

**BAZI MİKROALGLERİN YAĞ ASİDİ
PROFİLLERİNİN BELİRLENMESİ**

Oya Irmak ŞAHİN



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

BAZI MİKROALGLERİN YAĞ ASİDİ PROFİLLERİNİN BELİRLENMESİ

Oya Irmak ŞAHİN

**Yrd. Doç. Dr. Arzu AKPINAR BAYİZİT
(Danışman)**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI**

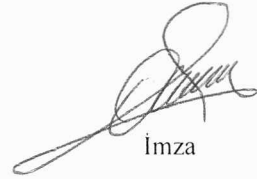
**BURSA
2010**

TEZ ONAYI

Oya İrmak Şahin tarafından hazırlanan “*Bazı Mikroalglerin Yağ Asidi Profillerinin Belirlenmesi*” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından oy birliği/oy çokluğu ile Uludağ Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı’nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Danışman : Yrd. Doç. Dr. Arzu AKPINAR BAYİZİT

Başkan : Yrd. Doç. Dr. Arzu AKPINAR BAYİZİT
U.Ü. Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü



İmza

Üye : Yrd. Doç. Dr. Tülay ÖZCAN
U.Ü. Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü



İmza

Üye : Prof. Dr. İsmail FİLYA
U.Ü. Ziraat Fakültesi, Zootečni Bölümü



İmza

Yukarıdaki sonucu onaylıyorum

Prof. Dr. Kadri ARSLAN

Enstitü Müdürü

Bilimsel Etik Bildirim Sayfası

U.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- tez içindeki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda ilgili eserlere bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu,
- atıfta bulunduğum eserlerin tümünü kaynak olarak gösterdiğimi,
- kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı,
- ve bu tezin bir bölümünü bu üniversite veya başka bir üniversitede başka bir tez çalışması olarak sunmadığımı

beyan ederim.

28/10/2010

Oya Irmak ŞAHİN

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

BAZI MİKROALGLERİN YAĞ ASİDİ PROFİLLERİNİN BELİRLENMESİ

Oya Irmak ŞAHİN

Uludağ Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Yrd. Doç. Dr. Arzu AKPINAR-BAYİZİT

Bu çalışmada, yağ asidi üretebilme potansiyeli olduğu düşünülen 4 farklı mikroalg türünün heterotrofik koşullarda gelişimi gözlemlenmiş ve durağan fazdaki hücrelerin yağ asidi kompozisyonu saptanmıştır. Besi ortamı seçimi mikroalglerin biyolojik özellikleri göz önüne alınarak yapılmıştır. Çalışmada; “*Chlorella*, *Ankistrodesmus*, *Oscillatoria*” ve “*Chroococcus*” türleri kullanılmıştır.

Yeşil alg sınıfında olan *Chlorella* sp. ve *Ankistrodesmus* sp. için Basal Bold besi ortamı, mavi-yeşil alg sınıfından olan *Oscillatoria* sp. ve *Chroococcus* sp. için ise BG-11 besi ortamı kullanılmıştır. Çalkalamalı inkübatörde 30°C’de ve 150 rpm hız ile inkübasyona bırakılan hücreler, durağan faza geçtiklerinde vakum altında besi ortamından ayrılmış ve -20°C’de muhafaza edilmiştir.

İncelenen mikroalg türlerinde biyokütlerdeki lipid miktarı ve yağ asidi kompozisyonu farklılıklar göstermiştir. Biyokütlerdeki en yüksek lipid miktarı *Chroococcus* mikroalginde (%1,72 ± 0,0071), en düşük ise *Ankistrodesmus* mikroalginde (%0,14 ± 0,0085) belirlenmiştir. *Chlorella* türünde en fazla bulunan yağ asitleri; C18:0 (%26,70 ± 0,0001), C18:1 (%23,48 ± 0,0005) ve C16:0 (%21,05 ± 0,0089) olarak bulunmuştur. *Ankistrodesmus*, *Oscillatoria* ve *Chroococcus* türlerinde ise C18:1,

sırasıyla, $36,83 \pm 0,0007$, $38,51 \pm 0,0056$ ve $47,96 \pm 0,0039$ ile en fazla saptanan yağ asidi olmuştur.

Beslenme açısından büyük önem taşıyan EPA, *Chlorella* türünde saptanamazken, diğer alg türlerinde sırasıyla, $0,35 \pm 0,0007$, $0,30 \pm 0,0005$ ve $0,62 \pm 0,0002$ olarak belirlenmiştir. Bir diğer önemli yağ asidi DHA tüm mikroalglerde sırasıyla, $1,54 \pm 0,0007$, $0,28 \pm 0,0002$, $2,22 \pm 0,0056$ ve $1,48 \pm 0,0007$ olarak bulunmuştur.

Anahtar Kelimeler: Mikroalg, yağ asidi, *Chlorella* sp., *Ankistrodesmus* sp., *Oscillatoria* sp., *Chroococcus* sp., EPA, DHA

2010, ix+48 sayfa

ABSTRACT

MSc Thesis

DETERMINATION of FATTY ACID PROFILES of SOME MICROALGAE

Oya Irmak ŞAHİN

Uludag University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Food Engineering

Supervisor: Asst. Prof. Dr. Arzu AKPINAR-BAYIZIT

In this study, fatty acid profiles of four different microalgae thought as oleaginous, have been grown under in heterotrophical conditions. Growth media were chosen due to their biological properties. The elected microalgae species were; “*Chlorella* sp., *Ankistrodesmus* sp., *Oscillatoria* sp.” and “*Chroococcus* sp.”

Basal Bold medium for green microalgae *Chlorella* sp. and *Ankistrodesmus* sp., BG-11 medium for blue-green microalgae *Oscillatoria* sp. and *Chroococcus* sp. were used. Microalgae cells were incubated at 30°C, 150 rpm in an orbital shaker, harvested under vacuum at the stationary phase and stored at -20°C.

Fatty acid profiles and lipid in biomass of examined microalgae varied from species to species. The highest lipid in biomass was in *Chroococcus* sp. ($1,72 \pm 0,0071\%$), whereas the lowest was in *Ankistrodesmus* sp. ($0,14 \pm 0,0085\%$). The major fatty acids in *Chlorella* sp. were; C 18:0 ($26,70 \pm 0,0001\%$), C 18:1 ($23,48 \pm 0,0005\%$) and C 16:0 ($21,05 \pm 0,0089\%$). C 18:1 was the major fatty acid for the other three microalgae species, as for *Ankistrodesmus* sp. ($36,83 \pm 0,0007\%$), *Oscillatoria* sp. ($38,51 \pm 0,0056\%$) and *Chroococcus* sp. ($47,96 \pm 0,0039\%$).

Nutritionally important fatty acid, EPA was not observed in *Chlorella* sp., but found in other three species as $0,35 \pm 0,0007\%$, $0,30 \pm 0,0005\%$ and $0,62 \pm 0,0002\%$ in addition another important fatty acid DHA was observed in all microalgae species $1,54 \pm 0,0007\%$, $0,28 \pm 0,0002\%$, $2,22 \pm 0,0056\%$ and $1,48 \pm 0,0007\%$, respectively.

Key Words: Microalgae, fatty acid, *Chlorella* sp., *Ankistrodesmus* sp., *Oscillatoria* sp., *Chroococcus* sp., EPA, DHA

2010, ix+48 pages

TEŐEKKÖR

Lisansüstü eğitimim boyunca her zaman yanımda olan ve hiçbir zaman desteğini esirgemeyen çok sevgili danışman hocam Yrd. Doç. Dr. Arzu AKPINAR-BAYİZİT'e, bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım sevgili hocalarım Yrd. Doç. Dr. Tülay ÖZCAN, Dr. Lütfiye YILMAZ-ERSAN ile Dr. Murat Ali TURAN'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Geçirdiğim bu süreçte bana maddi ve manevi destek veren sevgili annem Prof. Dr. Hatice ŞAHİN ve sevgili babam Ahmet Naci ŞAHİN ile canım kardeşim H. Can ŞAHİN'e de çok teşekkür ederim.

Oya Irmak ŞAHİN
Gıda Mühendisi

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET.....	1
ABSTRACT.....	iii
TEŞEKKÜR.....	v
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ.....	vi
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	ix
1. GİRİŞ.....	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ.....	4
2.1. LİPİDLERİN TANIMI ve SINIFLANDIRILMASI.....	4
2.2. YAĞ ASİTLERİNİN TANIMI ve BİYOSENTEZİ.....	5
2.3. MİKROBİYEL LİPİDLER.....	7
2.3.1. Fungal Lipidler.....	9
2.3.2. Bakteriyel Lipidler.....	9
2.3.3. Algal Lipidler.....	10
2.3.3.1. Alglerin tanımı ve sınıflandırılması.....	10
2.3.3.2. Alglerin lipid üretme potansiyelleri.....	13
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	19
3.1. MATERYAL.....	19
3.1.1. Algal Kültürler.....	19
3.1.2. İnokulum Hazırlanması.....	19
3.1.3. Gelişme Ortamı.....	22
3.1.5. Mikroalg Hücrelerinin Besi Ortamından Ayrılması.....	24
3.2. YÖNTEM.....	24
3.2.1. Mikroalg Kültürlerinden Yağ Ekstraksiyonu.....	24
3.2.2. Yağ Asidi Metil Esterlerinin Hazırlanması.....	24
3.2.3. Mikroalg Kültürlerinde Yağ Asidi Profilinin Belirlenmesi.....	27
4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA.....	28
4.1. Mikroalg Hücrelerinin Sayımı ve Besi Ortamından Ayrılması.....	28
4.2. Mikroalg Türlerinin Yağ Asidi Profilleri.....	30
5. SONUÇ.....	38
KAYNAKLAR DİZİNİ.....	40

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler

ω	Omega
%	Yüzde değer
°C	Santigrat derece
μg	Mikrogram
Mg	Miligram
G	Gram
L	Litre
mL	Mililitre
Rpm	Devir/dakika
v/v	Hacim/hacim oranı

Açıklama

Kısaltmalar

ARA	Araşidonik asit
ALNA	α -linolenik asit
ATCC	Amerikan Tıp Kültür Koleksiyonu
BG-11 Besiyeri	Mavi-yeşil alg besiyeri
C	Karbon
CO ₂	Karbondioksit
DHA	Dokozahekzaenoik asit
EPA	Eikosapentaenoik asit
Gazi-MACC	Gazi Üniversitesi Alg Koleksiyonu Laboratuvarı
GLNA	γ -linolenik asit
H	Hidrojen
LDM Besi yeri	Levin's marine diatom medium
MgSO ₄	Magnezyum sülfat
N	Azot
O- O ₂	Oksijen
P	Fosfor
PUFA	Çoklu doymamış yağ asidi
S	Kükürt
sp.	Tür
spp.	Alt tür
SOT Besi yeri	<i>Spirulina</i> besiyeri
TAG	Triaçilgliserol
UFA	Doymamış yağ asidi
UTEX	Tektaş Üniversitesi

Açıklama

ÇİZELGELER DİZİNİ

	Sayfa
Çizelge 2.3.3.1. Farklı Alg Gruplarının Sınıflandırılması.....	11
Çizelge 3.1.3.1. Basal Bold Besiyeri bileşimi	22
Çizelge 3.2.3.2. BG-11 Besiyeri bileşimi	23
Çizelge 4.2.1. Algal Biyokütlerdeki Lipid Miktarları.....	32
Çizelge 4.2.2. <i>Chlorella</i> sp. Mikroalginin Yağ Asidi Kompozisyonu.....	33
Çizelge 4.2.3. <i>Ankistrodesmus</i> sp. Mikroalginin Yağ Asidi Kompozisyonu	34
Çizelge 4.2.4. <i>Oscillatoria</i> sp. Mikroalginin Yağ Asidi Kompozisyonu	35
Çizelge 4.2.5. <i>Chroococcus</i> sp. Mikroalginin Yağ Asidi Kompozisyonu	36

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa
Şekil 2.2.1. Yağ asidi sentez sistemi.....	7
Şekil 2.3.1. Yağ asitlerinin basitleştirilmiş biyosentez şeması.....	8
Şekil 3.1.1.1. <i>Chlorella</i> sp. stok kültürü.....	19
Şekil 3.1.1.2. <i>Ankistrodesmus</i> sp. stok kültürü.....	20
Şekil 3.1.1.3. <i>Oscillatoria</i> sp. stok kültürü.....	20
Şekil 3.1.1.4. <i>Chroococcus</i> sp. stok kültürü.....	21
Şekil 3.1.1.5. Mikroalg stok kültürleri.....	21
Şekil 3.2.2.1. <i>Chlorella</i> sp yağ asidi metil esterini.....	25
Şekil 3.2.2.2. <i>Ankistrodesmus</i> sp. yağ asidi metil esterini.....	25
Şekil 3.2.2.3. <i>Oscillatoria</i> sp. yağ asidi metil esterini.....	26
Şekil 3.2.2.4. <i>Chroococcus</i> sp. yağ asidi metil esterini.....	26
Şekil 4.1.1. İnkübasyon sırasında <i>Chlorella</i> Sp. hücre yoğunluğu esas alınarak oluşturulan gelişim eğrisi.....	28
Şekil 4.1.2. İnkübasyon sırasında <i>Ankistrodesmus</i> Sp. hücre yoğunluğu esas alınarak oluşturulan gelişim eğrisi.....	29
Şekil 4.1.3. İnkübasyon sırasında <i>Oscillatoria</i> Sp. hücre yoğunluğu esas alınarak oluşturulan gelişim eğrisi.....	29
Şekil 4.1.4. İnkübasyon sırasında <i>Chroococcus</i> Sp. hücre yoğunluğu esas alınarak oluşturulan gelişim eğrisi.....	30

1. GİRİŞ

Son yıllarda gerçekleştirilen araştırmalar, çoklu doymamış yağ asitlerinin farmasötik ve nutrasötik etkileri üzerinde yoğunlaşmıştır. Çoklu doymamış yağ asitlerinin (PUFA) yapısı ve metabolizmadaki rolleri 1900'lü yıllarda incelemeye alınmış ve yağ içermeyen bir diyetle beslenen farelerde “deri dökülmeleri” nin olduğu gözlenmiştir (Kinsella 1998). Yapılan epidemiyolojik ve klinik çalışmaların sonucunda PUFA'ların insan sağlığı üzerine birçok olumlu etkiye sahip olduğu belirlenmiştir. Özellikle α -linolenik asit (ALNA), ikosapentaenoik asit (EPA) ve dokozaheksaenoik asit (DHA) gibi omega-3 (ω -3) ve γ -linolenik asit (GLNA) ile araşidonik asit (ARA) gibi omega-6 (ω -6) yağ asitlerinin diğer PUFA'lar ile kıyaslandığında farmasötik ve nutrasötik etkilerinin daha fazla olduğu vurgulanmıştır (de Swaaf ve ark. 1999, Simopoulos 1999, Crawford 2000, Pulz ve Gross 2004).

Omega-3 yağ asitlerinin eksikliğinde koroner kalp hastalığı, kan lipid seviyesinde dengesizlik, yüksek kan basıncı, ateroskleroz, tromboz, kalp sıkışması, kanser, astım, artrit ve ateşli hastalıklar gibi önemli rahatsızlıkların meydana geldiği belirtilmektedir (Von Schacky 2000, Yamada ve ark 2000). Bu bulgular üzerine gerçekleştirilen klinik çalışmalar EPA ve DHA'nın ateroskleroz, kanser, romatoid artrit ve yaşlılık hastalıklarından özellikle Alzheimer tedavilerinde büyük önem taşıdığını göstermektedir (Simopoulos ve ark 1991, Drevon ve ark 1993, Spolaore ve ark 2006).

Diyet ile alımı gerçekleştirilen EPA ve DHA'nın metabolizmadaki antitrombotik olayları hızlandırdığı belirtilmektedir. Düzenli PUFA alımı ile zararlı protrombotik olayların önlenmesinin yanı sıra metabolizmada yeterli seviyede EPA ve DHA olması ile düzensiz kalp atışı ve ölümlü sonuçlanan kalp krizlerinin gerçektelemediği gözlenmiştir (Mantzioris ve ark 2000, Bassett ve ark 2009).

