 1990. Oxygen Requirements of Yeasts. *Applied and Environmental Microbiology*,56(12):3785-3792.

- Vlyssides A.G., Loizides M., Karlis P.K., 2004. Integrated Strategic Approach for Reusing Olive oil Extraction By-Products. *Journal of Cleaner Production*, 12:603-611.
- Wang C., Yoon, S.H., Shah, A.A., Chung, Y.R., Kim, J., Choi, E.S., Keasling, J.D., Kim, S.W., 2010. Farnesol Production from *Escherichia coli* by Harnessing the Exogenous Mevalonate Pathway. *Biotechnology and Bioengineering*, 107:421-429.
- Wiley Registry of Mass Spectral Data, 2005. (Fred. W. McLafferty) ISBN: 978-0471473251, 7th Edition (CD-ROM).
- Wilkins M.R., Surawati L., Maness N.O., Chrz D., 2007. Ethanol Production by *Saccharomyces cerevisiae* and *Kluyveromyces marxianus* in the Presence of Orange-peel oil. *World Journal Microbiology and Biotechnology*, 23:1161–1168.
- Wnuk S., Kinastowski S., Kaminski E. 1983. Synthesis and Analysis of 1-octen-3-ol, the Main Flavour Component of Mushrooms. *Nahrung*, 27: 479-486.
- Wu Y.F., Cadwallader K.R., 2002. Characterization of the Aroma of a Meatlike Process Flavoring from Soybean-Based Enzyme-Hydrolyzed Vegetable Protein. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50: 2900-2907.
- Xu P., Hua D., Ma, C., 2007. Microbial Transformation of Propenylbenzenes for Natural Flavour Production. *Trends in Biotechnology*, 25: 571-576.
- Yamada M., Okada Y., Yoshida T., Nagasawa T, 2007. Biotransformation of Isoeugenol to Vanillin by *Pseudomonas putida* IE27 cells. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 73(5):1025-1030.
- Yamauchi H., Akita O., Obata T., Amachi T., Hara S., 1989. Production and Application of a Fruity Odor in a Solid-state Culture of *Neurospora* sp. Using Pregelatinized Polished Rice. *Agricultural and Biological Chemistry*, 53: 2881-2886.
- Yanfang Z., Wenyi, T. 2009. Flavor and Taste Compounds Analysis in Chinese Solid Fermented Soy Sauce. *African Journal of Biotechnology*, 8(4):673-681.
- Yeşiladalı S.K., Çakar P.Z., Tamerler C., 2010. Gıda Endüstrisinde Fermentasyon Teknolojileri. In: *Gıda Biyoteknolojisi*, Necla A Ed., Nobel Yayın Dağıtım Tic. Ltd.Şti. Ankara, s 71-101.
- Yilmaztekin M., Erten H., Cabaroğlu T. 2008. Production of Isoamyl Acetate from Sugar Beet Molasses by *Williopsis saturnus* var. *saturnus*. *Journal of the Institute of Brewing*, 114 (1):34-38.
- Yilmaztekin M., Erten H., Cabaroğlu T., 2009. Enhanced Production of Isoamyl Acetate from Beet Molasses with Addition of Fusel Oil by *Williopsis saturnus* var. *saturnus*. *Food Chemistry*, 112: 290–294.

- Yılmaztekin, M., 2009. Biyoteknolojik yoldan İzöamil Asetat ve Etil asetat Aromalarının Üretimi Üzerine Araştırmalar. Doktora tezi, Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana.
- Zawadi A.C., du Preez J.C., Christopher L., 2008. Effect of Cultivation pH and Agitation Rate on Growth and Xylanase Production by *Aspergillus oryzae* in Spent Sulphite Liquor. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 35:587–594
- Zheng L., Zheng P., Sun Z., Bai Y., Wang J., Guo X., 2007. Production of Vanillin from Waste Residue of Rice Bran oil by *Aspergillus niger* and *Pycnoporus cinnabarinus*. *Bioresource Technology*, 98(5):1115:1119.
- Ziegel H., 2007. A Dynamic Business With Taste-The Flavour Industry. In: Ziegler, H., Ed. *Flavourings: Production, Composition, Applications, Regulations*, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co., Weinheim, Almanya, p:1-15.
- Zorn H., Langhoff S., Scheibner M., Beger R.G., 2003. Cleavage of β,β -Carotene to Flavor Compounds by Fungi. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 62(4):331-336.
- Zuoxing Z., Shetty, K. 1998. Cranberry Processing Waste for Solid State Fungal Inoculant Production. *Process Biochemistry*, 33(3):232-329.

EKLER

EK Çizelge 1. Duysal Değerlendirmelerde Kullanılan Fermente Tarımsal Atıklara ait Değerlendirme Formları

FERMENTE PİRİNADA DUYUSAL DEĞERLENDİRME FORMU

İsim Tarih

Size verilen fermente pirina örneklerini koklayarak hissettiğiniz aroma yoğunluğunu yazınız.

Aromatikler	Pirina solüsyonu			
	391	185	352	928
Ham zeytin				
Islak bulgur				
Yağimsı				
Odun/bitkisel				
Tatlı/ransit				
Toprak				
Islak kirli havlu				
Fermente				
Tatlı aromatik				
Diğer				

FERMENTE DOMATES KÜSPESİNDE DEĞERLENDİRME FORMU

İsim Tarih

Size verilen fermente domates küspesi örneklerini koklayarak hissettiğiniz aroma yoğunluğunu yazınız.

Aromatikler	Domates küspesi solüsyonu			
	321	458	698	789
Pişmiş domates				
Yeşil çimen				
Toprak				
Tatlı aromatik				
Metalik				
Tarhana gibi				
Depo/küf				
Ransit peynir				
Fındığımsı				

FERMENTE BİBER KÜSPESİNDE DEĞERLENDİRME FORMU

İsim Tarih

Size verilen fermente biber küspesi örneklerini koklayarak hissettiğiniz aroma yoğunluğunu yazınız.

Aromatik	Biber küspesi solüsyonu			
	548	655	321	475
Taze biber				
Bitkisel				
Fermente sebze				
Pişmiş				
Odun				
Tatlı Aromatik				
Depo/küf				
Pişmiş tatlı kabak				
Çiçek/gül/kolonya				

EK Şekil 1. Duyusal Analizlerde Kullanılan Değerlendirme Formu ve Referanslar

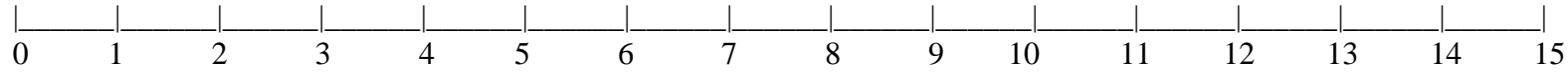
Ölçülendirme Çalışmaları

Önünüzde bulunan kodlanmış 'yoğunluğu bilinmeyen' çözeltileri koklayarak yoğunluklarını skala üzerinde işaretleyiniz. Referans çözeltileri koklamanız skala üzerindeki değerleri hatırlamanıza yardımcı olacaktır.