Çoklu doymamış yağ asitleri eksikliğinde gözlenen diğer rahatsızlıklar ekzema ve romatizmal artrit gibi ateşli hastalıklar ile atopik dermatit gibi cilt rahatsızlıklarıdır. Ayrıca nörolojik ve peroksizomal bozukluklar, depresyon ve agresif davranışlar da

yetersiz PUFA içeren diyetlerden kaynaklanmaktadır (Harel ve ark 2001, Umhau ve Dauphinais 2007).

Bebek ve yetişkinlerde DHA'nın beyin fonksiyonları ile retina gelişiminde oldukça etkili olduğu belirlenmiştir (Simopoulos ve ark. 1991, Simopoulos 2008). DHA alımı ile bu doku ve hücreler tam ve fonksiyonel olarak gelişebilmektedir. DHA'nın kardiyovasküler rahatsızlık riskinin azaltılmasında önemli bir rol oynadığı bildirilmiştir. (Kroman ve Green 1980, Kang ve Leaf 1996, Nordoy ve ark 2001, Umhau ve Dauphinais 2007).

Doğal PUFA kaynakları "bitkisel, hayvansal" ve "mikrobiyel" kaynaklardır. Artan dünya nüfusu ve azalan doğal yağ kaynakları sebebiyle, ticari olarak üretimi sınırlı olmasına rağmen mikrobiyel yağlar en önemli alternatif yağ kaynağı olarak araştırmacıların ilgisini çekmektedir.

Mikrobiyel yağlar ve yağ asitleri üzerine yapılan çalışmalar daha çok "maya" ve "küfler" üzerine yoğunlaşmıştır. Bununla birlikte yağ üretme potansiyelleri incelenen diğer mikroorganizmaların farklı türlerin de "yağ" ve "yağ asidi" kaynağı olabilecekleri gözlenmiştir. Son yıllarda hem bilimsel hem de endüstriyel açıdan en ilgi çeken oleajinöz mikroorganizma "alg"lerdir. Bunun nedenleri arasında; alglerin farklı inkübasyon koşullarında gelişim gösterebilmeleri, bitkilere olan benzer morfolojik ve fizyolojik özellikleri ile fotosentez yapabilmeleri, lipidlerin yanı sıra birçok farklı metaboliti üretebilmeleri ve özellikle "biyodizel üretimi"nde ana bileşen olmaları sayılabilir. Birçok alg türünün de ω -3 ve ω -6 PUFA'larının yanı sıra enzim ve protein yapıda pek çok metaboliti sentezlediği belirtilmektedir (Ratledge 2004, Sijtsma ve de Swaaf 2004).

Yapılan çalışmaların amacı; alglerin tekstil, gıda, deri ve otomotiv gibi sanayi dalları ile dış hekimliği ve beslenme alanında kullanımını mümkün kılmak ve bunu optimize etmektir. Alglerden elde edilen metabolitler gıda sanayinde katkı maddesi ve ambalaj materyali bileşeni olarak kullanılmakta ve aynı zamanda "diyet ürünü" olarak da insan

beslenmesinde değerlendirilebilmektedir (Spolaore ve ark 2006, Harwood ve Guschina 2009).

1970'lere kadar bir gelişme göstermeyen mikrobiyel yağ üretimi, endüstriyel kirliliğin giderek artması, enerji maliyetlerinin yükselmesi ve endüstri atıklarının fermentasyon yoluyla özellikle gıda endüstrisinde kullanılabilceği yaklaşımı ile tekrar gündeme gelmiştir. Son yıllarda gerçekleştirilen araştırmalar, alglerin birincil ve ikincil metabolizma ürünlerinin birçok alanda değerlendirilebileceğini göstermektedir. Özellikle tek hücre yağı ve tek hücre proteini üretiminin büyük önem kazandığı günümüzde giderek azalan doğal kaynaklara alternatif olarak mikrobiyel kaynakların kullanımı ve üretiminin optimizasyonu ağırlıkla üzerinde çalışılan araştırma konularıdır.

Bu çalışmanın amacı, alglerin metabolizma ürünlerinden olan yağ asitlerinin, özellikle mutlak ve şartlı esansiyel yağ asitlerinin, farklı mikroalg türlerinde sentezlenme potansiyellerinin araştırılmasıdır.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

2.1. LİPİDLERİN TANIMI ve SINIFLANDIRILMASI

Evrensel bir tanımı olmasa da en yaygın bilinen şekli ile “lipidler” yağ asitleri ve yağ asitleri türevleri ile biyosentetik ya da fonksiyonel olarak ilişkili maddelerdir (McMurry 1984). Biyolojik materyaller sınıfında proteinler, karbonhidratlar ve mineraller ile birlikte yer alan lipidleri diğer materyallerden farklı kılan özelliği suda çözünmezken eter, kloroform ve benzen gibi organik solventlerde çözünebilmesidir (Saldamlı 1998).

Lipidleri yapısal olarak iki grupta incelemek mümkündür;

- 1) Uzun zincirli yağ asitleri, bunların türevleri ve yağ alkolleri yapısındaki lipidler,
- 2) İzopiren yapıdan türemiş terpenoid lipidler (Ratledge ve Wilkinson 1988).

Lipidler karbon (C) ve hidrojen (H) atomlarından oluşan maddelerdir. Oksijen (O) ise bazılarında C ve H atomları ile kıyaslanmayacak kadar az miktarda bulunmakta, bazılarında ise hiç bulunmamaktadır. Oksijenin yanı sıra bazı lipidler fosfor (P), azot (N) ve kükürt (S) atomlarını da yapılarında bulundurabilmektedirler (Yenson 1984).

Organik çözücülerde çözünen heterojen bileşikler olan lipidler genel olarak polar ve nötral lipidler şeklinde iki gruba ayrılmaktadırlar. Yağ asitleri, kolesterol, gliserofosfatidler ve glikosfingosidler gibi polar olan lipidler suda sınırlı olarak çözünmektedirler. Triaçilgliserol ve kolesterol esterleri ise nötral lipidler sınıfında yer almaktadır (Mert ve Bilolik 1999).

Lipidler, hayvansal ve bitkisel kaynaklı olup doğada bol miktarda bulunmakta, protein ve karbonhidratlar ile birlikte makro-elementler grubunu oluşturmaktadırlar. Yapılarında yer alan maddeler dikkate alındığında lipidleri şu şekilde sıralamak mümkündür (Kayahan 2001):

- Triaçilgliseroller (trigliseridler)
- Yağ asitleri

- Steroller
- Lipokromlar
- Fosfatidler
- Antioksidanlar
- Lipovitaminler
- Hidrokarbonlar
- Tat ve koku (aroma) maddeleri

Doğada en yaygın bulunan lipid sınıfı “yağ asitleridir”. Yağ asitleri lipidlerin temel yapıtaşdır. Bunlar, alifatik uzun zincirli karboksilik asitlerdir (Andersson ve Wynn 2001, Anonim 2010) ve zincir uzunlukları ile çift bağ içerip içermemelerine göre sınıflandırılmaları mümkündür. Doymuş yağ asitleri yapılarında çift bağ içermezken, doymamış yağ asitleri bir ya da daha fazla çiftli doymamış bağ içerirler (Nas ve ark 2001).

2.2. YAĞ ASİTLERİNİN TANIMI ve BİYOSENTEZİ

Yağların en temel bileşeni olan yağ asitleri, genellikle çift sayıda karbon içeren, düz zincirli, değişik zincir uzunluğuna sahip alifatik ve monobazik organik asitlerdir. Bunlar yağlarda gliserinle esterleşmiş olarak ana yapıyı oluşturan “triacilgliserol” formunda bulunmaktadır. Yağların yapısında fosfolipid ve kolesterolle esterleşmiş olarak bulunabilen yağ asitleri, antioksidan, vitamin ve provitaminler ile de ester oluşturabilmektedir (Kayahan 2003).

Yağ asitleri kısa, orta ve uzun zincirli ya da doymuş ve tekli, çiftli ile çoklu doymamış yağ asitleri olarak nitelendirilmektedir (Gün ve ark. 1996).

Doymuş yağ asitleri genellikle çift sayıda karbon atomlarından oluşan ve yapısında hiç çift bağ içermeyen organik asitlerdir. Laurik asit (C12:0), miristik asit (C14:0), palmitik asit (C16:0), stearik asit (C18:0), araşidik asit (C20:0) ve behenik asit (C22:0) bitkisel yağlarda bulunan en önemli doymuş yağ asitleridir. Doymuş yağ asitleri insan

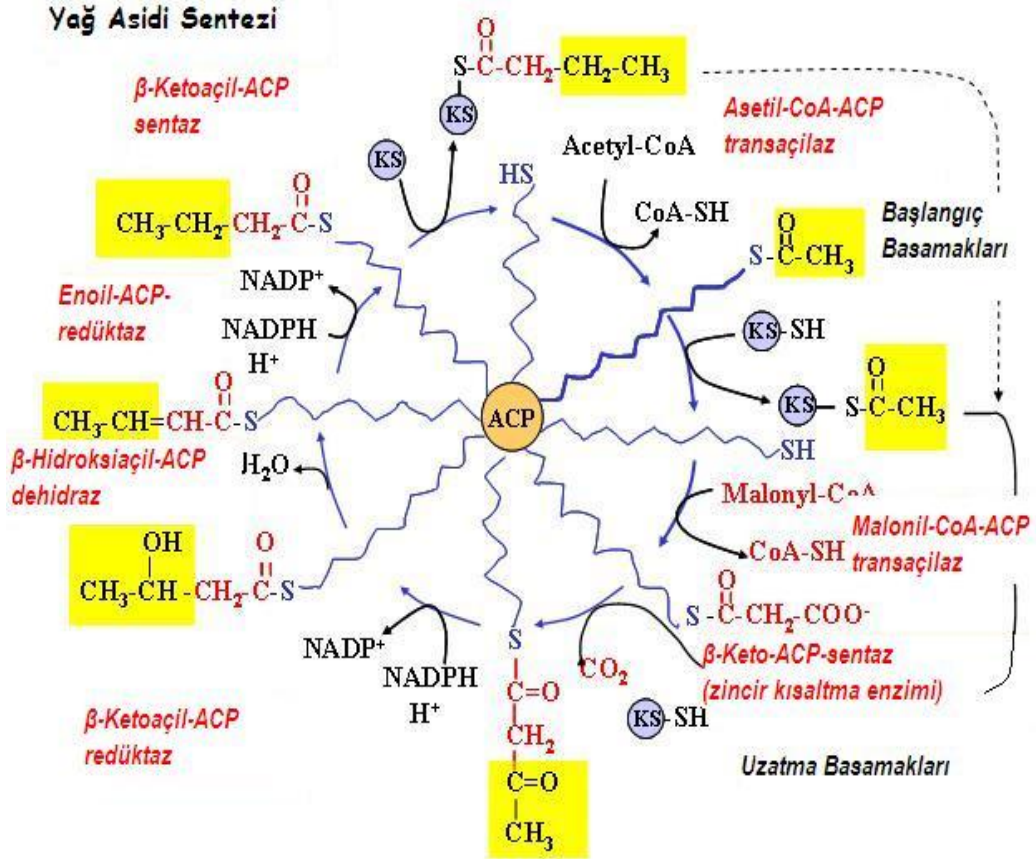
vücudunda, karbonhidrat metabolizması ile oluşan moleküllerden sentezlenebilmektedir (Karaca ve Aytaç 2007).

Doymamış yağ asitleri zincir yapısında bir, iki ya da daha fazla çift bağın yer alması ile karakterize edilirler. Yapılarındaki çift bağlar nedeniyle, doymamış yağ asitleri doymuş yağ asitlerine göre daha reaktiftirler (Nas ve ark 2001). Bu reaktivite yağ asidi zincirindeki çift bağ sayısına göre artmaktadır (Karaca ve Aytaç 2007).

Yapılarında bir çift bağ içeren yağ asitleri *tekli doymamış* (monoansatüre) ya da *monoenoik* yağ asitleri olarak isimlendirilmektedir. Bu grubun en önemli iki üyesi, palmitoleik asit (C16:1) ve oleik asittir (C18:1). Palmitoleik asit daha çok deniz hayvanları yağları için karakteristik bir bileşen olduğu halde, oleik asit bilinen bütün doğal yağların yapısında yer almaktadır (Kayahan 2003, Karaca ve Aytaç 2007).

Birden fazla çift bağ içeren yağ asitleri sırası ile *çiftli doymamış*, *üçlü doymamış* ve *çoklu doymamış* (poliansatüre, PUFA) yağ asitleri ya da *polienoik* yağ asitleri olarak isimlendirilmektedir. Linoleik (C18:2, LA), linolenik (C18:3, LNA), araşidonik (C20:4, ARA), ikozapentaenoik (C22:5, EPA) ve dokozahekzaenoik (C22:6, DHA) asitler çoklu doymamış yağ asitlerinin en önemlileridir. Çoklu doymamış yağ asitleri beslenme biliminde önemli olan esansiyel yağ asitleri olup; F vitamini olarak da adlandırılmaktadırlar. Bunların yağlar ve çeşitli yağ ürünlerinde belli düzeylerde bulunmaları arzu edilmektedir (Nas ve ark 2001).

Yağ asitleri besinlerle vücuda alınabildiği gibi, organizma tarafından da sentezlenebilmektedir. Yağ asitlerinin sentezi karaciğer ve yağ dokusu hücrelerinde iki şekilde gerçekleşir. Bu sentez şekillerinden biri yağ asitlerinin hücrenin sitozol kısmında yeniden yapılmasıdır ki "*de Nova*" olarak isimlendirilen bu sentez yolu oldukça karmaşık reaksiyonlar zincirinden oluşmaktadır (Şekil 2.2.1.). İkinci biyosentez yolu ise hücre içinde mevcut olan yağ asitlerinin, mitokondri ve mikrozoamlarda 2C atomlu birimlerin ilavesiyle daha uzun zincirli yağ asitlerine dönüştürülmesidir (Anonim 2006).



Şekil 2.2.1. Yağ asidi sentez sistemi (Anonim 2003).

2.3. MİKROBİYEL LİPİDLER

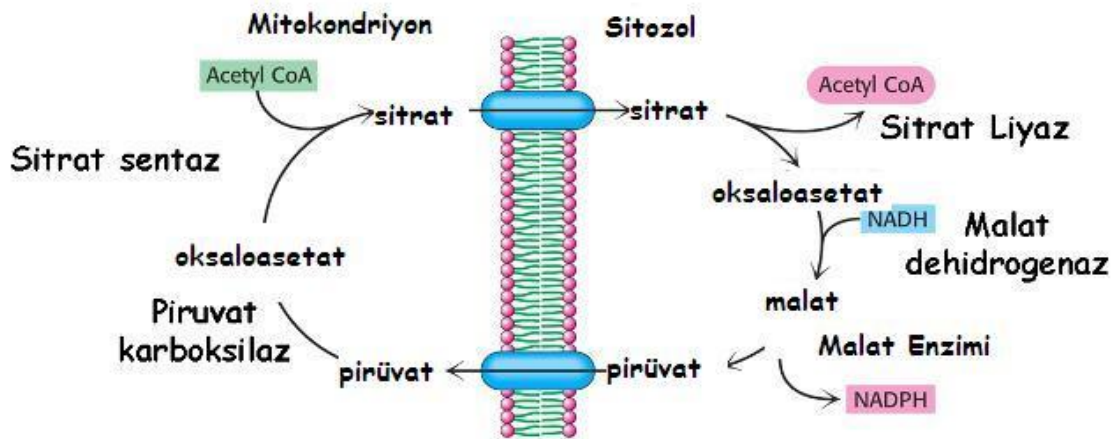
Dünyada, beslenme gereksinimi olan yağ ihtiyacının %80'i tarımsal ürünlerden, kalanı ise deniz ürünleri ve hayvansal kaynaklardan karşılanmaktadır. Ancak artan Dünya nüfusu ile bu ihtiyaçların karşılanmasının zorlaşması ve mevcut kaynakların bazılarının işlenme problemleri nedeniyle yeni kaynaklar aranmaya başlanmıştır. Yeni kaynak arayışında mikrobiyel lipid üretimi üzerinde en fazla durulan konu olmuştur. Atık materyallerin değerlendirilmesi üzerine gerçekleştirilen çalışmalar sonucu mikroorganizmaların atık materyalini gelişme ortamı olarak kullanabildiği ve farklı metabolitler üretebildiği saptanmıştır. Araştırmalar, prokaryotik ve ökaryotik mikroorganizmalarda (küf, maya, alg) desatüraz/elongaz sistemine gerek duyulmadan yağ asitlerinin sentezlenebildiğini göstermiştir. Bunun yanı sıra mikrobiyel yağ asidi üretiminde mikroorganizmanın sağlanan gelişme koşulları ile istenilen yağ asidini

üretme potansiyeline sahip olduğu da belirtilmiştir (Weete 1980, Ratledge ve Wilkinson 1988, Wallis ve ark 2002).