Aromatikler

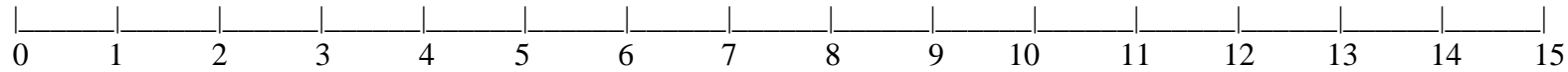
1.Ham zeytin

Referans = zeytin ezmesi



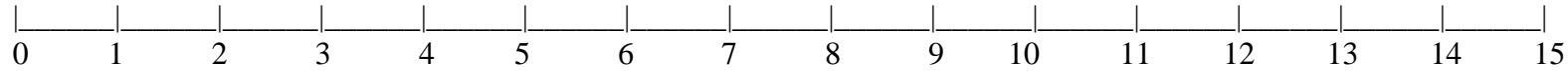
2. Islak bulgur/ıslak kepek

Referans = Sıcak su ile ıslatılmış ve 10 dk. beklemiş bulgur veya kepek



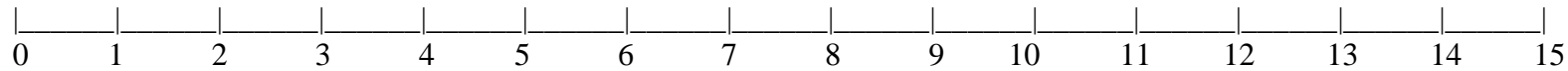
3. Yağimsı

Referans = Rafine sıvı yağ



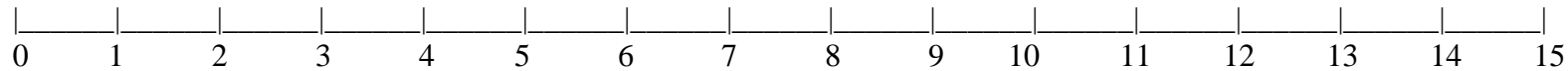
4. Odun/bitkisel/talaş

Referans: yeşil bitki, talaş parçaları



5. Ransit/ tatlı(ransit peynir)

Referans = bütirik asit



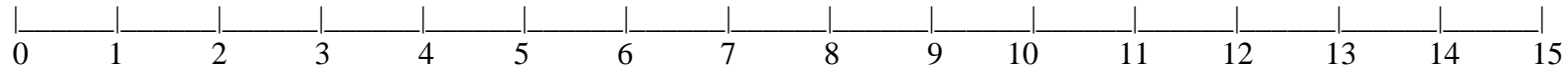
6. Toprak

Referans = Nemli toprak



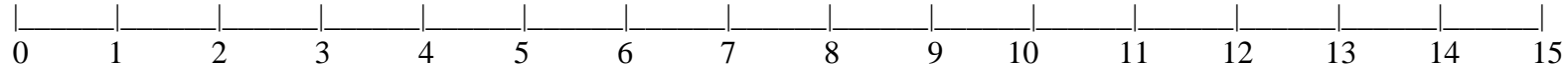
7. Islak kirli havlu

Referans = ıslak kirli havlu



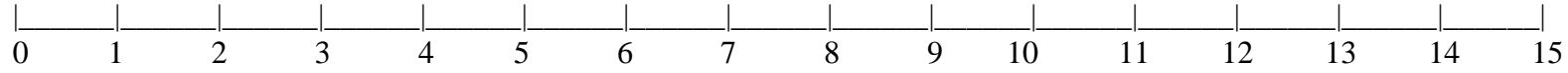
8. Fermente/Fermente sebze

Referans = Fermente turşu



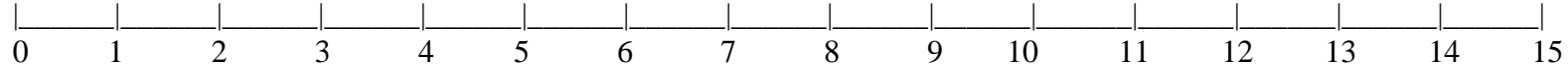
9. Tatlı aromatik

Referans = Bal, vanilin



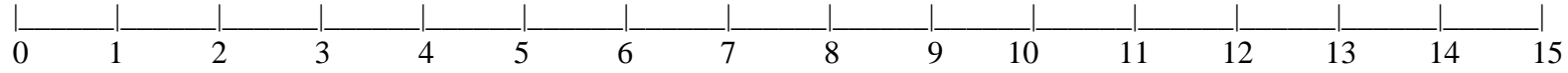
10. Pişmiş domates

Referans = Haşlanmış domates



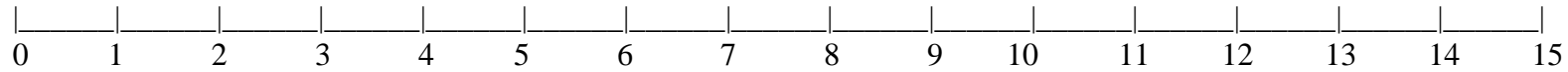
11. Yeşil/çimen

Referans = Hekzenal



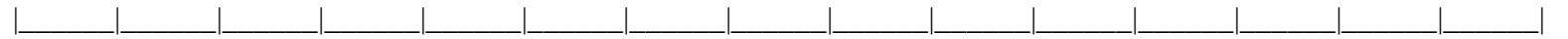
12. Metalik

Referans = 1-metil-3-oktan



13. Tarhana

Referans: ıslatılmış tarhana



III

0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15

14. Depo/küf

Referans = nemli kirli depo

0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15

15. Fındığımsı

Referans = çiğ fındık

0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15