Hücre içinde yağ asidi ve yağ sentezini gerçekleştirebilen mikroorganizmalara “oleajinöz” (yağ üreten/yağlı) mikroorganizmalar denilmektedir. Oleajinöz organizmalar asetil-CoA üretiminde farklı bir mekanizmaya sahiptirler. Oleajinöz olmayan (yağ üretmeyen, non-oleajinöz) organizmalarda ise, asetil-CoA’lar, yağ asiti biyosentezinin temel maddeleridirler. Yağ asitleri, multi-enzim proteinler tarafından sentezlenmektedir. Oleajinöz mikroorganizmalarda gözlenen yağ asidi sentezi aşağıda özetlenmektedir:



Kültür ortamında azot tükendiği zaman, hücre solunumu ile glikozdan üretilen sitrik asit ortamda değişiklik meydana getirmektedir. Oluşan sitrik asit sadece oleajinöz hücrelerde bulunan ATP-sitrat liyaz enzimi tarafından parçalanmaktadır. Bu enzim asetil-CoA’yı oluşturmaktadır (Şekil 2.3.1.). Asetil-CoA yağ asidi sentez sisteminde, yağ asitlerinin hızlı dönüşümünün sağlanması için önemli rol oynamaktadır (Ratledge 2006, Vance ve Vance 2008).



Şekil 2.3.1. Yağ asitlerinin basitleştirilmiş biyosentez şeması (Anonim 2003).

Oleajinöz mikroorganizmalar mayalar, küfler, bakteriler ve deniz yosunlarıdır. Bu mikroorganizma grubunun 100 ya da daha fazla türünde hücre içinde büyük miktarda yağ depolama özelliği bulunmaktadır. Herhangi bir mikroorganizmanın depolayabileceği yağ miktarı türden türe, hatta tek türlerde ırktan ırka değişiklik gösterilebilmektedir. Bazı türler biyokütlesinin %25'i kadar yağ depolayabilmekte ve bazen bu oran %40'lardan daha yüksek değerlere (%70–80) kadar da artabilmektedir (Ratledge 2006, Vance ve Vance 2008).

2.3.1. Fungal Lipidler

Küf ve mayaların yağ üretebilme potansiyelleri uzun yıllardır araştırmalara konu oluşturmaktadır. Bu mikrobiyel yağlar genellikle “tek hücre yağı” (THY, SCO-single cell oil) olarak isimlendirilmekte ve bazı türlerde hücre ağırlığının yaklaşık %70 kadarını oluşturabilmektedir. Araştırmalarda mayaların küflerden daha iyi “tek hücre yağı” kaynağı olduğu belirtilmektedir. Yağ fabrikası olarak da adlandırılan oleajinöz maya ve küflere örnek olarak; *Cryptococcus curvatus*, *Lipomyces starkeyi*, *Rhodosporidium toruloides*, *Rhodotorula glutinis*, *Waltomyces lipofer* cinsi mayalar ve *Mortierella* spp., *Pythium* spp., *Thraustochytrium* spp., *Entomophthora* spp., *Mucor* spp. ve *Aspergillus* spp. cinsi küfler verilebilmektedir (Gunstone ve ark 2007, Ratledge ve Cohen 2008).

2.3.2. Bakteriyel Lipidler

Bakteriyel lipidler üzerine gerçekleştirilen çalışmalar küf ve mayalar kadar eski değildir. Bakteriyel lipid üretimi konusundaki çalışmaların kısıtlı olmasının çeşitli nedenleri bulunmaktadır. Birincisi lipidlerin ve bakteriler için uygun olmayan fizyolojik koşullarda ve düşük su aktivitesinde oluşabilmesi bir diğeri ise bakteriyel lipid ve lipid bazlı bileşiklerin izolasyon, saflaştırılma ve identifikasyon işlemlerinin uygulanabileceği tekniklerin tam anlamıyla geliştirilememiş olmasıdır (O'Leary 1962, Gunstone ve ark 2007).

Ancak son yıllarda araştırmacılar bakterilerin lipid ve yağ asidi üretebilme potansiyelleri konusuna ilgi göstermişlerdir. Özellikle fekal koliform indikatörü olarak bilinen *Escherichia coli* ile *Rhodopseudomonas* sp. ve *Shewanella* sp. türü bakterilerde gerçekleştirilmiş çalışmalar sonucunda tekli doymamış yağ asitlerinin yanı sıra EPA ve DHA ile fosfolipid bileşiklerinin varlığının saptandığı belirtilmiştir (Magnuson ve ark 1993, Wang ve ark 2009).

2.3.3. Algal Lipidler

2.3.3.1. Alglerin tanımı ve sınıflandırılması

Algler, polifiletik, nonkohesif ve oksijen üretebilen fotosentetik mikroorganizmalardır. Ancak “alg” teriminin taksonomide resmi bir sınıfı bulunmamaktadır. Tanımından yola çıkılarak, alglerin bitkiler ile aynı bölümde incelenmesi mümkündür. Algler de tıpkı bitkiler gibi fotosentez yapabilmekte, benzer depo bileşikleri oluşturabilmekte, predator ve parazitlere karşı aynı savunma mekanizmasını kullanmakta ve bunlara ilave olarak çoğu bitki ve alg türleri benzer morfolojik özellik göstermektedirler. Tüm benzerliklerin yanı sıra, algler bitkiler gibi kök, gövde ve yaprak yapısına ve belirli bir damarlı dokuya sahip değildir. Çoğu deniz yosunun bitki benzeri görüntü ve vejetatif hücre yapısı sergilemesine karşın alglerin embriyoları ya da üreme dokusunu koruyan ve saran hücre yapıları bulunmamaktadır (Van den Hoek ve ark 1995, Rajan 2001, Barsanti ve Gualtieri 2006, Graham ve ark 2009).

Algler için kabul edilebilir ve kolaylıkla tanımlanabilecek bir sınıflandırma sistemi oluşturmak, her geçen gün yeni tür ve sınıfların ortaya çıkması sebebiyle zorlaşmaktadır. Ancak polifiletik yapısı nedeniyle taksonomide bir şekilde yer alabilmektedirler. Barsanti ve Gualtieri (2006) algal grupları taksonomik olarak sınıflandırmaya çalışmışlardır (Çizelge 2.3.3.1.).

Çizelge 2.3.3.1. Farklı Alg Gruplarının Sınıflandırılması (Barsanti ve Gualtieri 2006)

Alem	Şube	Sınıf
Prokaryota eubacteria	Cyanophyta (Mavi-Yeşil Algler)	Cyanophyceae
	Prochlorophyta	Prochlorophyceae
Eukaryota	Glaucophyta	Glaucophyceae
	Rhodophyta	Bangiophyceae
		Florideophyceae
	Heterokontophyta	Chrysophyceae
		Xanthophyceae
		Eustigmatophyceae
		Bacillariophyceae
		Raphidophyceae
		Dictyochophyceae
		Phaeophyceae
	Haptophyta	Haptophyceae
	Cryptophyta	Cryptophyceae
	Dinophyta	Dinophyceae
	Euglenophyta	Euglenophyceae
	Chlorarachniophyta	Chlorarachniophyceae
	Chlorophyta (Yeşil Algler)	Prasinophyceae
		Chlorophyceae
		Ulvophyceae
		Cladophorophyceae
		Bryopsidophyceae
Zygnematophyceae		
Trentepohliophyceae		
Trebouxiophyceae		
Charophyceae		
Klebsormidiophyceae		
Dasycladophyceae		

Cyanophyta: Siyanobakterler büyüklükleri, tek hücreli yapıları ve koloni oluşturma özellikleri nedeniyle bakteri olarak, sucul ve fotosentetik özellik göstermeleri nedeniyle de “mavi-yeşil alg” olarak isimlendirilmişlerdir. Bu isimlendirme fotosentez

gerçekleştiren organizmalar için kullanılmaktadır; ancak bu kullanım siyanobakter ile algler arasında bir ilişki olduğunu göstermemektedir (Van den Hoek ve ark 1995, Rajan 2001).

Siyanobakterlerin ökaryotlar ile olan tek bağlantısı “kloroplast” içermeleridir. Siyanobakterler yapılarında, bitkilerde de var olan fotosentetik pigment “klorofil a”yı içermelerinin yanı sıra, fotosentez sırasında ışığı absorbe eden mavimsi “fikosiyanın” pigmentini de içerirler.

Mavi-yeşil alg olarak da adlandırılan siyanobakterler, farklı renklerde pigment içerebilmekte ve mavi-yeşil rengin dışında kahverengimsi ya da kıvımsı renkte de olabilmektedirler. Örneğin; Kızıldeniz’e rengini veren, habitatında bulunan *Oscillatoria* cinsi mavi-yeşil alglerdir. Hangi renkte olurlarsa olsunlar hepsi fotosentez yaparak kendi besinlerini üretebilmektedirler (Barsanti ve Gualtieri 2006, Graham ve ark 2009).

Siyanobakterler birçok bitkinin gelişimi ve sağlığı için çok önemli organizmalardır. Bitkilerin gelişimi için gerekli olan ve topraktan sağlayabildikleri azotu, inert atmosferik azottan kullanılabilir organik formuna dönüştürme yeteneğine sahip olan organizma gruplarından (Anonim 2009).

Chlorophyta: “Yeşil algler” flagellalardan, karmaşık çok hücreli talyum yapıları uzanan geniş spektrumda somatik farklılıklar içeren bir sınıftır. Talyum yapılarındaki farklılıklar sınıf içerisindeki klasifikasyonu belirlemektedir. Bazı türleri mikroskopik iken, bazı türleri belirgin morfolojik farklılıklar gösterip makroskopik özelliktedir.

Hücre yapılarına bakıldığında çok farklı sayıda ve düzende flagellaya sahip olabilmektedirler. Genellikle flagellalar benzer yapı göstermekte ancak farklı uzunlukta olmaktadır. Bu algler deniz suyu, tatlı su ve karasal habitatlarda gözlenebilmektedir.

Yeşil algler gelişmiş morfolojik özellik gösteren ökaryotlardır. Klorofil a, klorofil b, β -ve α -karoten ile ksantofiller gibi birçok pigmente sahiptirler. Endoplazmik retikulum membranları olmadığı halde yeşil algler sınıfında organizmayı çevreleyen iki

membranlı zarf şeklinde bir yapı mevcuttur. Yaşam döngüleri haplontiktir. En önemli depo karbonhidrat kaynağı “nişasta”dır. Yeşil algler foto-ototrofik oldukları gibi, heterotrofik de gelişme gösterebilmektedirler. Araştırmacılar bu grubun kara bitkilerinin, tatlı su algleri sınıfından direk olarak türemiş olduklarını düşünmektedirler (Barsanti ve Gualtieri 2006).

2.3.3.2. Alglerin lipid üretme potansiyelleri

Kitano ve ark (1997) inceledikleri 3 farklı mikroalg türünde (*Navicula saprophila*, *Rhodomonas salina*, *Nitzschia* sp.) EPA içeriğinin farklı kültür koşullarındaki değişimini gözlemlemişlerdir. Mikroalg kültürleri 24 gün boyunca test tüplerinde, 20°C ve 10 µohm ışık şiddeti ile gerçekleştirilen ön geliştirmenin ardından 300 mL'lik erlenmayerlerde 20°C, %0,04 CO₂ içeren hava ile 60 rpm hızındaki çalkalamalı inkübatörde fotoototrofik, heterotrofik ve mikсотrofik koşullarda, asetik asit varlığında ve asetik asitsiz ortamda, durağan faz başlangıcına kadar gelişmeye bırakılmıştır. Fotoototrofik koşullarda mikroalg türlerinde sırasıyla, %20,1, %15,4 ve %24,7 oranında EPA varlığı saptanmıştır. Asetik asitsiz ortamda ise bu oranlar %18,2, %20,2 ve %40,3 olarak belirlenmiştir. 10, 15 ve 20°C'de gerçekleştirilen denemelerde *Rhodomonas salina* 10°C'de gelişim gösterememiştir. *Navicula saprophila* en yüksek EPA üretimini %27,6 ile 10°C'de asetik asit varlığında, heterotrofik gelişim ortamında gösterirken, *Rhodomonas salina* 15°C'de %26,4 ile, *Nitzschia* sp. ise %40,3 ile yine heterotrofik gelişim ortamında göstermişlerdir.

Vazhappilly ve Chen (1998), 20 mikroalgal suşunu fotoototrofik ve heterotrofik kültür yöntemi ile geliştirerek, bu alg türlerinin EPA ve DHA üretme potansiyellerini incelemişlerdir. Kültür koşulları olarak 25°C, fotoototrofik kültürlemede 60 ohm'luk ışık kaynağı ve heterotrofik kültürlemede ise 200 rpm çalkalama işlemi kullanılmıştır. Suşların hepsinde ARA ve EPA üretimi gözlenirken, 20 suşun sadece 11'inde DHA saptanmıştır. En yüksek EPA üretimi sırasıyla %34,2 ile *Monodus subterraneus*, %31,3 ile *Chlorella minutissima* ve %21,4 ile *Phaeodactylum tricorutum* alglerinde bulunmuştur. En fazla DHA üretme potansiyeli gözlemlenen alg türleri ise sırasıyla %19,9 ile *Cryptocodinium cohnii*, %17,0 ile *Amphidinium carterae* ve %16,1 ile

Thraustochytrium aureum olmuştur. Bu kültür koşullarına ilave olarak 20 mikroalg şusu asetat ve glikoz karbon kaynağı kullanılarak heterotrofik olarak geliştirilmiş ve *Nannochloropsis oculata* dışındaki tüm suşlar asetat ve glikoz kaynaklarında gelişme göstermişlerdir.

de Swaaf ve ark (1999) heterotrofik mikroalg olarak bilinen *Cryptocodinium cohnii*'yi glikoz, maya ekstraktı ve deniz tuzundan oluşan besi yerlerinde, 25–27°C'de, lineer bir çalkalayıcıda 100 rpm devir hızında geliştirmişlerdir. Farklı kültür koşulları oluşturularak, 50–100 rpm arasında değişen çalkalama hızı, 27°C ve 30°C kültür sıcaklıkları ile glikoz ve galaktoz içeren iki farklı karbon kaynağıyla gelişme ortam koşullarını değiştirerek *C.cohnii*'nin DHA üretimi optimize etmeye çalışmışlardır. Çalışma sonucunda optimum gelişimin, yağ asidi üretiminin düşük sıcaklıklarda fazla olmasına karşın, 30°C gibi yüksek sıcaklıklarda ve malt ekstraktından oluşan besi yerinde gerçekleştiği, buna karşın yüksek glikoz konsantrasyonlarının ise gelişimi yavaşlattığı belirlenmiştir.

Yapılan diğer bir çalışmada *C.cohnii*'nin 3 farklı suşunun DHA üretebilme potansiyelleri incelenmiştir. Porphyridium besiyerinde 20–25°C'de, 150 rpm çalkalama hızında ve heterotrofik koşullarda geliştirilen suşlardan *C.cohnii* ATCC 30556, 9 g/L tuz konsantrasyonunda %56,9 oranı ile en fazla DHA üreten suş olmuştur. Araştırmada *C.cohnii* ATCC 30556 suşu için, artan tuz konsantrasyonu ile DHA oranının arttığı belirlenmiştir. *C.cohnii* ATCC 50051 ve *C.cohnii* RJH suşları için ise optimum tuz konsantrasyonu 5 g/L olarak belirlenmiştir. Bu konsantrasyonun üzerine çıkıldığında DHA varlığının artış göstermediği ancak daha düşük konsantrasyonlara bağlı olarak DHA oranının da düştüğü gözlemlenmiştir (Jiang ve ark 1999).

Wen ve Chen (2001) *Nitzschia laevis* üzerine yaptıkları çalışmada nitrat ve ure ile tripton ve maya ekstraktını azot kaynağı olarak denemişlerdir. Heterotrofik koşullarda ve LDM besi yerinde geliştirilen diatomun, kullanılan azot kaynakları esas alındığında EPA üretim potansiyelinin 20 g/L glikoz konsantrasyonunun üzerinde tripton ve maya ekstraktı ilavesi durumunda olumlu yönde etkilendiğini saptamışlardır.

Isochrysis galbana mikroalginin Provasoli 1/3 besi yeri ile klasik Jones besi yerindeki gelişmeleri incelenmiştir. Her iki besi yerinde de biyoreaktörler kullanılmış ve deniz suyu ilavesi yapılmıştır. Çalışma sonucunda Provasoli 1/3 besi yerinde gelişen *I.galbana*'nın daha yüksek oranda DHA ürettiği ve üretilen toplam yağ asidi miktarlarının sırasıyla %80,4 ile %78,8 olduğu bildirilmiştir (Poisson ve Ergan 2001).

Porphyridium cruentum'un yağ asitleri kompozisyonuna farklı kurutma yöntemlerinin etkisinin araştırıldığı bir çalışmada dış ortamda 80 L hacimdeki kapalı ince cam panel biyoreaktörde gündüz 20°C, gece 9°C sıcaklıklardaki gelişme sonrası *P.cruentum* 80 L/saat kapasiteli seperatör ile besi yerinden ayrılmıştır. Elde edilen biyoküteller etüv ve desikatör olmak üzere iki farklı kurutma yöntemiyle kurutulmuştur. Etüvde 37°C'de 48 saat süren kurutmanın ardından analiz edilen biyokütellede çoklu doymamış yağ asitleri %14,83, 25°C'de 72 saat süre ile desikatörde kurutulan biyokütellede ise PUFA oranı %17,41 olarak belirlenmiştir. Araştırmada etüvde kurutma yöntemiyle %7,42 olarak belirlenen EPA içeriği ise desikatörde gerçekleştirilen kurutma sonucu %6,57 olarak saptanmıştır (Durmaz ve ark 2002).

Bigogno ve ark (2002) yeşil algler sınıfına giren *Parietochloris incisa* alginin yağ asidi profilini incelemiş, ARA sentezleme ile depolama potansiyelinin %40 ile %60 arasında olduğunu belirtmişlerdir.

Yüksek DHA üretme potansiyeli olduğu bilinen heterotrofik deniz algi *Cryptocodinium cohnii* 2 L'lik laboratuvar ölçekli biyoreaktörlerde 27°C'de, %30–35'lik doygun hava ile inkübe edilmiştir. Glikoz ve asetik asitin karbon kaynağı olarak karşılaştırıldığı araştırma sonucunda glikozlu ortamda üretilen DHA oranı %46 iken asetik asitli ortamda bu oran %29 olarak saptanmıştır (de Swaaf ve ark 2003).

Rezanka ve ark (2003) 22–27°C sıcaklık, 20 µohm ışık şiddeti ve BG–11 besi yerinde fotoototrofik olarak geliştirdikleri altı tatlı su alginin yağ asidi kompozisyonlarını incelemişlerdir. Altı türün hepsinin genelde kısa karboksilik asit sentezi yaptığı, en belirgin yağ asidinin 16 C'lu yağ asidi olduğu ve heksadekanoik asidin türlere bağlı olarak %24 ile %40 arasında değişen oranlarda saptandığını bildirmişlerdir.

Rosa ve ark (2005) *Chlorella minutissima*, *Haematococcus pluvialis* ve *Tetraselmis suecica* türlerinin UFA kompozisyonunu incelemiştir. Araştırmada *C.minutissima* 13,64 µg/mg kuru ağırlık değerinde EPA sentezlerken, *H.pluvialis* ve *T.suecica* türlerinin ise sırasıyla 14,33 ve 18,89 µg/mg kuru ağırlık değerinde ALNA sentezlediği belirlenmiştir.

Wu ve ark (2005) *Schizochytrium* sp. S31 suşunun kültür koşullarının değişimine bağlı olarak DHA sentezleme potansiyelini araştırmışlardır. 30°C'de, %0,4 maya ekstraktı ve 20 g/L glikoz konsantrasyonunda Basal besi yerinde inkübasyona bırakılan suşun, 150 rpm hızındaki çalkalayıcıda en yüksek DHA üretkenliğini gösterdiği saptanmıştır. Elde edilen biyokütlenin %40'ını oluşturan yağ asitlerinin %13'ünü DHA içeriğinin oluşturduğu saptanmıştır.

Monodus subterraneus UTEX 151 suşunun optimum kültür koşullarını 25°C, 7,0 pH ve 10 klux ışık şiddeti olarak belirleyen Liu ve Lin (2005), bu kültür koşullarında *M.subterraneus* UTEX 151 suşunun EPA sentezleyebilme potansiyelini incelemiştir. 15, 20, 25 ve 30°C'deki gelişimleri de ayrıca gözlemlenen suşun 20 mM sodyum asetat konsantrasyonunda %31 ile %34 arasında değişen oranlarda EPA sentezlediği saptanmıştır.

Pratoomyot ve ark (2005) gelişme ve durağan fazında 10 farklı tür mikroalgin yağ asidi profilini incelemiştir. Sadece *Nitzschia* sp. ve *Thalassiosira* sp. türlerinde DHA saptanırken, EPA ve ARA ise *Nitzschia* sp., *Tetraselmis* sp. ve *Thalassiosira* sp. türlerinde saptanabilmiştir. Bu türlerde EPA içeriği, %23,68, %11,32 ve %4,18 olarak belirlenmiştir.

Feng ve ark (2005) glikoz ve sodyum tiyosülfatın değişen konsantrasyonlarda kullanımının *Chlorella* türünün gelişme kinetiği ve yağ asidi üretimi üzerine etkilerini araştırmışlardır. Glikoz konsantrasyonundaki artışın yağ asidi üretimini arttırdığı ancak sodyum tiyosülfat konsantrasyonunun sabit olduğu karışım ortamında glikoz

konsantrasyonun artmasının yağ asidi üretimini olumsuz etkilediği ve önemli düzeyde azalttığını vurgulamışlardır.

Chen ve ark (2007) *Nitzschia laevis* mikroalginin toplam lipidlerini “nötral lipider, glikolipidler ve fosfolipidler” olarak sınıflandırılmış ve nötral lipid kısmının %87,9’unun triaçilgliserol olduğunu belirlemişlerdir. Lipid sınıfları içerisinde en büyük oranda saptanan yağ asitlerinin; tetradekanoik asit, hegzadekanoik asit, palmitoleik asit ve toplam lipid oranının %75,9’unu oluşturan EPA olduğu bildirilmiştir.

Mendes ve ark (2007) DHA üretme potansiyeli yüksek olarak bilinen heterotrofik *Cryptocodinium cohnii*’nin karbon kaynağı olarak havuç pulpu şurubu ve azot kaynağı olarak da amonyum klorür ve maya ekstraktının kullanıldığı geliştirme koşullarında DHA üretme potansiyelini incelemişlerdir. Araştırma koşullarında maya ekstraktının en iyi azot kaynağı ve 1:10,5 oranında seyreltilen havuç pulpu şurubunun en iyi karbon kaynağı olduğunu elde edilen 1,9 g/L DHA konsantrasyonu ve 18,5 mg/L hacimsel oran sonucu ile ifade edilmiştir.

Petkov ve Garcia (2007) 4 farklı *Chlorella* türü ile yaptıkları çalışmada yağ asidi kompozisyonunu araştırmışlardır. Araştırma sonucunda fotoototrofik ve heterotrofik koşullarda ayrı ayrı çalışılan türlerde 14:0, 16:0, 16:1, 16:2, 16:3, 18:0, 18:1, 18:2 ve α -18:3 yağ asitlerinin *Chlorella*’nın yağ asidi kompozisyonunu oluşturdukları belirlenmiştir. Bakteriyel bulaşma sonucu, 20 karbonlu yağ asitlerinin meydana geldiği vurgulanmıştır.

Zhu ve ark (2007) *Schizochytrium limacinum*’u 4 farklı sıcaklıkta (16, 23, 30 ve 37°C) ve 4 farklı tuz konsantrasyonunda (%0, %0,9, %1,8, %2,7 ve %3,6) geliştirerek lipid oluşumu ile kompozisyonundaki değişimi incelemişlerdir. *Schizochytrium limacinum*’un 16–30°C aralığında ve %0,9–3,6 tuz konsantrasyonunda gelişimi olumlu etkilenmiş ve toplam lipid miktarında önemli artışlar olmuştur. Yüksek sıcaklık (30 ve 37°C) ile tuz içermeyen ortamda 15 ve 17 karbonlu yağ asitlerinin miktarında artış saptanırken, DHA içeriği ve konsantrasyonu sıcaklık artışıyla azalmıştır. Bununla

birlikte ARA oranı sıcaklık ile doğru orantılı olarak artış göstermiş ve EPA miktarında önemli bir değişim olmadığı belirlenmiştir.

Spirulina platensis'in SOT besiyerinde GLNA üretme potansiyelinin incelendiği çalışmada 28–30°C'de fotobiyoreaktörlerde geliştirilen *S.platensis*'in nötral lipid, glikolipid ve fosfolipid miktarları sırasıyla %77, %15,6 ve %7,4 olarak saptanırken GLA miktarı liyofilize edilen biyokütle miktarının %0,64'ü, yağ asidi metil esterlerinin %15,8'i olarak saptanmıştır (Sajilata ve ark 2008).

Gıda kaynağı olarak kullanılan deniz alglerinden *Pavlova lutheri*'nin yağ asidi kompozisyonu üzerine ışık kaynaklarının etkisinin araştırıldığı çalışmada *P.lutheri* 15°C'de farklı ışık yoğunluklarında ve ışıklandırma zamanlarında geliştirilmiştir. Ayrıca gelişme ortamı olarak asetat ve bikarbonat içeren deniz suyu kullanılarak farklı karbon kaynaklarının da yağ asidi kompozisyonuna etkisi incelenmiştir. Her iki karbon kaynağında da düşük şiddetli ışıkta daha yüksek oranda yağ asidi üretildiği saptanmıştır. Işık yoğunluğunun azalması ile EPA miktarı artarken, DHA miktarı ise ışık yoğunluğunun artması ile artmıştır (Guihéneuf ve ark 2009).

Liang ve ark (2009), yeşil alg sınıfından olan *Chlorella*'nın ototrofik, heterotrofik ve miksotrofik gelişme koşullarındaki biyokütle miktarı ve lipid üretme potansiyelini incelemişlerdir. Ototrofik koşullarda %38 olarak belirlenen lipid içeriğinin heterotrofik koşullardaki gelişmeye kıyasla daha düşük oranda olduğu belirlenirken optimum lipid üretimi besi ortamına 2 g/L glikoz ilavesi ile 54 mg/Lgün düzeyinde lipid miktarı ile sağlandığı belirlenmiştir.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. MATERYAL

3.1.1. Algal Kùltürler

Çalışmada 4 farklı mikroalg türü kullanılmıştır. Kullanılan; *Chlorella* sp. (Şekil 3.1.1.1.) ve *Ankistrodesmus* sp. (Şekil 3.1.1.2.) türü yeşil algler ile *Chroococcus* sp. (Şekil 3.1.1.3.) ve *Oscillatoria* sp. (Şekil 3.1.1.4.) türü mavi-yeşil algler Gazi Üniversitesi Alg Koleksiyonu Laboratuvarı (Gazi-MACC)'ndan temin edilmiştir.



Şekil 3.1.1.1. *Chlorella* sp. stok kùltürü

3.1.2. İnokulum Hazırlanması

Gazi-MACC laboratuvarından temin edilen kùltürler, steril ortamda, hazırlanan 100mL/250mL besi yerlerine 1 mL hacimde inoküle edilmiştir.



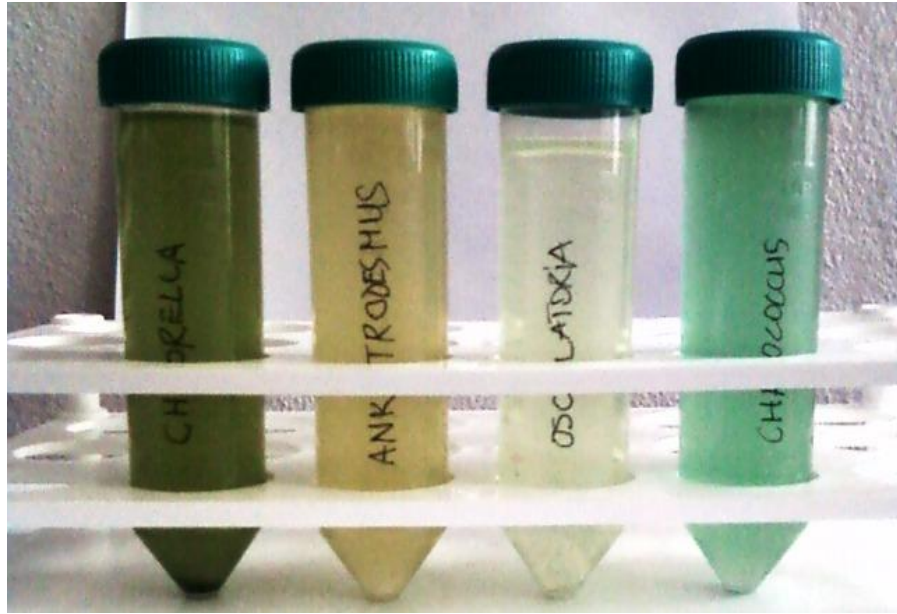
Şekil 3.1.1.2. Ankistrodesmus sp. stok kültürü



Şekil 3.1.1.3. Oscillatoria sp. stok kültürü



Şekil 3.1.1.4. Chroococcus sp. stok kültürü



Şekil 3.1.1.5. Mikroalg stok kültürü

Kültürler sterilize edilmiş 50 mL tatlı su içeren saklama kaplarına yine 1 mL olacak şekilde inoküle edilmiş ve stok kültürler (Şekil 3.1.1.5.) oluşturulmuştur.

3.1.3. Gelişme Ortamı

Çalışılan mikroalglerin “tatlı su mikroalgleri” olmaları sebebiyle, doğal ortama en yakın özellik gösteren tatlı su besi yerleri tercih edilmiştir. Sıklıkla kullanılan bazı tatlı su besi yerleri; “BG–11, Diatom, Basal Bold, Beijerinck” besi yerleridir. Çalışmamızda besi yeri olarak yeşil algler için Basal Bold, mavi-yeşil algler için BG–11 besi yeri tercih edilmiş ve bileşimleri Çizelge 3.1.3.1. ile 3.1.3.2. ’de gösterilmiştir.