16. Biber

Referans: taze kırmızı biber

0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15

17. Tatlı kabak

Referans = tatlı kabak

0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15

18. gül/çiçek/kolonya

Referans = fenil etil alkol

0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15

19. Cila

Referans: Oje

0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15

20. Hamur

Referans = ıslatılmış un

0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15

21. Haşlanmış mısır

Referans = konserve mısır

0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15

0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15

22.Ransit fındık

Referans: beklemiş acılaştırılmış fındık içi



23. Islak karton

Referans = ıslatılmış ve suda beklemiş karton parçaları



24.Tahıl/ambar

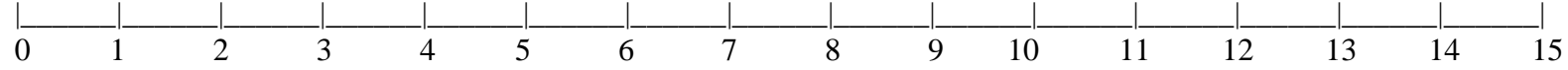
Referans = tane buğday, ambar kokusu



△

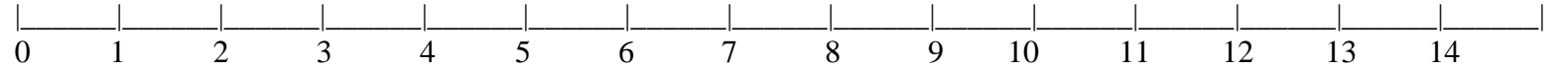
25. Buğday lapası

Referans = Haşlanmış buğday ezmesi



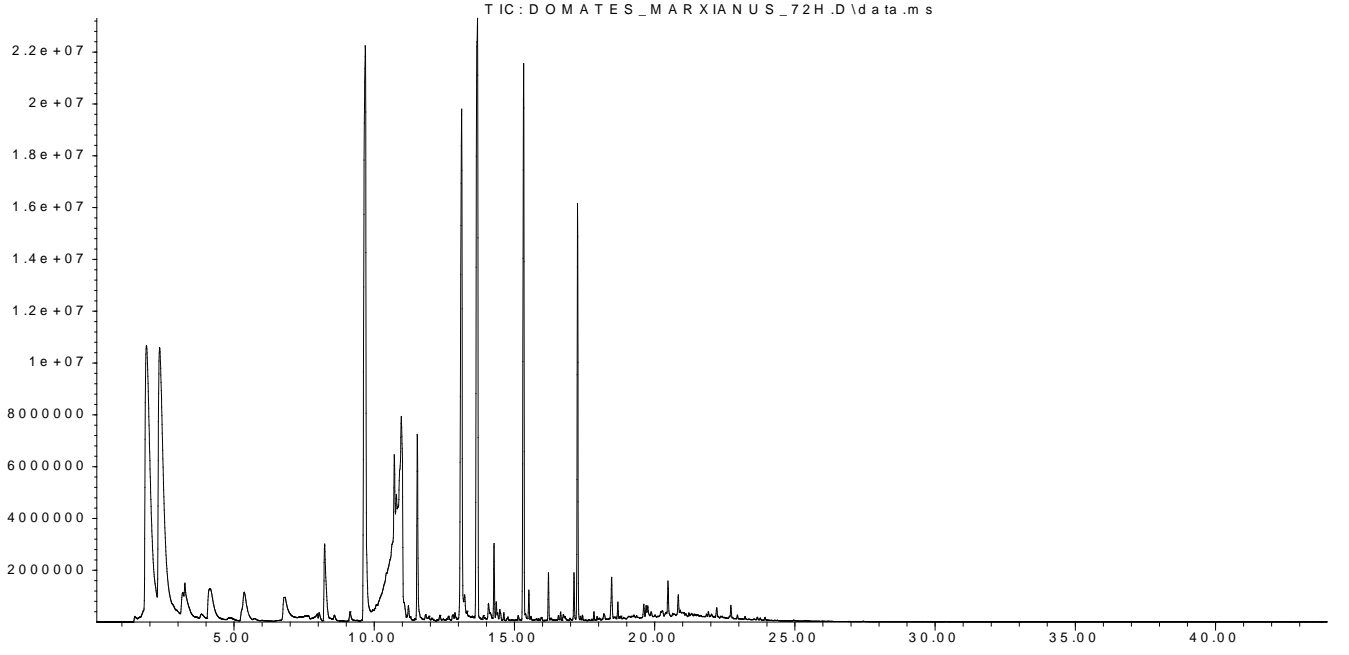
26. Fermente tahıl

Referans = Fermente olmuş tahıl taneleri



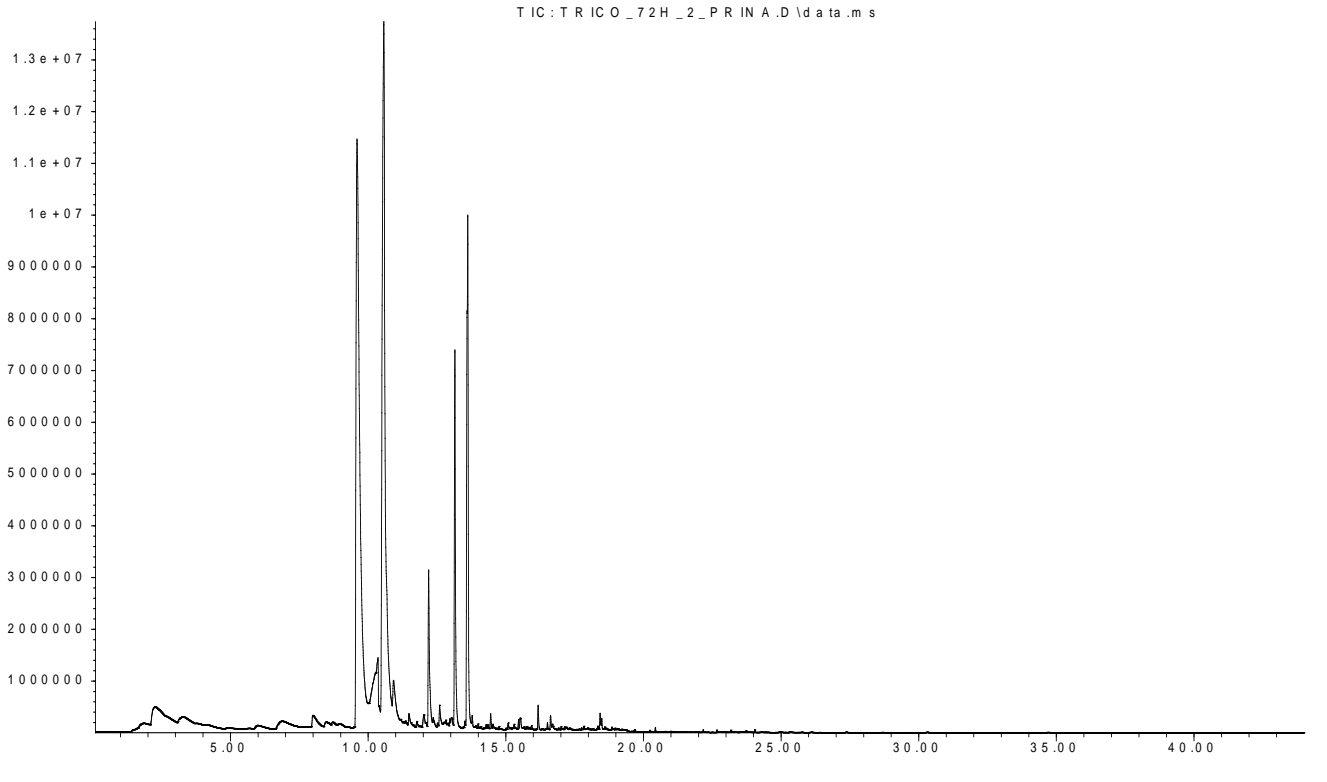
EK Şekil 2. Fermente tarımsal atıklara ait örnek GC-MS kromatogramları

Abundance



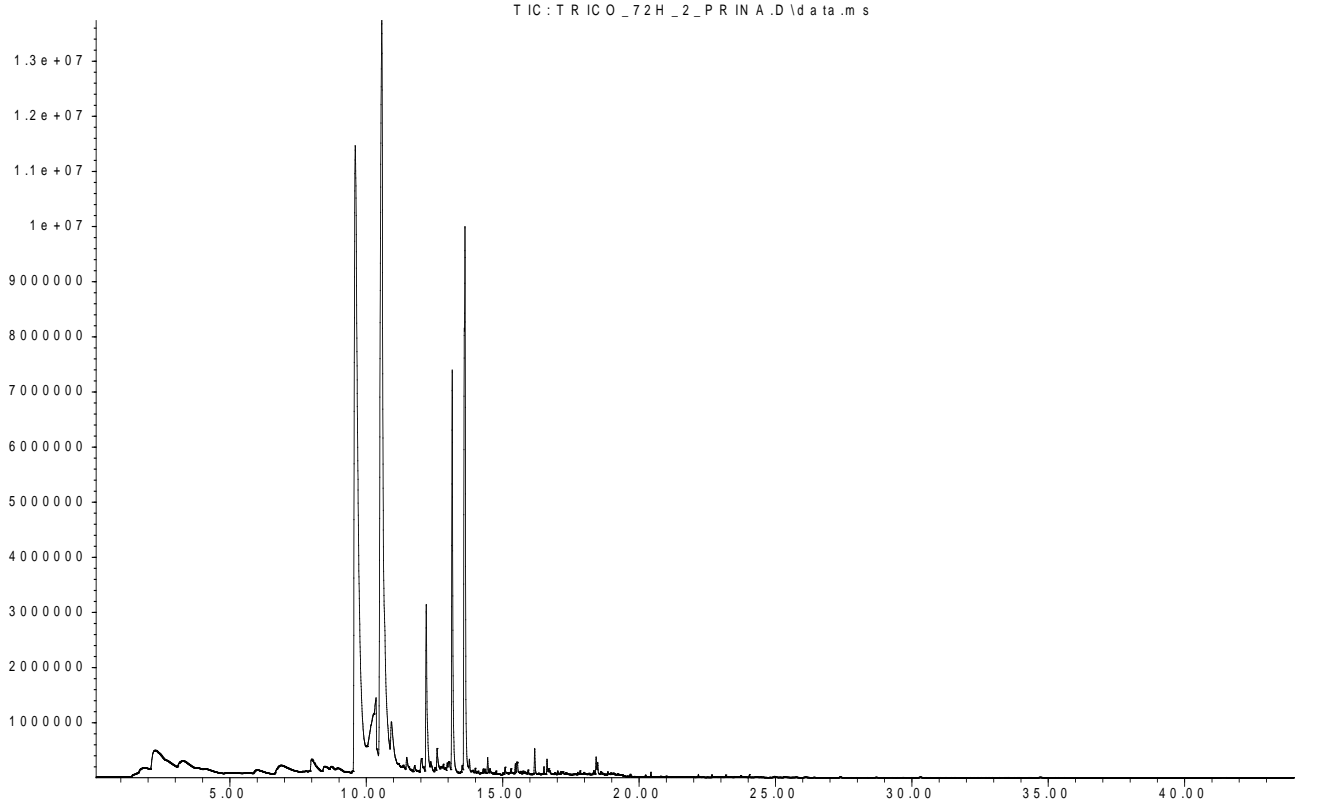
Ek Şekil 2.1. *K. marxianus* ile fermente edilmiş domates küspesine ait örnek GC-MS kromatogramı