Çizelge 3.1.3.1. Basal Bold Besiyeri Bileşimi (Barsanti ve Gualtieri 2006)

REAKTİF	g/L
NaNO ₃	25,00 g
CaCl ₂ • 2H ₂ O	2,50 g
MgSO ₄ • 7H ₂ O	7,50 g
K ₂ HPO ₄	7,50 g
KH ₂ PO ₄	17,50 g
NaCl	2,50 g
Alkali EDTA Stok Çözeltisi	
EDTA	50 g
KOH	31 g
Asitlendirilmiş Demir Stok Çözeltisi	
FeSO ₄ • 7H ₂ O	4,98 g
H ₂ SO ₄	1,0 mL
Bor Stok Çözeltisi	
H ₃ BO ₃	11,42 g
Mikroelement Stok Çözeltisi	
ZnSO ₄ • 7H ₂ O	8,82 g
MnCl ₂ • 4H ₂ O	1,44 g
MoO ₃	0,71 g
CuSO ₄ • 5H ₂ O	1,57 g
Co(NO ₃) ₂ • 6H ₂ O	0,49 g

Çizelge 3.1.3.2. BG-11 Besiyeri Bileşimi (Barsanti ve Gualtieri 2006)

REAKTİF	g/L
EDTANa ₂ Mg	0,001
Amonyum Demir Sitrat	0,006
Sitrik Asit	0,006
CaCl ₂ *2H ₂ O	0,027
MgSO ₄ *7H ₂ O	0,075
K ₂ HPO ₄ *3H ₂ O	0,004
Na ₂ CO ₃	0,02
NaNO ₃	1,5
Mikroelement Stok Çözeltisi	1 mL
Mikroelement Stok Çözeltisi	
H ₃ BO ₃	2,860
MnCl ₂ *4H ₂ O	1,810
ZnSO ₄ *7H ₂ O	0,222
Na ₂ MoO ₄ *2H ₂ O	0,390
CuSO ₄ *5H ₂ O	0,079
Co(NO ₃) ₂ *6H ₂ O	0,0494

3.1.4. İnkübasyon Koşulları

100 mL besi yeri içeren örnek 250 mL erlene 1 mL kültür inoküle edilmiş ve 30°C’de 30 rpm devir hızındaki çalkalamalı inkübatörde inkübasyona bırakılmıştır. Ön zenginleştirme periyodunun (15 gün) ardından örnekler 600 mL besi yeri içeren 2 000 mL’lik erlenlere aktarılmış ve 30 gün süren inkübasyon süresi sonunda gelişmeleri gözlemlenmiştir.

Gelişme süreleri boyunca periyodik olarak hücrelerin optik yoğunluğu spektrofotometre (Shimadzu UV-1800) ile ölçülmüş ve hücre yoğunluğu belirlenmiştir (Liang ve ark 2009).

3.1.5. Mikroalg Hücrelerinin Besi Ortamından Ayrılması

İnkübasyon sonunda kültür ortamı, yağ asidi kompozisyonu analizinde kullanılacak mikroalg kültürünü elde etmek amacıyla vakum oluşturulmuş ortamda Buchner hunisi yardımı ile külsüz filtre kağıdından süzölmüştür. Külsüz filtre kağıdı üzerinde kalan biyokütle toplanarak darası önceden alınmış erlene konulmuş ve hücrelerin yağ ağırlıkları gravimetrik olarak belirlenmiştir. Hücreler yağ asidi analizi yapılmak üzere -20°C’de saklanmıştır.

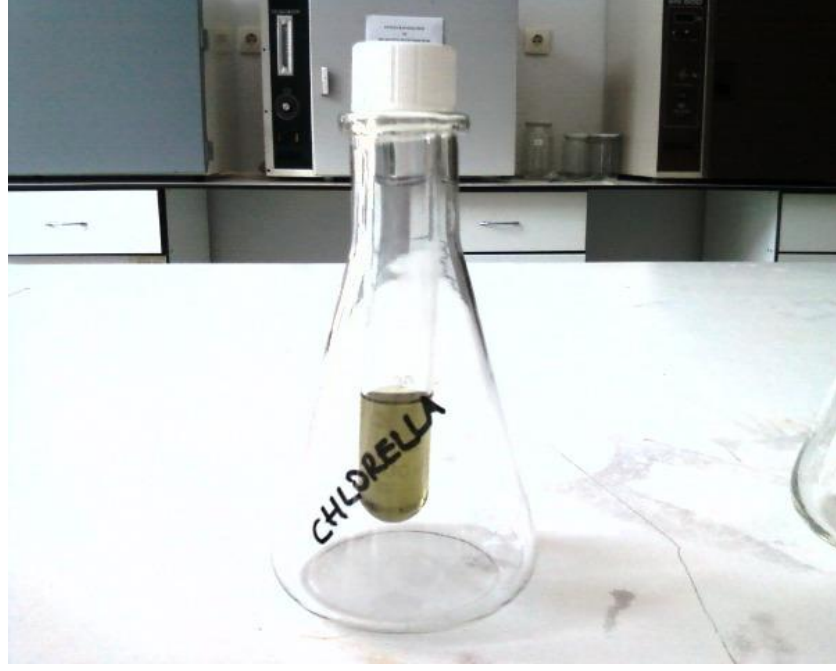
3.2. YÖNTEM

3.2.1. Mikroalg Kültürlerinden Yağ Ekstraksiyonu

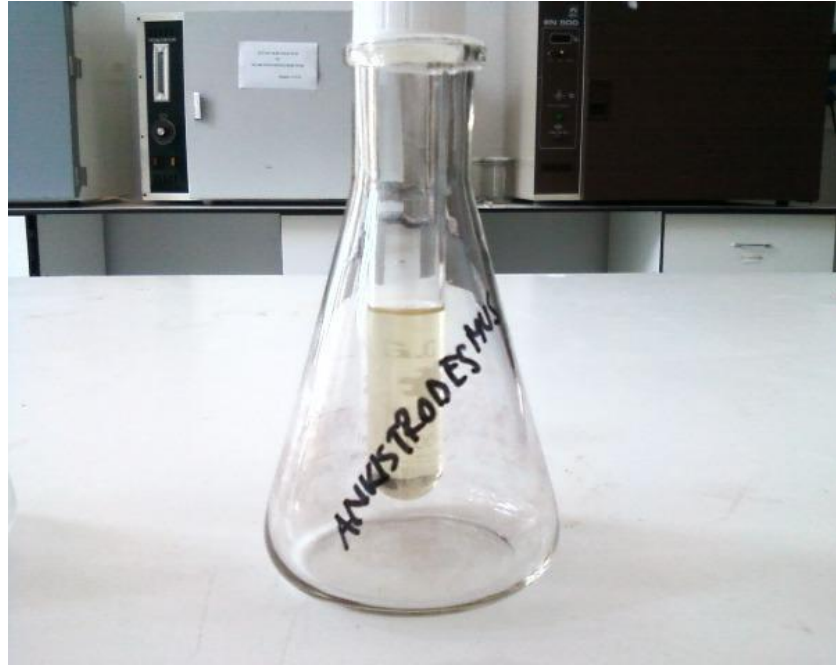
Dondurulmuş biyokütleden 0.5 g tartılarak 150 mL kloroform/metanol/asetik asit (2:1:1, v/v/v) karışımına aktarılmış ve 18 saat boyunca oda sıcaklığında bekletilmiştir. Bu süre sonunda organik fazın ayrılması için filtrasyon gerçekleştirilmiştir. Filtre edilen karışım 500 mL’lik ayırma hunilerine aktarılmış ve iki defa 100 mL distile su ile yıkanmıştır. Her yıkama işleminin ardından anorganik faz ortamdaki uzaklaştırılmış, organik fazda kalan su, susuz MgSO₄ yardımı ile bağlandıktan sonra çözücü vakum altında buharlaştırılmıştır (Folch ve ark. 1957).

3.2.2. Yağ Asidi Metil Esterlerinin Hazırlanması

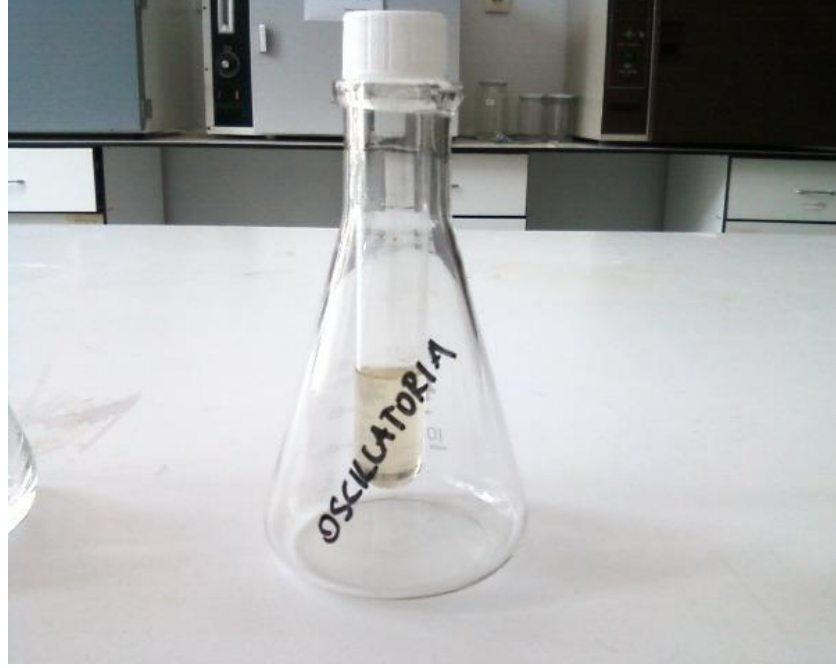
Yağ ekstraksiyonu yapılan yağ biyokütleyle IUPAC metoduna göre (COMMISSION REGULATION (EC) No 796/2002, 6 Mayıs 2002) soğuk esterleştirme uygulanarak yağ asidi metil esterleri oluşturulmuştur. Şekil 3.2.2.1’de *Chlorella* sp., Şekil 3.2.2.2’de *Ankistrodesmus* sp., Şekil 3.2.2.3’de *Oscillatoria* sp. ve Şekil 3.2.2.4’te *Choroococcus* sp. için oluşturulan metil ester görüntüleri verilmiştir.



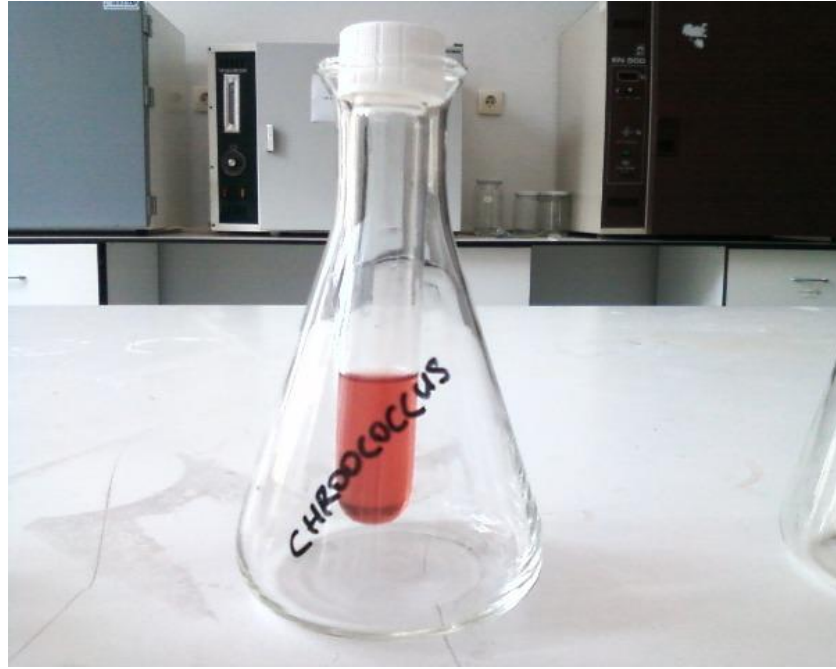
Şekil 3.2.2.1. Chlorella sp. yağ asidi metil esterleri



Şekil 3.2.2.2. Ankistrodesmus sp. yağ asidi metil esterleri



Şekil 3.2.2.3. Oscillatoria sp. yağ asidi metil esteri



Şekil 3.2.2.4. Chroococcus sp. yağ asidi metil esteri

3.2.3. Mikroalg Kùltürlerinde Yağ Asidi Profilinin Belirlenmesi

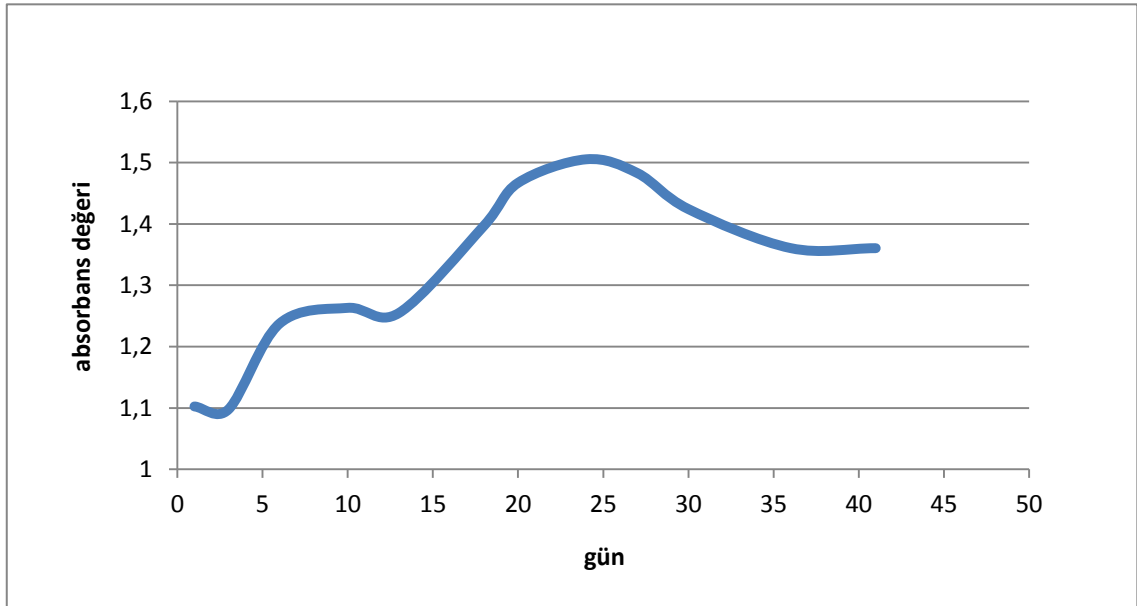
Yağ asidi profili alev iyonize detektörlü ve kapiler kolonlu Gaz Kromatografisi (Agilent DB-23, 60 m x 0,25 mm x 0,15 mm film) ile belirlenmiştir. Kolon fırın sıcaklığı 130°C'den başlayıp dakikada 6,5°C artarak 170°C'ye ulaşp bu sıcaklıkta 1 dakika, ardından dakikada 2,15°C artarak 215°C'ye ulaşıldığında bu sıcaklıkta 12 dakika ve son olarak 230°C'ye ulaşp bu sıcaklıkta 3 dakika bekletilmiştir. Taşıyıcı gaz olarak azot (N) kullanılmıştır ve enjeksiyon hacmi 1µL'dir. Pikler alıkonma zamanları ve aynı koşullarda analiz edilmiş yağ asidi metil ester standartları esas alınarak tanımlanmıştır. Pik alanları HP bilgisayar sistemi ile ölçülmüş ve sonuçlar w/w (%) toplam yağ asidi olarak ifade edilmiştir.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

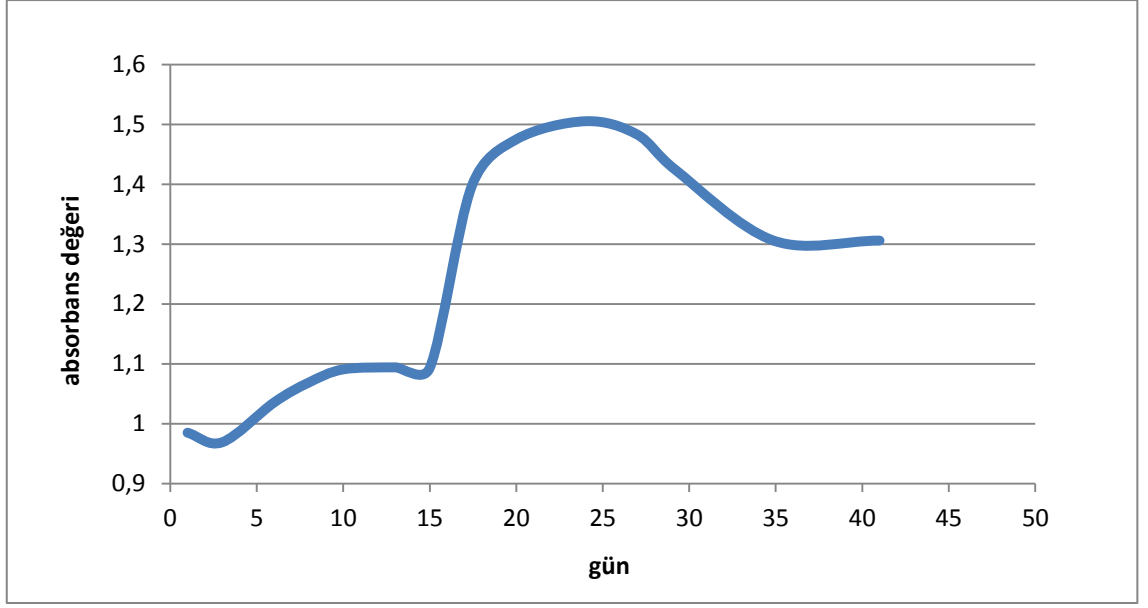
4.1. Mikroalg Hücrelerinin Sayımı ve Besi Ortamından Ayrılması

Chlorella sp. mikroalginin ön inkübasyon koşullarındaki hücre sayımı “Thoma Lami” ile gerçekleştirilmiştir. Gelişme evresinde hücre sayılarındaki ve büyüklüğündeki artış sebebiyle bu yöntemin kullanılmasının zor olacağı düşünülerek, çalışmada kullanılan tüm mikroalg türlerinin hücre sayımı spektrofotometrik yöntem ile absorbans değerinin ölçülmesiyle gerçekleştirilmiştir.