Abundance

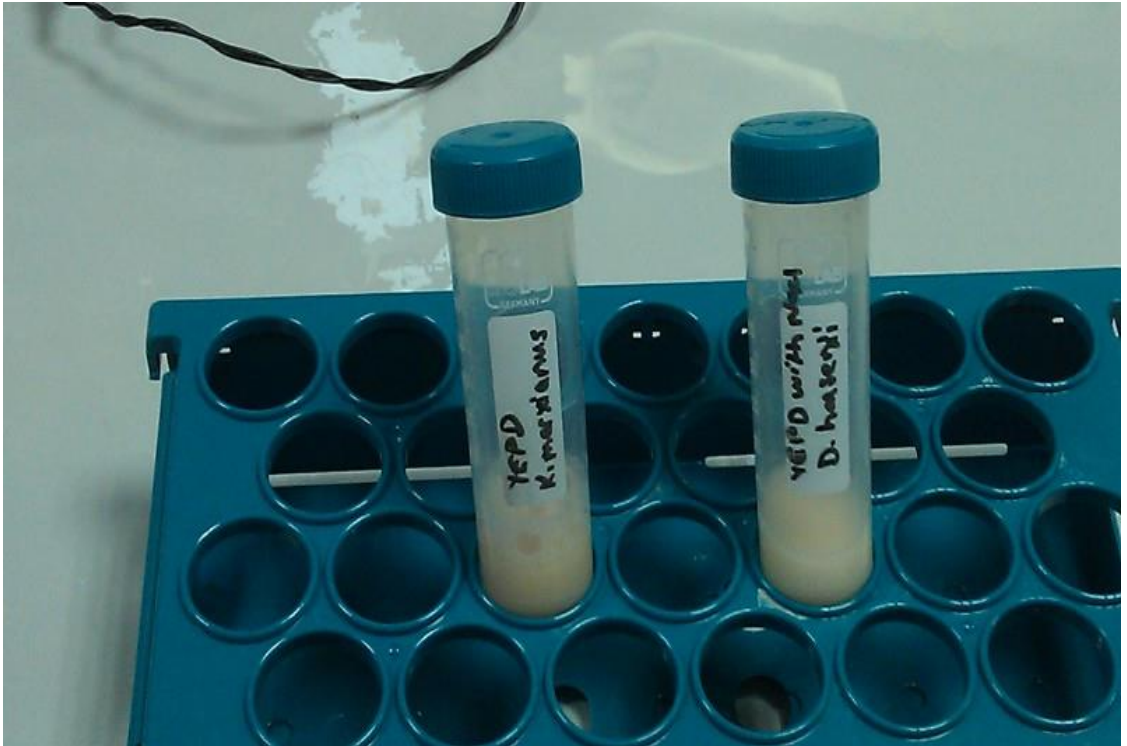


Ek Şekil 2.2. *D. hansenii* ile fermente edilmiş biber küspesine ait örnek GC-MS kromatogramı

Abundance



Ek Şekil 2.3. *T. atroviride* ile fermente edilmiş pirinaya ait örnek GC-MS kromatogramı



Ek şekil 2.4. *K. marxianus* ve *D. hansenii* ye ait hücre solüsyonları



Ek Şekil 2.5. *T. atroviride*'nin hücre solüsyonunun hazırlanması için agarda geliştirilmesi



Ek Şekil 2.6. Erlen düzeyinde biber küspesinde fermentasyon denemeleri



Ek Şekil 2.7. Biyoreaktör dözeyinde pirinaya ait fermentasyon denemeleri



Ek Şekil 2.8. Çalışmada yürütölen mikrobiyal ekimlere ait önek bir resim



Ek Şekil 2.9. Fermente tarımsal atıklardan aroma ekstraksiyonu iÇin kullanılan SPME fiber ve 40 mL vial

ÖZGEÇMİŞ



Onur GÜNEŞER

1. Kişisel Bilgiler

Doğum tarihi: 19 Temmuz 1983

Doğum yeri: İstanbul, Türkiye

Adres: Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi (ÇOMU), Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Terzioğlu Kampüsü, 17020, Çanakkale-Türkiye

Telefon & Faks: +90 555 876 40 73, + 90 286 218 00 18/ 2172, Fax: +90 286 218 05 41

E-posta: onurguneser@comu.edu.tr, onurguneser@hotmail.com

2. Eğitim

2009-2014Doktora: Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi (ÇOMU)
Gıda Mühendisliği Bölümü,

Doktora Tezi: Tarımsal Atıklar Kullanılarak Biyoaroma Üretimi ve Optimizasyonu (TÜBİTAK COST)

2005-2009 Yüksek Lisans : Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi (ÇOMU)
Gıda Mühendisliği Bölümü,

Yüksek Lisans Tezi: Farklı Gıda Katkı Maddeleri Kullanımının Tahin Helvası Emulsiyon Stabilitesi ve Kalitesine Olan Etkilerinin Belirlenmesi Üzerine Bir Çalışma (ÇOMÜ BAP)

2001-2005Lisans: Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi (ÇOMU)
Gıda Mühendisliği Bölümü,

1997-2001 Lise :Yedikule Süper Lisesi

3. İş Bilgileri

2006-devam ediyor Araştırma Görevlisi
Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi (ÇOMU)
, Gıda Mühendisliği Bölümü

Asiste Ettiği Laboratuvar Uygulamaları:

- Gıda Kalite Kontrol (2006-2009)
- Yağ Teknolojisi (2006-2009)
- **Enstrümantal Analiz (2006-2014)**

- Süt Ürünleri Teknolojisi (2007-2014)
- Süt Teknolojisi (2008-2014)
- Gıdaların Duyusal Değerlendirmesi (2008-2014)

Şubat-Ekim-2006 Sorumlu Gıda Mühendisi

ASSOS Pastanecilik, Ltd., Çanakkale

Sorumluluklar:

- Ürün akış diyagramları ve Haftalık Üretim Düzenlenmesi
- Şirket içinde gıda hijyen ve kontrollerinin yapılması
- Şirketin ürün satış ve pazarlamasının düzenlenmesi

4. Bilgisayar ve Dil

İngilizce (Konuşma, yazma ve anlama İyi derecede), İspanyolca (Konuşma, yazma ve anlama Orta derecede), Almanca (Konuşma, yazma ve anlama başlangıç)

Microsoft® Word, Excel and Powerpoint, Windows XP® (Çok iyi derecede) Minitab®, SPSS® ve NCSS® (Çok iyi derecede)

5. Yayınlar

a) SCI (Science Citation Index), SSCI (Social Science Citation Index), AHCI (Arts and Humanities Citation Index) tarafından taranan dergilerde yayımlanan teknik not, editöre mektup, tartışma, vaka takdimi ve özet türünden yayınlar dışındaki makaleler

1. **Guneser, O., Zorba, M. 2014.** The Effects of Emulsifiers on Oil Separation Problem and Quality Characteristics of Tahin Helva During Storage. Journal of Food science and Technology Mysore, 51(6):1085-1093.
2. **Aydeniz B., Guneser, O. Yilmaz, E. 2014.** Physico-Chemical, Sensory and Aromatic Properties of Cold Press Produced Safflower Oil. JAOCS, 91:99-110.
3. **Dundar, D., Guneser, O., Yilmaz, E. 2014.** Influence of Roasting and Enzyme Application on the Sensory Properties, Aromatic Profiles and Consumer Preferences of Cold Pressed Poppyseed Oils. Grasaa Y Aceites, (in press, doi:http://dx.doi.org/710.3989/gya.109213)
4. **Sulejmani E., Rafajlovska V., Guneser O. 2014.** Characterization of volatiles in Beaten cheeses (bieno sirenje) by SPME/GC-MC: Influence of Geographical Origin. (in press) J. Serb. Chem. Soc., DOI:10.2298/JSC130917135S
5. **Bozdemir, S., Guneser, O., Yilmaz, E. 2014.** Properties and Stability of Fried Whole Chickpea Snack Products. British Food Journal (under review).
6. **Wilkowska, A., Kregiel, D., Guneser, O., Karagül-Yüceer, Y. 2014.** Growth and by-product profiles of Kluyveromyces marxianus cells immobilized in foamed alginate. Yeast (under review)
7. **Guneser, O., Kirca-Toklucu, A., Karagul-Yuceer, Y. 2012.** Formation Kinetics of Hydroxymethylfurfural and Brown Coloured Compounds in Goat Milk during Heating

International Journal Dairy Technology International Journal of Dairy Technology,66 (1)14-19

8. **Guneser, O., Yuceer- Karagul, Y. 2012.** Effect of Ultraviolet Light on Water and Fat Soluble Vitamins of Cows and Goats Milk. Journal of Dairy Science 95 (11):6230-41.
9. **Guneser, O., Karagul-Yuceer. 2011.** Characterization of Aroma-Active Compounds, Chemical and Sensory Properties of Acid Coagulated (Circassian) Cheese. International Journal of Dairy Technology. Volume 64, Issue 4, pages 517–525.
10. **Karagul-Yuceer, Y., Tuncel, B., Guneser, O., Engin, B., Yasar, K., Isleten, M., Yasar, K., Mendes, M. 2009.** Characterization of Aroma-Active Compounds, Sensory Properties, and Proteolysis in Ezine Cheese. J. Dairy Sci., 92 :4146–4157.
11. **Demirkol, A., Guneser, O., Karagul Yuceer, Y. 2012.** Characterization Volatile Compounds, Chemical and Sensory Properties of Traditional and Industrial Butters produced in Turkey (Hazırlık aşamasında)
12. **Guneser, O., Karagul Yuceer, Y. Ozmen-Togay, S., Hosoglu-Isleten, M. Elibol, M. 2013.** Production of Natural Flavor Compounds by *Rhizopus oryzae* and *Candida tropicalis* Grown on Olive Pomace, Biotechnology Progress (Hazırlık aşamasında)
13. **Guneser O., Demirkol, A., Karagul Yuceer, Y. 2013.** Characterization Volatile Compounds, Chemical and Sensory Properties of Different Black Tea (*Camellia sinensis* (L.) Brands Commercialized in Turkey (Hazırlık Aşamasında)

b) SCI, SSCI, ve AHCI dışındaki indeks ve özler tarafından taranan dergilerde yayımlanan teknik not, editöre mektup, tartışma, vaka takdimi ve özet türünden yayınlar dışındaki makaleler

1. **Delice, NY., Guneşer, O., Yuceer, YK. 2013.** Consumer Expectation and Preference of Ezine Cheese. Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi. 10, 2, 92-103

c) Ulusal hakemli dergilerde yayımlanan teknik not, editöre mektup, tartışma, vaka takdimi ve özet türünden yayınlar dışındaki makaleler

1. **Arslan, N., Guneser, O., Karagül-Yüceer, Y. 2011.** Geleneksel ve Endüstriyel Tereyağlarının Bazı Kalite Özellikleri. Hasad Gıda, 26 (312),16-21.
2. **Yiğit, K., Güneşer, O., Karagül-Yüceer, Y. 2011.** Farklı Ticari Kültürler Kullanılarak Üretilen Yağsız Yoğurtların Fiziksel, Kimyasal ve Duyusal Özellikleri. Hasad Gıda (26),308 syf:30-35.
3. **Togay, S., Guneser, O., Kragül-Yüceer, Y. 2011.** Çanakkale'de satılan keçi peynirlerinin hijyenik kalitesinin belirlenmesi. Hasad, 318,46-48.
4. **Guneser, O., Karagül Yüceer, Y. 2010.** Gıdalarda aroma maddelerinin belirlenmesinde gaz kromatografisi-olfaktometri(GC-O) tekniklerinin kullanılması. Gıda, 35(5) 371-378.

5. **Tuncel, B., Güneşer, O., Engin, B., Yaşar, K., Zorba, N., ve Karagül-Yüceer, Y. 2009.** Ezine Peyniri: II. olgunlaşma süresince proteoliz düzeyi. *Gıda* 35 (1) 21-26.
6. **Engin, B., Güneşer, O., ve Karagül-Yüceer, Y. 2009.** Ultraviyole ışınlarının sütün mikrobiyel özellikleri üzerine etkisi. *GIDA*, 34 (5): 303-308
7. **Güven, S., ve Güneşer, O. 2007.** Biyo etanol üretimi ve önemi. *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi* 91-96. ([www. http://teknolojikarastirmalar.com](http://teknolojikarastirmalar.com))
8. **Arslan, E., Güneşer, O., ve Kırca, A. 2006.** Mevlevi tatlısı üretimi ve kimyasal bileşimi. *Akademik Gıda*, 4:24
9. **Kaynak, K., Güneşer, O., Caner, C. 2006.** Besin piramidleri. *Akademik Gıda Dergisi* (3)19-23.
10. **Yılmaz, E., ve Güneşer, O. 2004.** Gıda bileşenlerinin lezzet maddeleriyle etkileşimi. *Gıda Teknolojisi*. 8(6):85-88.

d) Uluslararası kongre, sempozyum, panel gibi bilimsel toplantılarda sunulacak, programda yer alan özet metin olarak yayınlanan bildiri ya da poster veya gösteri