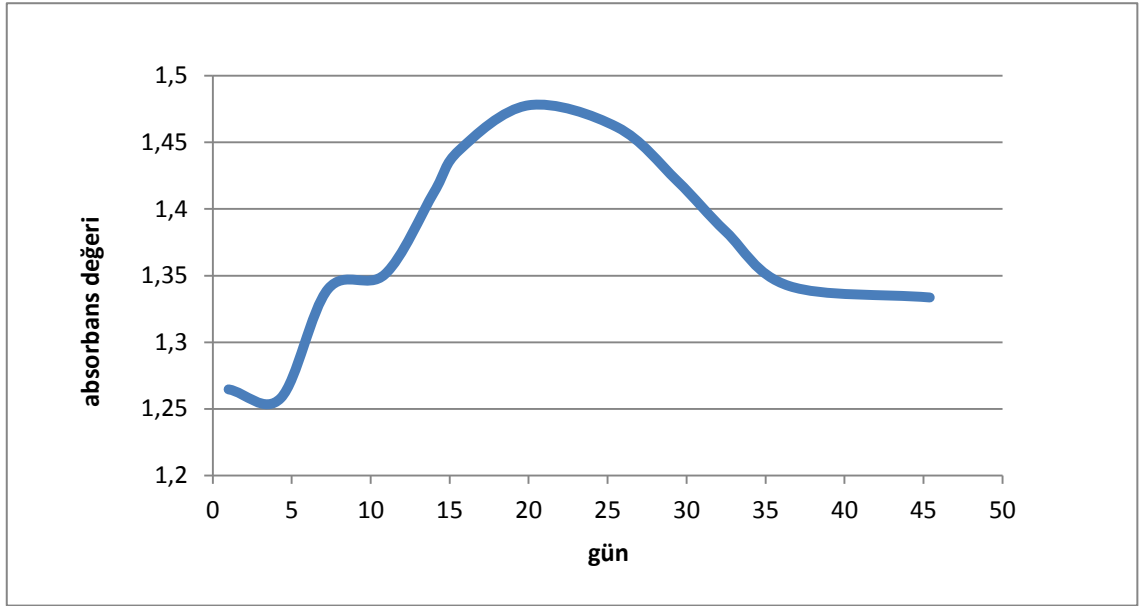
Mikroorganizma logaritmik gelişme fazından durağan faza geçtiği evrede hücrelerin besi ortamından ayrılması işlemi uygulanmıştır. Her mikroalg türü için oluşturulan gelişim eğrileri sırasıyla Şekil 4.1.1., Şekil 4.1.2., Şekil 4.1.3. ve Şekil 4.1.4.’te gösterilmiştir.



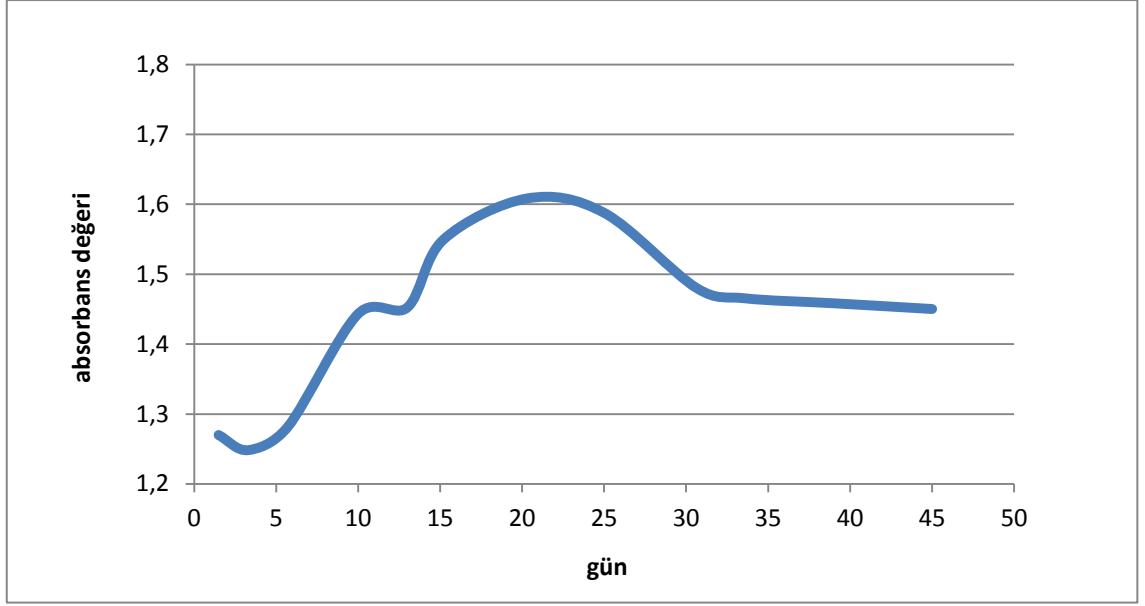
Şekil 4.1.1. İnkübasyon sırasında *Chlorella* sp. hücre yoğunluğu esas alınarak oluşturulan gelişim eğrisi



Şekil 4.1.2. İnkübasyon sırasında *Ankistrodesmus* sp. hücre yoğunluğu esas alınarak oluşturulan gelişim eğrisi



Şekil 4.1.3. İnkübasyon sırasında *Oscillatoria* sp. hücre yoğunluğu esas alınarak oluşturulan gelişim eğrisi



Şekil 4.1.4. İnkübasyon sırasında *Chroococcus* sp. hücre yoğunluğu esas alınarak oluşturulan gelişim eğrisi

de Swaaf ve ark (1999, 2003) çeşitli kültür koşullarında mikroalg hücrelerini geliştirmeden önce 15 günlük ön geliştirme uygulamışlardır. Bu süreç hücre gelişiminin üslü çoğalma fazından durağan faza geçtiği dönemi belirtmektedir. Wu ve ark (2005) ile Pratoomyot ve ark (2005) ise ön geliştirme sürecinin, farklı inkübasyon koşullarına rağmen çalkalama hızının artmasına bağlı olarak kısaldığını bildirmişlerdir.

Yapılan diğer çalışmalarda hücrelerin ön gelişme sonrasında logaritmik faz yerine durağan fazda aktarılmasının ve gelişme sonrası yine yine aynı aşamada besi ortamından ayrılmasının yağ asidi profilini olumlu yönde etkilediği belirtilirken söz konusu durum mikroalg hücrelerinin durağan fazda azot limitasyonuna maruz kalmaları sonucu daha fazla yağ asidi üretmelerine bağlı olduğu yönünde açıklanmıştır (Van den Hoek ve ark 1995, Wongrat 1995, Brown 2002).

4.2. Mikroalg Türlerinin Yağ Asidi Profilleri

Alglerin insan beslenmesindeki önemi yapısında yüksek miktarlarda bulunan protein, vitamin, amino asit ve mineral maddelerden kaynaklanmaktadır (Southgate 1990, Lahaye 1991, Dawes 1998, Pal ve ark 1998). Biyokimyasal özellikleri türe, türün

yayımlı gösterdiği bölgeye, mevsime, su sıcaklığına ve ışıklandırma süresine bağlı olarak değişim göstermekle birlikte yağ içerikleri diğer deniz ürünlerine göre oldukça düşük olup, genellikle tüm alg türlerinde %1–5 arasında değişmektedir (Aguilera-Morales ve ark 2005). Yeşil alglerde yağ miktarı %0,6 ile %4,3 arasında değişiklik gösterirken (Parekh ve ark 1977), diğer mikroalgler için bu oran %2–%12,3 olarak belirtilmektedir (Siron ve ark 1989, Sallal ve ark 1990, Wada ve Murata 1990, Chernova ve ark 2001, Bigogno ve ark 2002).

Son yıllarda alglerin önemi diğer bitkisel ve hayvansal kaynaklı yağ asitlerine benzer ya da alternatif olan esansiyel yağ asitleri bileşimi ile de ilişkilendirilmektedir (Darcy-Vrillon 1993, Vazhappily ve Chen 1998, de Swaaf ve ark 1999, Rosa ve ark 2005, Mendes ve ark 2007).

Besi ortamında geliştirilerek incelenen 4 farklı mikroalg türünde biyokütlerdeki lipid miktarlarının $0,14 \pm 0,0085$ ile $1,72 \pm 0,0071$ g/100 g arasında değiştiği belirlenmiştir.

En yüksek biyokütlerdeki lipid miktarı *Chroococcus* mikroalginde gözlenirken en düşük *Ankistrodesmus* türünde belirlenmiştir. Bununla birlikte besi ortamında en iyi gelişme gösteren mikroalg *Ankistrodesmus* iken *Chroococcus* türünün en düşük biyoküt oranına sahip olduğu saptanmıştır (Çizelge 4.2.1.). Khotimchenko ve Yakovleva (2005) mikroalglerin lipidler gibi yapısal ve depo maddelerinin miktarlarını ve bileşimlerini değiştirerek gelişme ortam koşullarına kendilerini adapte ettiklerini bildirmektedir. Brown ve ark (1993) *Isochrysis galbana* türünde hücre lipid miktarının ışık şiddetinin azalmasına paralel olarak azaldığını, bununla birlikte yüksek ışık şiddetinin fotosentetik sisteme zarar verdiğini ve gelişmeyi etkilediğini gözlemlemişlerdir.

Çizelge 4.2.1. Algal Biyokütlerdeki Lipid Miktarları

Mikroalg Türü	Biyokütle (g)	% Lipid
Chlorella sp.	21,9627	0,43 ± 0,0028
Ankistrodesmus sp.	11,2871	0,14 ± 0,0085
Oscillatoria sp.	16,2162	0,95 ± 0,0057
Chroococcus sp.	8,3274	1,72 ± 0,0071

Mikroalg kültürlerinin GC ile belirlenen yağ asidi kompozisyonları Çizelge 4.2.2., 4.2.3., 4.2.4. ile 4.2.5.'de verilmiştir. Doymuş yağ asitlerinin oranı en yüksek *Chlorella* türünde (%52,37) bulunurken, doymamış yağ asidi oranı en yüksek *Chroococcus* türünde (%74,27) belirlenmiştir.

Araştırma bulgularına göre klorofil içeren ve fotosentez yeteneği olduğu için genellikle bitki aleminde değerlendirilen *Chlorella* mikroalginin diğer türlere göre en yüksek doymuş yağ asidi değerine (%52,36) karşılık en düşük doymamış yağ asidi değerini (%47,64) gösterdiği belirlenmiştir (Çizelge 4.2.2.). Bu alg türünde gelişme sırasında protein sentezi artarken hücreler yaşlandıkça karbonhidrat ile yağ sentezinin arttığı bildirilmektedir (Seto ve ark 1984).

Chlorella türünde en önemli doymuş yağ asitleri stearik ($26,70 \pm 0,0001$), palmitik ($21,05 \pm 0,0089$) ile heptadekaenoik asit ($1,40 \pm 0,0042$) iken en yüksek doymamış yağ asitleri oleik ($23,48 \pm 0,0005$), α -linoleik ($11,78 \pm 0,0078$) ve ikozatrienoik ($2,83 \pm 0,0002$) asit olarak belirlenmiştir.

Belirlenen oleik asit değeri diğer araştırmacıların bulgularından yüksektir (Rosa ve ark 2005, Petkov ve Garcia 2007, Widjaja ve ark 2009, Liu ve ark 2010). Pratoomyot ve ark (2005) yaptıkları araştırmayla benzer olarak ω -3 yağ asitlerinden olan EPA bulunmazken şartlı esansiyel bir yağ asidi olan DHA %1,53 olarak belirlenmiştir.

Bulut (2009) laboratuvar koşullarında *Chlorella vulgaris*'i kültüre almış ve besin eksikliği ile bileşim farklılığının yağ içeriğine olan etkisini incelemiştir. En yüksek yağ içeriği %100 N eksikliği uygulanan grupta %35,60 olarak saptanmış ve 0,18 g/L biyokütle elde edilmiştir.