1. **Wilkowska, A., Kregiel, D., Güneşer, O., Karagül-Yüceer, Y., Ambroziak, W. 2014.** Utilization of waste agromaterials by *Kluyveromyces marxianus*. Part I. Characteristics of agro waste materials and their utilization by immobilized yeast *Kluyveromyces marxianus*. 5th European Yeast Flavour Workshop, 5-7 May, Riviera-Switzerland.
2. **Güneşer, O., Karagül-Yüceer, Y., Wilkowska, A., Kregiel, D., Ambroziak, W. 2014.** Utilization of waste agro materials by *Kluyveromyces marxianus*. Part II: Production of Bioflavors by Free and Immobilized Yeast *Kluyveromyces marxianus*. 5th European Yeast Flavour Workshop, 5-7 May, Riviera-Switzerland.
3. **Güneşer, O., Demirkol, A., Karagül Yüceer, Y., Özmen Toğay, S., İşleten Hoşoğlu, M., Elibol, M. 2014.** Production of BioFlavors by Fungal Metabolisms: *The Concepts of Tricoderma atroviride* and *Aspergillus sojae*. 5th European Yeast Flavour Workshop, 5-7 May, Riviera-Switzerland.
4. **Gethins, L., Guneser, O., Rea, M., Stanton, C., Ross, P., Yuceer, Y., Morrissey, J. 2014.** Flavour production by the yeast *Kluyveromyces marxianus*. 5th European Yeast Flavour Workshop, 5-7 May, Riviera-Switzerland.
5. **Guneser, O., Karagul Yuceer, Y., Ozmen Togay, S., Isleten Hosoglu, M. , Elibol, M. 2013.** Optimization of Bioflavor Production from Whey by Using *Kluyveromyces marxianus*: A Response Surface Approach. 4th European Yeast Flavour Workshop, (Freising, Germany), July 22 – 23, 2013.
6. **Guneser, O., Karagul Yuceer, Y., Ozmen Togay, S., Isleten Hosoglu, M. , Elibol, M. 2013.** Bioflavour Production from Rice Bran by Using *Kluyveromyces marxianus* and *Debaromyces hansenii*. 4th European Yeast Flavour Workshop, (Freising, Germany), July 22 – 23, 2013.

7. **Guneser, O., Karagul Yuceer, Y., Ozmen Togay, S., Isleten Hosoglu, M. , Elibol, M. 2013.** Bioflavor Production from Agro-Wastes: Tomato and Red Pepper Pomaces (oral presentation).4th European Yeast Flavour Workshop,Freising (Germany), July 22 – 23, 2013.
8. **Guneser, O., Demirkol, A., Karagul- Yuceer, Y. 2013.** Fındık Gevreği Üretimi. II. Uluslararası TİM Ar-Ge Gıda Proje Pazarı, 3-4 Haziran, 2013, İzmir-Türkiye.
9. **Özmen Toğay, S., Ay, M., Guneser, O., Karagül Yüceer, Y. 2013.** Phenotypic and Genotypic Investigations of Antimicrobial Activity Potentia Enterococcus Strains Isolated From Traditional Turkish Cheeses.2nd International Symposium on Traditional Foods from Adriatic to Caucasus,Ohrid - Struga/Macedonia on 24-26th October 201
10. **Guneser, O., Karagul Yuceer, Y., Ozmen Togay, S., Isleten Hosoglu, M. , Elibol, M. 2012.** Production of Natural Flavor Compounds by *Rhizopus oryzae* and *Candida tropicalis* Grown on Olive Pomace. (oral presentation).3rd European Yeast Flavour Workshop (Vevey, SWITZERLAND).
11. **Demirkol, A, Guneser, O., Karagul Yuceer, Y., Ozmen Togay, S., Isleten Hosoglu, M. , Elibol, M. 2012.** Bioaroma Compounds Produced from Orange Peel (oral presentation). 3rd European Yeast Flavour Workshop (Vevey, Switzerland).
12. **Güneşer, O., Kırca Toklucu, A., Karagül-Yüceer, Y. 2011.** Formation Kinetics of 5-Hydroxymethylfurfural (HMF) and Coloured Compounds in Goat Milk During Heating. IDF International Symposium on Sheep, Goat and other non-Cow Milk. 16-18 Mayıs 2011. Atina-Greece.
13. **Karagul-Yuceer, Y., Guneser, O., Ozmen-Togay, S. 2011.** Goat cheese: aroma-active compounds, sensory properties and lactic acid bacteria. IDF International Symposium on Sheep, Goat and other non-Cow Milk. 16-18 Mayıs 2011. Atina-Greece.
14. **Diler, M., Akbağ, E., Avsar, E., Işık, V., Erkayacan, H., Guneser, O., Karagul Yuceer, Y. 2011.** Investigation of Biogenic Amine Formation and Some Quality Parameters in Ezine Cheese during Storage. IDF International Symposium on Sheep, Goat and other non-Cow Milk. 16-18 Mayıs 2011. Atina-Greece.
15. **Karagul Yuceer, Y., Guneser, O., Togay, O., Hoşoglu, I., Elibol, M. 2011.** Potential use of olive Pomace to Produce Bioaroma. COST Action FA0907, 2nd. European Yeast Flavour Workshop, 26-27 May, 2011 Delft, Netherlands.
16. **Güneşer, O., Karagul Yüceer, Y. 2011.** Encapsulation and Controlled Release of Flavors.TÜBİTAK-4th International Congress on Food and Nutrition, 12-14 October, Harbiye-Istanbul.
17. **Güneşer, O., Karagul Yüceer, Y. 2011.** Effect of Ultraviolet light on water and fat soluble vitamins in milk. (sözlü sunum) TÜBİTAK-4th International Congress on Food and Nutrition, 12-14 October, Harbiye-Istanbul.
18. **Guneser, O., Karagul-Yuceer, Y. 2011.** Effect of Ultraviolet Light on Water and Fat Soluble Vitamins of Goat Milk. IDF International Symposium on Sheep, Goat and other non-Cow Milk. 16-18 Mayıs 2011. Atina. 2011

19. **Guneser,O., Zorba, M. 2010.** The Effects of Using Diifferent Food Additives on Oil Separation of Tahin Helva. The 1st International symposium on “Traditional Foods from Adriatic to Caucasus. 15-17 April, Tekirdağ / Turkey
20. **Guneser, O., Uysal-Pala, C., Kırca-Tokkucu, A., Karagul-Yuceer, Y. 2010.** Development of A Functional Beverage with Apple Juice and Whey Protein Isolate. EFFOST Annual Meeting,Food and Health, Dublin, Ireland, 2010.
21. **Guneser, O.,Karagul-Yuceer, Y. 2010.** Advanced Food Analysis: Case Studies. Advanced Food Analysis Course,VLAG and Wageningen University, 15-19 September 2010. Wageningen-Holland.
22. **Karagül Yüceer, Y., Guneser, O., Toğay-Özmen,S., Hoşoğlu İşleten, M., Elibol, M. 2010.** Production and optimization of natural flavor compounds from agricultural waste using biotechnology. COST Action FA0907, European Yeast Flavour Workshop, 28-29 October, INSA-Toulouse, France
23. **Guneser, O., Karagul-Yuceer, Y. 2010.** Traditional Circassian Cheese: Chemical And Sensory Properties. The 1st International symposium on “Traditional Foods from Adriatic to Caucasus. 15-17 April, Tekirdağ / Turkey.
24. **Caner, C., Guneser, O., Aday, M.S., 2007.** Consumer Complaints and Accidents Related To Foods And Drinks Packaging. V. Packaging Congress. 22-24 November, Izmir-Turkey.

e) Ulusal kongre, sempozyum, panel gibi bilimsel toplantılarda sunularak, programda yer alan tam metin olarak yayımlanan bildiri

1. **Güneşer, O., Yuceer, Y., Konyalı, A. 2010.** Çanakkale'de yetiştiriciliği yapılan bazı keçi ırklarına ait sütlerin yağ asidi profili. Ulusal keçiçilik kongresi, 24-26 Haziran 2010. Çanakkale.
2. **Güneşer, O., Yüceer, Y. 2010.** Keçi sütünün kefir üretiminde kullanılması: fiziksel, kimyasal ve duyuşal özellikler(sözlü sunum). Ulusal keçiçilik kongresi, 24-26 Haziran 2010. Çanakkale.
3. **Güneşer, O., Pala-Uysal, Ç., Kırca-Toklucu, A., Engin, B. 2009.** Erik Macunu üretimi ve bazı kimyasal özellikleri. II. Geleneksel Gıdalar Sempozyumu, 27-29 Mayıs- Van.
4. **Pala-Uysal, Ç., Güneşer, O., Kırca-Toklucu, A. 2009.** Geleneksel bir içeceğimiz Ahlat Turşusu ve bazı kimyasal özellikleri II. Geleneksel Gıdalar Sempozyumu, 27-29 Mayıs- Van
5. **Zorba, N., Zorba, M., Güneşer, O, Güven, S. 2007.** Geleneksel Bayramiç Tahin Helvası. Bayramiç Sempozyumu 03-05 Ağustos 2007 Bayramiç – Çanakkale.

f) Ulusal kongre, sempozyum, panel gibi bilimsel toplantılarda sunularak, programda yer alan özet metin olarak yayımlanan bildiri ya da poster veya gösteri

1. **Bölek, O., Güneşer, O., Karagül Yüceer, Y. 2013.** UHT Sütlerin Bazı Fiziksel, Kimyasal ve Duyuşal Özelliklerinin Belirlenmesi, TGDF Gıda Kongresi 2013, Side-Antalya 12-14 Kasım 2013.

2. **Guneser, O., Karagül Yüceer, Y. 2013.** Isıl Olmayan Gıda İşleme Teknolojilerinin Gıdaların Minör Bileşenleri Üzerine Etkileri. İç Anadolu Bölgesi 1. Tarım ve Gıda Kongresi, 2-4 Ekim 2013, Niğde-Türkiye (sözlü sunum)
3. **Güneşer, O, Kırca-Toklucu, A., Karagül-Yüceer, Y. 2013.** Gıda Ambalajlamada Yeni Bir Yaklaşım: Esansiyel Yağların Buhar Uygulaması. İç Anadolu Bölgesi 1. Tarım ve Gıda Kongresi, 2-4 Ekim 2013, Niğde-Türkiye
4. **Dalmış, G., Güneşer, O., Kırca-Toklucu, A. 2013.** Tüketime Hazır Taze Doğranmış Meyvelerin Raf Ömürlerinin Artırılmasında Uygulanan Yeni Teknikler. İç Anadolu Bölgesi 1. Tarım ve Gıda Kongresi, 2-4 Ekim 2013, Niğde-Türkiye
5. **Demirkol, A., Güneşer, O., Kragül Yüceer, Y. 2013.** Biyoaroma üretimi. İç Anadolu Bölgesi 1. Tarım ve Gıda Kongresi, 2-4 Ekim 2013, Niğde-Türkiye.
6. **Yüksel-Delice, N., Güneşer, O., Karagül Yüceer, Y. 2012.** Tüketicilerin Ezine Peyniri Beğeni Analizi. Kazdağları 3. Ulusal Sempozyumu, Balıkesir, Türkiye
7. **Güneşer, O., Demirkol, A., Karagül-Yüceer, Y. 2012.** Farklı tip siyah Türk çaylarının bazı fiziksel, kimyasal ve duyuşsal özellikleri. 10-12 Ekim, Türkiye 11. Gıda Kongresi, Hatay.
8. **Demirkol, A., Güneşer, O., Karagül-Yüceer, Y. 2012.** Geleneksel ve endüstriyel tereyağlarında bazı fiziksel, kimyasal ve duyuşsal özelliklerin belirlenmesi. 10-12 Ekim, Türkiye 11. Gıda Kongresi, Hatay.
9. **Yalman, M., Güneşer, O., Karagül-Yüceer, Y. 2012.** Kaşar benzeri peynir üretimi: fiziksel, kimyasal ve duyuşsal özellikleri. 10-12 Ekim, 11. Gıda Kongresi, Hatay.
10. **Gün, İ., Güneşer, O., Karagül-Yüceer, Y., Güzel-Seydim, Z., Torun, F., Çakıcı, S. 2012.** Farklı Yöntemlerle üretilen çökelek peynirinin aroma aktif bileşenlerinin gaz kromatografi-olfaktometri (GCO) yöntemiyle belirlenmesi.
11. **Guneser, O., Karagul- Yuceer, Y. 2012.** İnsan metabolizmasında Fonksiyonel Özelliklere Sahip Biyolojik Aktif Peptidlerin Üretimi. I. Ulusal TİM Ar-Ge Gıda Proje Pazarı, 29Mayıs 2012 , İzmir-Türkiye.
12. **Özmen Toğay, S. Ay, M., Guneser, O., Yüceer, Y. 2012.** Süt Endüstrisi için Yerel Fonksiyonel Kültür Üretimi. I. Ulusal TİM Ar-Ge Gıda Proje Pazarı, 29Mayıs 2012 , İzmir-Türkiye.
13. **Tuncel, N.B., Yüceer, Y.K., Güneşer, O. 2007.** Olgunlaşma süresinin Ezine peynirinin bazı özelliklerine etkisinin araştırılması. 5. Gıda Mühendisliği Kongresi, 8-10 Kasım 2007, Ankara
14. **Zorba, N.Z, Güneşer, O., Zorba, M. 2007.** Çanakkale ilinde satılan tahin helvalarının kimyasal ve mikrobiyolojik özellikleri. 08-10 Kasım, 5. Gıda Mühendisliği Kongresi Ankara
15. **Tuncel, B.N., Karagül-Yüceer,Y., Güneşer, O. 2006.** Farklı sütün kazein fraksiyonlarının belirlenmesinde Üre-Page yönteminin kullanılması. III. Ulusal Analitik Kimya Kongresi Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, 5-7 Temmuz, Çanakkale.
16. **Tuncel, B.N., Güneşer, O., Karagül-Yüceer,Y. 2006.** Ezine Peynirinin Üre-Page yöntemi ile kazein fraksiyonlarının belirlenmesi III.Ulusal Analitik Kimya Kongresi. Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, 5-7 Temmuz, Çanakkale.

6. Projeler

1. Mikroorganizmalar Kullanılarak Tarımsal Atıklardan Doğal Aroma Maddelerinin Üretimi ve Optimizasyonu TUBİTAK-COST, 2011 (Bursiyer).
2. Ultraviyole ışınlarının sütün yağda ve suda çözünen vitaminleri üzerine etkisi BAP, COMU. 2010. (Yardımcı Araştırmacı).
3. Ezine Peynirinde Tüketici Tercih ve Beklenti Analizi 2011 (projenin duyu analizi kısmında görev alınmıştır) COMU BAP 2009/10.
4. Farklı Katkı Maddeleri Kullanımının Tahin Helvası Emülsiyon Stabilitesi ve Kalitesine Olan Etkilerinin Belirlenmesi Üzerine Bir Çalışma, COMU BAP, 2007/87 (Yüksek Lisans Tezi)
5. Method Optimization For the Determination of Polar Compounds Derived from Deep-Frying Oil Scientific Project, in Hamburg University of Applied Science, 2006 (Erasmus anlaşması ile Bursiyer, yardımcı araştırmacı)
6. Sensory Preference Mappings of Different Cooking Processes of Selected Plant and Animal Foods, Scientific Project in Hamburg University of Applied Science, 2006. (Erasmus anlaşması ile Bursiyer, yardımcı araştırmacı)
7. Tahin Helvalarının Kimyasal ve Mikrobiyolojik Kalitesine Üretim Aşamalarının Etkisi 2005, TUBİTAK, Proje no: TOVAG 104 O 290 (Yardımcı Araştırmacı).
8. Ezine Peynirinin Duyusal ve Kimyasal Aroma Profilinin Belirlenmesi (Projenin Elektroferez Uygulamaları Kısmında görev alınmıştır), DPT projesi 2005.