Çizelge 4.2.2. *Chlorella* sp. Mikroalginin Yağ Asidi Kompozisyonu

Yağ Asidi	%
Kaprilik asit (C8:0)	nd
Kaprik asit (C10:0)	nd
Laurik asit (C12:0)	0,24 ± 0,0006
Miristik asit (C14:0)	0,94 ± 0,0001
Miristoleik asit (C14:1,<i>cis</i>-9)	0,50 ± 0,0004
Pentadekanoik asit (C15:0)	0,44 ± 0,0007
<i>cis</i>-10-Pentadesenoik asit (15:1)	0,37 ± 0,0056
Palmitik asit (C16:0)	21,05 ± 0,0089
Palmitoleik asit (C16:1,<i>cis</i>-9)	0,82 ± 0,0014
Heptadekaenoik asit (C17:0)	1,40 ± 0,0042
<i>cis</i>-10-Heptadesenoik asit (C17:1)	1,26 ± 0,0014
Stearik asit (C18:0)	26,70 ± 0,0001
Oleik asit (C18:1,<i>cis</i>-9)	23,48 ± 0,0005
Elaidik asit (C18:1, <i>trans</i>-9)	2,19 ± 0,0001
Linoleik asit (C18:2,<i>cis</i>-9,12)	1,46 ± 0,0002
Linolenik asit (C18:3,<i>cis</i>-9,12,15)	11,78 ± 0,0004
Araşidik asit (C20:0)	0,65 ± 0,0002
<i>cis</i>-11-Ikozenoik asit (C20:1)	0,42 ± 0,00003
<i>cis</i>-11,14,17-İkozatrienoik asit (C20:3)	2,83 ± 0,0002
Araşidonik asit (C20:4,<i>cis</i>-5,8,11,14)	nd
<i>cis</i>-5,8,11,14,17-İkozapentaenoik asit (C20:5)	nd
Behenik asit (C22:0)	0,28 ± 0,0001
Erusik asit (C22:1,<i>cis</i>-13)	1,02 ± 0,0011
<i>cis</i>-4,7,10,13,16,19-Dokozahekzaenoik asit (C22:6)	1,54 ± 0,0007
Trikozanoik asit (C23:0)	0,68 ± 0,0002
Lignoserik asit (C24:0)	nd

*nd: tespit edilebilir sınırn altında

Çizelge 4.2.3. *Ankistrodesmus* sp. Mikroalginin Yağ Asidi Kompozisyonu

Yağ Asidi	%
Kaprilik asit (C8:0)	1,01 ± 0,0014
Kaprik asit (C10:0)	0,24 ± 0,0002
Laurik asit (C12:0)	0,25 ± 0,0004
Miristik asit (C14:0)	0,99 ± 0,0005
Miristoleik asit (C14:1,<i>cis</i>-9)	1,25 ± 0,0004
Pentadekanoik asit (C15:0)	0,45 ± 0,0014
<i>cis</i>-10-Pentadesenoik asit (15:1)	0,48 ± 0,0028
Palmitik asit (C16:0)	19,94 ± 0,0011
Palmitoleik asit (C16:1,<i>cis</i>-9)	6,19 ± 0,0042
Heptadekaenoik asit (C17:0)	0,44 ± 0,0056
<i>cis</i>-10-Heptadesenoik asit (C17:1)	0,37 ± 0,0002
Stearik asit (C18:0)	19,83 ± 0,0028
Oleik asit (C18:1,<i>cis</i>-9)	36,83 ± 0,0007
Elaidik asit (C18:1, <i>trans</i>-9)	1,66 ± 0,0002
Linoleik asit (C18:2,<i>cis</i>-9,12)	0,39 ± 0,0012
Linolenik asit (C18:3,<i>cis</i>-9,12,15)	6,45 ± 0,0070
Araşidik asit (C20:0)	nd
<i>cis</i>-11-Ikozenoik asit (C20:1)	0,26 ± 0,0004
<i>cis</i>-11,14,17-İkozatrienoik asit (C20:3)	nd
Araşidonik asit (C20:4,<i>cis</i>-5,8,11,14)	nd
<i>cis</i>-5,8,11,14,17-İkozapentaenoik asit (C20:5)	0,35 ± 0,0007
Behenik asit (C22:0)	1,34 ± 0,0004
Erusik asit (C22:1,<i>cis</i>-13)	0,27 ± 0,0004
<i>cis</i>-4,7,10,13,16,19-Dokozahekzaenoik asit (C22:6)	0,28 ± 0,0002
Trikozanoik asit (C23:0)	0,35 ± 0,0004
Lignoserik asit (C24:0)	0,30 ± 0,0007

*nd: tespit edilebilir sınırın altında

Çizelge 4.2.4. *Oscillatoria* sp. Mikroalginin Yağ Asidi Kompozisyonu

Yağ Asidi	%
Kaprilik asit (C8:0)	nd
Kaprik asit (C10:0)	nd
Laurik asit (C12:0)	0,26 ± 0,0007
Miristik asit (C14:0)	0,89 ± 0,0004
Miristoleik asit (C14:1, <i>cis</i> -9)	3,63 ± 0,0056
Pentadekanoik asit (C15:0)	0,43 ± 0,0002
<i>cis</i> -10-Pentadesenoik asit (15:1)	8,41 ± 0,0005
Palmitik asit (C16:0)	15,87 ± 0,0011
Palmitoleik asit (C16:1, <i>cis</i> -9)	6,078 ± 0,0014
Heptadekaenoik asit (C17:0)	0,43 ± 0,0005
<i>cis</i> -10-Heptadesenoik asit (C17:1)	0,57 ± 0,0007
Stearik asit (C18:0)	15,83 ± 0,0011
Oleik asit (C18:1, <i>cis</i> -9)	38,51 ± 0,0056
Elaidik asit (C18:1, <i>trans</i> -9)	2,088 ± 0,0056
Linoleik asit (C18:2, <i>cis</i> -9,12)	0,30 ± 0,0007
Linolenik asit (C18:3, <i>cis</i> -9,12,15)	1,48 ± 0,0014
Araşidik asit (C20:0)	nd
<i>cis</i> -11-Ikozenoik asit (C20:1)	0,34 ± 0,0002
<i>cis</i> -11,14,17-İkozatrienoik asit (C20:3)	nd
Araşidonik asit (C20:4, <i>cis</i> -5,8,11,14)	nd
<i>cis</i> -5,8,11,14,17-İkozapentaenoik asit (C20:5)	0,30 ± 0,0005
Behenik asit (C22:0)	nd
Erusik asit (C22:1, <i>cis</i> -13)	1,00 ± 0,0002
<i>cis</i> -4,7,10,13,16,19-Dokozahekzaenoik asit (C22:6)	2,22 ± 0,0056
Trikozanoik asit (C23:0)	1,03 ± 0,0014
Lignoserik asit (C24:0)	nd

*nd: tespit edilebilir sınırın altında

Çizelge 4.2.5. *Chroococcus* sp. Mikroalginin Yağ Asidi Kompozisyonu

Yağ Asidi	%
Kaprilik asit (C8:0)	0,39 ± 0,0004
Kaprik asit (C10:0)	nd
Laurik asit (C12:0)	0,37 ± 0,0004
Miristik asit (C14:0)	1,24 ± 0,0005
Miristoleik asit (C14:1, <i>cis</i> -9)	0,91 ± 0,0002
Pentadekanoik asit (C15:0)	0,85 ± 0,0007
<i>cis</i> -10-Pentadesenoik asit (15:1)	8,54 ± 0,0002
Palmitik asit (C16:0)	6,99 ± 0,0009
Palmitoleik asit (C16:1, <i>cis</i> -9)	3,67 ± 0,0014
Heptadekaenoik asit (C17:0)	nd
<i>cis</i> -10-Heptadesenoik asit (C17:1)	1,12 ± 0,0007
Stearik asit (C18:0)	12,85 ± 0,0011
Oleik asit (C18:1, <i>cis</i> -9)	47,96 ± 0,0039
Elaidik asit (C18:1, <i>trans</i> -9)	7,81 ± 0,0084
Linoleik asit (C18:2, <i>cis</i> -9,12)	0,35 ± 0,0011
Linolenik asit (C18:3, <i>cis</i> -9,12,15)	0,91 ± 0,0005
Araşidik asit (C20:0)	1,28 ± 0,0014
<i>cis</i> -11-Ikozenoik asit (C20:1)	0,91 ± 0,0005
<i>cis</i> -11,14,17-İkozatrienoik asit (C20:3)	nd
Araşidonik asit (C20:4, <i>cis</i> -5,8,11,14)	nd
<i>cis</i> -5,8,11,14,17-İkozapentaenoik asit (C20:5)	0,62 ± 0,0002
Behenik asit (C22:0)	0,65 ± 0,0001
Erusik asit (C22:1, <i>cis</i> -13)	nd
<i>cis</i> -4,7,10,13,16,19-Dokozahekzaenoik asit (C22:6)	1,48 ± 0,0007
Trikozanoik asit (C23:0)	1,10 ± 0,0002
Lignoserik asit (C24:0)	nd

*nd: tespit edilebilir sınırın altında

Ankistrodesmus mikroalginde doymuş yağ asidi değeri (%44,15) ile doymamış yağ asidi değeri (%54,72) birbirine yakın olarak bulunmuştur (Çizelge 4.2.3.). Oleik asit ($36,83 \pm 0,0007$) ve α -linoleik ($6,45 \pm 0,0070$) ile en önemli doymamış yağ asitleri olarak belirlenirken, en yüksek doymuş yağ asidi değerleri palmitik asit ($19,94 \pm 0,0011$) ve stearik asit ($19,83 \pm 0,0028$) olarak elde edilmiştir. Bu alg türünün yağ asidi kompozisyonu ile ilgili herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Doymuş yağ asidi değeri %34,74 ve doymamış yağ asidi değeri %64,57 olan *Oscillatoria* türünde oleik asit ($38,51 \pm 0,0056$) en fazla bulunan yağ asidi olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.2.4.). α -linoleik ($1,48 \pm 0,0014$) ile DHA ($2,22 \pm 0,0014$) ile fonksiyonel özellik gösteren diğer doymamış yağ asitleri olarak belirlenmiştir. Ahlgren ve ark (1992) mavi-yeşil algler ile yeşil alglerin ω -3 (ALNA, EPA, DHA) ve ω -6 (LA, γ -LNA, AA) yağ asitlerini inceledikleri çalışmada, mavi-yeşil alglerin yeşil alglere göre ω -3 yağ asitlerini daha fazla üretebilme potansiyelleri olduğunu gözlemişlerdir.

Chroococcus en düşük biyokütle değerini göstermesine rağmen %74,27 doymamış yağ asidi oranına sahiptir (Çizelge 4.2.5.). Rezanka ve ark (2003) ile Patil ve ark (2007) bu mikroalg için baskın olan yağ asidinin palmitik asit (%24,13 ve %21,3) olduğunu bildirmişlerdir. Bununla birlikte araştırmacıların doymamış yağ asitleri için olan bulguları birbiriyle çelişmektedir. Diğer araştırmacılar bu türde EPA ve DHA belirleyememişlerdir. Ancak yapılan çalışmada gelişme koşullarına bağlı olarak *Chroococcus* türünde $0,62 \pm 0,0002$ ile EPA ve $1,48 \pm 0,0007$ ile DHA belirlenmiştir.

Bununla birlikte ω -9 yağ asitlerinden olan “erusik asit (C22:1)” *Chroococcus* türünde bulunmazken, *Chlorella* ve *Oscillatoria* türlerinde yaklaşık %1, *Ankistrodesmus* türünde ise iz miktarda saptanmıştır.

5. SONUÇ

Dört farklı mikroalg türünün gelişmesi ve yağ asidi profillerinin incelendiği araştırmada bulgu ve sonuçlara ulaşılmıştır.

- Mikroorganizma logaritmik gelişme fazından durağan faza geçtiği evrede hücrelerin besi ortamından ayrılması işlemi uygulanmıştır. Bu durum, mikroalg hücrelerinin durağan fazda azot limitasyonuna maruz kalmaları nedeniyle daha fazla yağ asidi üretmelerine bağlı olduğu yönünde açıklanmıştır.
- Besi ortamında geliştirilerek incelenen 4 farklı mikroalg türünde biyokütledeki lipid miktarının $0,14 \pm 0,0085$ ile $1,72 \pm 0,0071$ g/100 g arasında değiştiği belirlenmiştir.
- En yüksek biyokütledeki lipid miktarı *Chroococcus* (8,3274 g) mikroalginde gözlenirken en düşük *Chlorella* (21,9627 g) türünde belirlenmiştir.
- Doymuş yağ asitlerinin oranı en yüksek *Chlorella* türünde (%52,37) bulunurken, doymamış yağ asidi oranı ise en yüksek *Chroococcus* türünde (%74,27) belirlenmiştir.
- *Chroococcus* türünde oleik asit ($47,96 \pm 0,0039$) en fazla bulunan yağ asidi olmuştur.
- *Chroococcus* türünde $0,62 \pm 0,0002$ değeri ile EPA ve *Oscillatoria* türünde ise $2,22 \pm 0,0014$ değeri ile DHA için en yüksek değerlere ulaşılmıştır.
- Erusik asit *Chlorella* ve *Oscillatoria* türlerinde %1, *Ankistrodesmus* türünde ise iz miktarda saptanmıştır.

Makro ve mikroalgler kimyasal kompozisyonları ve farklı metabolitleri üretebilme yetenekleri nedeniyle birçok endüstri ve hizmet alanının ilgisini toplamıştır. Öncelikli olarak diş hekimliği, tıp, fonksiyonel gıdalar üretimi ve enerji sanayi alanında değişik kullanım olanakları bulunmaktadır.

Yağ içeriği ve büyüme hızı yüksek mikroalg türlerinin belirlenmesi ile hücre içi lipid sentezinin arttırılmasını uyaran koşulların belirlenmesi üzerindeki çalışmalar sürdürülmektedir. Son yıllarda özellikle yenilenebilir enerji kaynağı olarak ön plana çıkan mikroalgler %70'i denizlerle kaplı dünyamızda en büyük hammadde olarak düşünülmektedir. Yapılan bilimsel araştırmalar sonuçlarına dayanarak, mikroalglerin reaktör sistemlerde ya da açık havuzlarda endüstriyel boyutlarda geliştirilmesi ile daha fazla alanda kullanım olanağı bulabileceği düşünülmektedir. Bu kapsamda endüstriyel üretime yönelik optimizasyon çalışmalarının yoğunlaştırılması önerilebilir.

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Aguilera-Morales, M., Casas-Veldez, S., Carrilo-Domingez, S., Gonzalez-Acosta, B., Perez-Gil, F. 2005.** Chemical composition and microbiological assays of marine microalgae *Enteromorpha* spp. as a potential food source. *J Food Compos Anal* 18(1): 79-88.
- Ahlgren, G., Gustafsson, I.B., Boberg, M. 1992.** Fatty acid content and chemical composition of freshwater microalgae. *J Phycol* 28(1): 37-50.
- Andersson, A.J., Wynn, J.P. 2001.** Microbial polyhydroxyalkanoates, polysaccharides and lipids. In: C. Ratledge and B. Kristiansen (eds.) *Basic Biotechnology*, Cambridge University Press, Cambridge. pp.325-348.
- Anonim 2003.** Fatty Acid Biosynthesis.
<http://www.tamu.edu/classes/bmiles/lectures/fattysynii.pdf>
- Anonim 2006.** www.mustafaaltinisik.org.uk/67-1-2-03.ppt
- Anonim 2009.** <http://www.ucmp.berkeley.edu>
- Anonim 2010.** Lipid Chemistry, Biology, Technology & Analysis. Online at: www.lipidlibrary.co.uk
- Barsanti, L., Gualtieri, P. 2006.** *Algae: Anatomy, Biochemistry, and Biotechnology*. CRC Press, Boca Raton, New York.
- Bassett, C. M. C., Rodriguez-Leyva, D., Pierce, G.N. 2009.** Experimental and clinical research findings on the cardiovascular benefits of consuming flaxseed. *Appl Physiol Nutr Metab* 34: 965–974.
- Bigogno, C., Khozin-Goldberga, I., Boussiba, S., Vonshaka, A., Cohena, Z. 2002.** Lipid and fatty acid composition of the green oleaginous alga *Parietochloris incisa*, the richest plant source of arachidonic acid. *Phytochemistry* 60: 497-503.
- Brown, M.R., Garland, C.D., Jeffrey, S.W., Jameson, I.D., Leroi, J.M. 1993.** The gross and amino acid composition of batch and semicontinuous cultures of *Isochrysis* sp. (clone T.ISO), *Paulova lutheri* and *Nannochloropsis oculata*. *J App. Phycol* 5: 285–296.

- Brown, M.R. 2002.** Nutritional value of microalgae for aquaculture. (<http://www.google.co.th/uanl.mx/publicaciones/maricultura/vi.pdf/A19.pdf>) (Erişim: 17.09.2010)
- Bulut, Y. 2009.** *Chlorella'da* (Chlorophyceae) Yağ Miktarını Arttırma Olanaklarının Araştırılması. ukurova niversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi.
- Chen, G.Q., Jiang, Y., Chen, F. 2007.** Fatty acid and lipid class composition of the eicosapentaenoic acid-producing microalga, *Nitzschia laevis*. *Food Chem* 104: 1580-1585.
- Chernova N.J., Kiselova, V.S., Chernov, N.M. 2001.** Nutritional value of *Spirulina platensis*. *Russ Agr Sci* 6: 60-63.
- Crawford, M. 2000.** Placental delivery of arachidonic and docosahexanoic acids: implication of preterm infants. *Am J Clin Nutr* 71:275-284.
- Darcy-Vrillon, B. 1993.** Nutritional aspects of the developing use of marine microalgae for the human food industry. *Int J Food Sci* 44: 23-55.
- Dawes, C.J. 1998.** Marine Botany. John Wiley and Sons, New York.
- de Swaaf, M.E., De Rijk, T.C., Eggink, G., Sijtsma, L. 1999.** Optimisation of docosahexaenoic acid production in batch cultivations by *Cryptocodinium cohnii*. *Progr Ind Microbiol* 35: 185-192.
- de Swaaf, M.E., Pronk, J.T., Sijtsma, L. 2003.** Fed-batch cultivations of the docosahexaenoic acid producing marine alga *Cryptocodinium cohnii* on ethanol. *Appl Microbiol Biotechnol* 61: 40-43.
- Drevon, C.A., Baksaas, I., Krokan, H.E. 1993.** Omega-3 Fatty Acids: Metabolism and Biological Effects. Birkhauser Verlag. Basel, Switzerland.
- Durmaz, Y., Işık, O., Bandarra, N.M., Cirik, S., Turan, G., Gkpnar, ř. 2002.** *Porphyridium cruentum* (Rhodophyceae) yağ asitleri kompozisyonuna kurutma yntemlerinin etkisi. *J Fish Aquat Sci* 19(1-2): 189-195.
- Feng, F., Yang, W., Jiang,G., Xu, T., Kuang, T. 2005.** Enhancement of fatty acid production of *Chlorella* sp. (Chlorophyceae) by addition of glucose and sodium thiosulphate to culture medium. *Process Biochem* 40: 1315-1318.
- Folch, J., Lees, M., Sloane-Stanley, G.H. 1957.** A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J Biol Chem* 226: 497-509.

- Graham, J.E., Wilcox, L.W., Graham, L.E. 2009.** Algae. 2nd Ed. Benjamin Cummings.
- Guihéneuf, F., Mimouni, V., Ulmann, L., Tremblin, G. 2009.** Combined effects of irradiance level and carbon source on fatty acid and lipid class composition in the microalga *Pavlova lutheri* commonly used in mariculture. *J Exp Mar Biol Ecol* 369: 136-143.
- Gunstone, F.D., Harwood, J.L., Dijkstra, A.F. 2007.** The Lipid Handbook, 3rd ed. Taylor and Francis, Boca Raton, FL.
- Gün, H., Türker, S., Varlık, C., Özden, Ö. 1996.** Gıdaların omega-3 Yağ Asitleri ile Zenginleştirilmesi. *Gıda Teknolojisi Dergisi* 45-49.
- Harel, Z., Riggs, S., Vaz, R., White, L., Menzies, R.D. 2001.** Omega-3 polyunsaturated fatty acids in adolescents: knowledge and consumption. *J Adolesc Health Care* 28: 10-15.
- Harwood, J.L., Guschina, I.A. 2009.** The versatility of algae and their lipid metabolism. *Biochimie* 91: 679-684.
- Jiang, Y., Chen, F., Liang, S.Z. 1999.** Production potential of docosahexaenoic acid by the heterotrophic marine dinoflagellate *Cryptocodinium cohnii*. *Process Biochem* 34: 633-637.
- Kang, J.X., Leaf, A. 1996.** The cardiac antiarrhythmic effects of polyunsaturated fatty acid. *Lipids* 31: 41-44.
- Karaca, E., Aytaç, S. 2007.** Yağ bitkilerinde yağ asitleri kompozisyonu üzerine etki eden faktörler. *Ondokuz Mayıs Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi* 22(1): 123-131.
- Kayahan, M. 2001.** Yağ Tüketimi ve Sağlık. *TMMOB Gıda Mühendisleri Odası Gıda Mühendisliği Dergisi* 11-16.
- Kayahan, M. 2003.** Yağ Kimyası. Orta Doğu Teknik Üniversitesi Yayıncılık, Ankara.
- Kinsella, J.E. 1988.** Food lipids and fatty acids: importance in food quality, nutrition and health. *Food Technol* 42(10): 124-145.
- Kitano, M., Matsukawa, R., Karube, I. 1997.** Changes in eicosapentaenoic acid content of *Navicula saprophila*, *Rhodomonas salina* and *Nitzschia* sp. under mixotrophic conditions. *J Appl Phycol* 9: 559-563.

- Khotimchenko, S.V., Yakovleva, I.M. 2005.** Lipid composition of the red alga *Tichocarpus crinitus* exposed to different levels of photon irradiance. *Phytochem* 66: 73–79.
- Kroman, N., Green, A. 1980.** Epidemiological studies in the Upernavik district, Greenland. Incidence of some chronic diseases 1950-1974. *Acta Med Scand* 208(5): 401–406.
- Lahaye, M. 1991.** Marine microalgae as sources of fibres: determination of soluble and insoluble DF contents in some sea vegetables. *J Sci Food Agric* 54: 587-594.
- Liang, Y, Sarkany, N., Cui, Y. 2009.** Biomass and lipid productivities of *Chlorella vulgaris* under autotrophic, heterotrophic and mixotrophic conditions. *Biotechnol Lett* 31: 1043-1049.
- Liu, C.P., Lin, L.P. 2005.** Morphology and eicosapentaenoic acid production by *Monodus subterraneus* UTEX 151. *Micron* 36: 545-550.
- Liu, X., Brune, D., Vermass, W., Curtiss (III), R. 2010.** Production and secretion of fatty acids in genetically engineered cyanobacteria. PNAS Early Edition. Online at: www.pnas.org/cgi/10.1073/pnas.1001946107
- Magnuson, K., Jackowski, S., Rock, C.O., Cronan Jr., J.E. 1993.** Regulation of fatty acid biosynthesis in *Escherichia coli*. *Microbiol Rev* 57(3): 522-542.
- Mantzioris, E., Cleland, L.G., Giloson, R.A., Neumann, M.A., Demasi, M., James, M.J. 2000.** Biochemical effects of a diet containing foods enriched with ω -3 fatty acids. *Am J Clin Nutr* 72(1): 42-48.
- McMurry, J. 1984.** Organic Chemistry. Brooks/Cole Publishing Company, Monterey, California.
- Mendes, A., Guerra, P., Madeira, V., Ruano, F., Da Silva, T.L., Reis, A. 2007.** Study of docosahexaenoic acid production by the heterotrophic microalga *Cryptocodinium cohnii* CCMP 316 using carob pulp as a promising carbon source. *World J Microbiol Biotechnol* 23: 1209-1215.
- Mert, N., Bilolik, A. 1999.** Biyokimya. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Yayınları, Van.
- Nas, S., Gökalp, Y.H., Ünsal, M. 2001.** Bitkisel Yağ Teknolojisi. Pamukkale Üniversitesi Mimarlık Fakültesi Matbaası, Denizli.

Nordoy, A., Marchioli, R., Arnesen, H., Vidabaek, J. 2001. n-3 polyunsaturated fatty acids and cardiovascular diseases. *Lipids* 36: 127-129.

O'leary W.M. 1962. The Fatty Acids of Bacteria. Online at:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC441163/pdf/bactrev00135-0051.pdf>

Pal, D., Prakash, D., Alma, D.R. 1998. Chemical composition of the green alga *Botryococcus braunii*. *Cryogamie Algo* 19(4): 311-317.

Parekh, R.G., Maru, L.V., Dave, M.J. 1977. Chemical composition of green seaweeds of Saurashtra coast. *Bot Mar* 20: 359-362.

Patil, V., Kallqvist, T., Olsen, E., Vogt, G., Gislerod, H.R. 2007. Fatty acid composition of 12 microalgae for possible use in aquaculture feed. *Aquacult Int* 15: 1-9.

Petkov, G., Garcia, G. 2007. Which are fatty acids of the green alga *Chlorella*? *Biochem Systemat Ecol* 35: 281-285.

Poisson, L., Ergon, F. 2001. Docosaehaenoic acid ethyl esters from *Isochrysis galbana*. *J Biotechnol* 91: 75-81.

Pratoomyot, J., Srivilas, P., Noiraksar, T. 2005. Fatty acids composition of 10 microalgal species. *Songklanakarinn J Sci Technol* 27(6): 1179-1187.

Pulz, O., Gross, W. 2004. Valuable products from biotechnology of microalgae. *Appl Microbiol Biotechnol* 65(5):635-648.

Rajan, S.S. 2001. Introduction to Algae. Anmol Publications, New Delhi.

Ratledge, C. 2004. Fatty acid biosynthesis in microorganisms being used for single cell oil production. *Biochim* 86: 807-815.

Ratledge, C. 2006. Microbial Production of γ - Linolenic Acid: Handbook of Functional Lipids, Ed: Akoh, C.C. CRC Press, Boca Raton. p.19-46

Ratledge, C., Wilkinson, S.G. 1988. An Overview of Microbial Lipids: Microbial Lipids, Ed: Ratledge, C., Wilkinson, S.G. Academic Press, London. P.3-22.

Ratledge, C., Cohen, Z. 2008. Microbial and Algal Oils: Do they have a future for biodiesel or as commodity oils? *Lipid Technology* 20(1): 55-60.

Rezanka, T., Viden, I., Go, J.V., Dor, I., Dembitsky, V.M. 2003. Polar lipids and fatty acids of three wild cyanobacterial strains of the genus *Chroococcidiopsis*. *Folia Microbiol* 48(6): 781-786.

- Rosa, A. Deidda, D., Serra, A., Deiana, M., Dessi, M.A., Pompei, R. 2005.** Omega-3 fatty acid composition and biological activity of three microalgae species. *J Food Agr Environ* 3(2): 120-124.
- Sajilata, M.G., Singhal, R.S., Kamat, M.Y. 2008.** Fractionation of lipids and purification of γ -linolenic acid (GLNA) from *Spirulina platensis*. *Food Chem* 109: 580-586.
- Saldamli, İ. 1998.** Gıda Kimyası. Hacettepe Üniversitesi Yayınları, Ankara.
- Sallal, A.K., Nimer, N.A., Radwan, S.S. 1990.** Lipid and fatty acid composition of freshwater cyanobacteria. *J Gen Microbiol* 136: 2043–2048.
- Seto, A., Wang, H.L., Hesseltine, C.W. 1984.** Culture conditions affect eicosapentenoic acid content of *Chlorella minutissima*. *J Am Chem Soc* 61: 892-894.
- Sijtsma, L., de Swaaf, M.E. 2004.** Biotechnological production and applications of the ω -3 polyunsaturated fatty acid docosahexaenoic acid. *Appl Microbiol Biotechnol* 64: 146-153.
- Simopoulos, A.P. 1999.** Essential fatty acids in health and chronic disease. *Am J Clin Nutr* 70(3):560S-569S.
- Simopoulos, A.P. 2008.** The importance of the omega-6/omega-3 fatty acid ratio in cardiovascular disease and other chronic diseases. *Exp Biol Med* 233:674-688
- Simopoulos, A.P., Kifer, R.R., Martin, R.E., Barlaw, S.M. 1991.** Health effects of ω -3 polyunsaturated fatty acids. S. Karger AG. Basel, Switzerland.
- Siron, R., Giusti, G., Berland, B. 1989.** Changes in fatty acid composition of *Phaeodactylum tricornutum* and *Dunaliella tertiolacta* during growth and under phosphorus deficiency. *Mar Ecol Prog Ser* 55: 95–100.
- Spolaore, P., Cassan, C.J., Duran, E., Isambert, A. 2006.** Commercial applications of microalgae. *J Biosci Bioeng* 101(2): 87-96.
- Southgate, D.A.T. 1990.** Dietary fibre and health: Dietary fibre, chemical and biological aspects. The Royal Society of Chemistry, Cambridge, UK.
- Umhau, S.C., Dauphinais, K.M. 2007.** Omega-3 polyunsaturated fatty acids and health: lo-cost approaches to promote physical and mental health. Ed: L'Abore, L. Springer, New York.

- Van den Hoek, C., Mann, D.G., Jahns, H.M. 1995.** Structure and characteristics of the Cyanophyta. In: *Algae: An Introduction to Phycology*. Cambridge University Press, Cambridge, p. 24-32.
- Vance, D.E., Vance, J.E. 2008.** *Biochemistry of Lipids, Lipoproteins and Membranes*. 5th Edt. Elsevier B.V.
- Vazhappilly, R., Chen, F. 1998.** Eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid production potential of microalgae and their heterotrophic growth. *JAOCS* 75(3): 393-397.
- Von Schacky, C. 2000.** n-3 Fatty acids and the prevention of coronary atherosclerosis. *Am J Clin Nutr* 71(1): 224-227.
- Wada, H., Murata, N. 1990.** Temperature-induced changes in the fatty acid composition of the cyanobacterium *Synechocystis* PCC6803. *Plant Physiol* 92: 1062-1069.
- Wang, F., Xiao, X., Ou, H.Y., Gai, Y., Wang, F. 2009.** The role and regulation of fatty acid biosynthesis in *Shewanella piezotolerans* WP3 response to different temperatures and pressures. *J Bacteriol Virol*, online at doi:10.1128/JB.00498-08
- Wallis, J.G., Watts, J.L., J. Browse. 2002.** Polyunsaturated fatty acid synthesis: what will they think of next? *Trends Biochem Sci* 27(9): 467-473.
- Weete, J.D. 1980.** *Lipid biochemistry of fungi and other organisms*. Plenum Press. London.
- Wen, Z.Y., Chen, F. 2001.** Heterotrophic production of eicosapentaenoic acid by microalgae. *Biotechnol Adv* 21: 273-294.
- Widjaja, A., Chien, C.C., Ju, Y.H. 2009.** Study of increasing lipid production from fresh water microalgae *Chlorella vulgaris*. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers* 40(2009): 13-10.
- Wongrat, L. 1995.** *Phytoplankton*. Faculty of Fisheries, Kasetsart University, Bangkok.
- Wu, S.T., Yu, S.T., Lin, L.P. 2005.** Effect of culture conditions on docosahexaenoic acid production by *Schizochytrium* sp. S31. *Process Biochem* 40: 3103-3108.
- Yamada, T., Strong, J.P., Ishii Ueno, T., Koyama, M., Wagayama, H., Shimizu, A., Sakai, T., Malcom, G.T., Guzman, M.A. 2000.** Atherosclerosis and ω -3 fatty acids in

the population of a fishing village and a farming village in Japan. *Atherosclerosis* 53: 469-481.

Yenson, M. 1984. İnsan Biyokimyası. Beta Basım Yayın Dağıtım, İstanbul.

Zhu, L., Zhang, X., Ji, L., Song, X., Kuang, C. 2007. Changes of lipid content and fatty acid composition of *Schizochytrium Limacinum* in response to different temperatures and salinities. *Process Biochem* 42: 210-214.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Oya Irmak ŞAHİN

Doğum Yeri ve Tarihi : Ankara, 17.01.1985

Yabancı Dili : İngilizce

Eğitim Durumu

Lise : Bursa Gazi Anadolu Lisesi, 1995–2002

Lisans : Ege Üniversitesi, 2002–2007

Yüksek Lisans : Uludağ Üniversitesi, 2007–2010

Çalıştığı Kurum : Uludağ Üniversitesi, 2009-

İletişim : oyairmak@gmail.com

Yayımlar :

Akpınar Bayizit, A., Ozcan, T. Sahin, O.I., Yilmaz Ersan, L. 2010. The Utilisation of Microbial poly-hydroxyalkanoates (PHA) in Food Industry. *Research Journal of Biotechnology* 5 (3): 76-79.

Ozcan, T., Yilmaz Ersan, L, Akpınar Bayizit, A., Sahin, O.I., Aydinol, P. 2010. Viability of *Lactobacillus acidophilus* LA-5 and *Bifidobacterium bifidum* BB-12 in Rice Puding, *Mljekarstvo* 60 (2): 135-144.

Şahin, O.I., Aka, A., Akpınar-Bayizit, A., Baltas-Minas, E. 2010. Piyasada Satılan Yeşil Zeytin Ezmelerinin Kimyasal ve Duyusal Özellikleri, *U.Ü. Ziraat Fakültesi Dergisi* 24 (1): 11-24.

Aka, A., Şahin, O.I., Akpınar-Bayizit, A. 2009. Nanokompozit Filmlerin Gıda Sanayi Uygulamaları, *TMMOB Gıda Mühendisliği Dergisi* 13 (29): 54-61.