7. İlgili Alanları

Süt ve süt ürünleri kimya ve biyokimyası: Süt ve süt ürünlerinin üretim teknolojilerinin süt ve süt ürünlerinin aroma profili ve biyokimyasal özellikleri üzerine konularla çalışmaları yürütmekteyim.

Aroma Üretim Teknolojileri: Doktora tez çalışmam kapsamında biyoteknolojik yollarla doğal aroma üretimi konusunda çalışmaktayım. Aroma biyoteknolojisi ve aroma üretim teknolojileri konusunda ve gıda maddelerinin aroma profillerini belirlenmesi konusunda çalışmaları yürütmekteyim.

Duyusal Analizler: Eğitimli bir duyu panelistim. Bu nedenle bir çok gıda ürününün duyu analizi değerlendirilmesinde panelist olarak görev aldım. Bu ürünler arasında çeşitli geleneksel peynirler, buğday ruşeym yağı, yoğurt, tavuk eti, çeşitli meyve suları, tereyağı, çay, bal, pekmez gibi gıda ürünleri bulunmaktadır. Gıdaların duyu analizi konusunda (Örn; Spectrum® analizi ve tüketici testleri) eğitimli olup bu konu üzerinde de uzmanlaşmaktayım. Bu konuda Gıda Mühendisliği Bölümü döner sermaye kapsamında Doç. Dr. Yonca Karagül Yüceer ile birlikte **İNTERTEK Türkiye LAB Ltd.** duyu analizi eğitimini gerçekleştirdim.

Enstrümental Gıda Analizleri: Doktora tez çalışmam kapsamında, özellikle aroma maddelerinin GC-MS ile analizleri deneyimliyim. Özellikle aroma maddelerinin katı faz mikroekstraksiyon (SPME) ile ekstrakte edilmesi ve GC-MS ile belirlenmesi üzerine çalışmaları yürütmekteyim. Gıda Mühendisliği Bölümü, Döner Sermaye Laboratuvar analizleri kapsamında gıda maddelerinin aroma analizlerini yapmaktayım. Bu çerçevede 1) Malkara Ticaret Borsası isteğiyle Trakya Kaşar

peynirinde aroma maddelerinin belirlenmesini, 2) Pamukkale Üniversitesi "Ekşi hamur Sıvı Ferment Sistemi için Maya ve Laktik Asit Bakterisi Kombinasyonunun Belirlenmesi" FBE20011/56 (proje yürütücüsü Doç.Dr. Raci Ekinci) projesi kapsamında ekmek hamuru örneklerinde aroma maddelerinin belirlenmesini ve 3) BANVIT A.Ş için farklı özellikteki çiğ et örneklerinde aroma maddelerinin belirlenmesini gerçekleştirdim. Farklı araştırmacı grupları ile çeşitli süt ürünlerinde (çökelek, beyaz peynir, yoğurt vd.) aroma maddelerinin belirlenmesi üzerine analizlerde yürütmekteyim. Kromatografik analizlerden HPLC ile sütte suda ve yağda çözünen vitaminlerin belirlenmesini üzerine deneyimliyim. Ayrıca süt proteinlerinin elektroforetik (jel elektroforezi) analizlerinde deneyimliyim. Gıdaların spektrofotometrik ve tekstürel analizleri ile de yakından ilgilenmekteyim.

Yeni ürün geliştirme: Fonksiyonel gıda ürünlerinin geliştirilmesi ilgi duymaktayım. Özellikle farklı fonksiyonel özelliklere sahip süt ve süt ürünleri ile içeceklere ilgi duymaktayım.

8. Aktiviteler ve Ödüller

1. COMU, Gıda Mühendisliği Bölümünden **üçüncülük derecesi** ile mezuniyet
2. Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, **Başarı Bursu**, 2004
3. **İTÜ ve Dünya Gıda Dergisi tarafından düzenlenen "Gıda, Sağlık ve Gıda Güvenliği:Yeni Ürün, Proses ve Sistem Tasarımları"** yarışmasında "Çölyak hastaları için Glutensiz Pufi Şöbik Kek" ile **2. cilik** 2004.
4. **İTÜ ve Dünya Gıda Dergisi tarafından düzenlenen "Gıda, Sağlık ve Gıda Güvenliği:Yeni Ürün, Proses ve Sistem Tasarımları"** yarışmasında "Kaktüs Meyveli Diyabetik dondurma" ile **mansiyon ödülü 2004**.
5. **Leonardo da Vinci Programı ile İspanya'da staj:** Proje yürütücüsü: **Doç.Dr. Yonca Karagül Yüceer**. 2005
6. **Erasmus Öğrenci Değişim Programı ile Almanya'da Eğitim:** International Guest Student at Hamburg University of Applied Science, Ökotrophologie- Master of Food Science (Nutrition and Home Economics) (for 6 month); Erasmus Kordinator: **Doç. Dr. Yonca Karagül Yüceer**.
7. **Ulusal Yeni Ürün Geliştirme Yarışması** 5-6 Ekim 2007 Çanakkale, Düzenleme Kurulu Üyeliği
8. **FP7 EC project CONFIDENCE Projesi ile Burs:** "Advanced Food Analysis Course", Organised by the Graduate School VLAG, (Wageningen University), Organic Chemistry, the EC project CONFIDENCE, 15-19 September 2010, Holland ,2010 (Burslu)
9. **Ulusal Yeni Ürün Geliştirme Yarışması** 5-6 Ekim 2007 Çanakkale, Düzenleme Kurulu Üyeliği
10. **CIHEAM Bursu:** Development of New Agro-Food Products 4-8 May, 2009 CIHEAM Zaragoza (Spain). 2009, (Aday olup seçilerek)

11. **İngiltere'de Doktora Tez Çalışma Konusu Hakkında Teknik Kurs:** "Metabolite profiling approaches in microorganisms and higher plants" BIOFLAVOUR COST Action FA0907. March 19th-22nd 2012 London, England. Royal Holloway University (Aday olup seçilerek)
12. **COST FA 1001 Action Kapsamında İrlanda Yeni Ürün Geliştirme Konusunda Teknik Kurs:** Designing Food Structures With Health Benefits-From Concept To Commercialisation, Summer School (Cost Action Fa 1001) İrlanda-Dublin, 10-12 Haziran 2013 (Burslu).
13. **Aroma Compounds Produced by Yeast İn Solid-State And in Alginate-immobilized Fermentation of Pomace.**4-23 November 2013, Poland, Lodz University, COST STSM Grant, Cost Actiton FA 0907.
14. **CIHEAM Bursu:** Innovative Packaging For Fresh And Lightly Processed Fruits And Vegetables. 20-25 October, 2013 CIHEAM Zaragoza (Spain). 2013, (Burslu)
15. **COST FA 0907 action bursu:** Onur GUNESER. Aroma compounds produced by yeast in solid-state and in alginate-immobilized fermentation of pomace.4-23 november 2013, Poland, Lodz University, COST STSM Grant, Cost Actiton FA 0907 (Burslu)

9. Hobiler

Bisiklete binmek, Gıda bilimi ve Teknolojisi ile ilgili ulusal ve uluslararası bilimsel dergileri takip etmek, özellikle doğa ile ilgili belgeseller izlemek

10. Üyelikler

1. Institute of Food Technologists (IFT) öğrenci üyeliği
2. Gıda Mühendisleri Odası
3. 2009-2010 yılları arasında Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Öğrenci Temsilcisi, Fen Bilimleri Enstitüsü (aday olup seçilerek)
4. 2003-2005 yılları arasında Mühendislik-Mimarlık Fakültesi Öğrenci Temsilcisi (aday olup seçilerek)



