

**T.C.
SÜLEYMAN DEMİREL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**KANATLILAR İÇİN BAZI YEM MADDELERİNE VE YAN ÜRÜNLERE KATI
FAZ FERMANTASYON İLE KİMYASAL,
ENZİMATİK VE PROBİYOTİK FONKSİYONLAR KAZANDIRMA İŞLEMLERİ**

Civan ÇELİK

**Danışman
Prof. Dr. Yaşar KARAKURT**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
TARIMSAL BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI
ISPARTA - 2017**

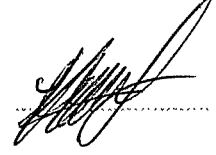
©2017 [Civan ÇELİK]

TEZ ONAYI

Civan ÇELİK tarafından hazırlanan " Kanatlılar için Bazı Yem Maddelerine ve Yan ürünlere Katı-Faz Fermentasyon ile Kimyasal, Enzimatik ve Probiyotik Fonksiyonlar Kazandırma İşlemleri " adlı tez çalışması aşağıdaki jüri üyeleri önünde Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tarımsal Biyoteknoloji Anabilim Dalı'nda YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak başarı ile savunulmuştur.

Danışman

Prof. Dr. Yaşar KARAKURT
Süleyman Demirel Üniversitesi



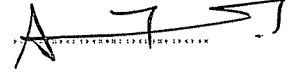
Jüri Üyesi

Doc. Dr. Muhammet TONGUÇ
Süleyman Demirel Üniversitesi



Jüri Üyesi

Prof. Dr. Sulhattin YAŞAR
İğdır Üniversitesi



Enstitü Müdürü

Prof. Dr. Yasin TUNCER

0 104 19 43 4040443 1040443 43 4040443

TAAHHÜTNAME

Bu tezin akademik ve etik kurallara uygun olarak yazıldığını ve kullanılan tüm literatür bilgilerinin referans gösterilerek tezde yer aldığını beyan ederim.

Civan ÇELİK

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Civan Çelik', with a long horizontal stroke extending to the right.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
İÇİNDEKİLER.....	i
ÖZET	ii
ABSTRACT	iii
TEŞEKKÜR	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ	v
ÇİZELGELER DİZİNİ	vi
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	viii
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ	6
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	18
3.1. Yem Materyali	18
3.2. Biyoreaktör.....	18
3.2.1. Gaz ölçümleri.....	20
3.3. Mikroorganizma Suşları ve Çoğaltma.....	21
3.4. Fermentasyon İşlemleri ve Deneysel Metodoloji.....	24
3.5. Antibesinsel Madde ve Enzim Analizleri.....	25
3.5.1. Antibesinsel madde analizleri.....	27
3.5.1.1. Toplam fenolik analizi.....	27
3.5.1.2. Toplam flavonoid analizi	27
3.5.1.3. Fitik asit analizi	28
3.5.2. Enzim analizleri	29
3.5.2.1. Amilaz analizi	29
3.5.2.2. Fitaz analizi.....	29
3.5.2.3. Ksilanaz analizi	30
3.5.2.4. Lakkaz analizi	30
3.5.2.5. Lignin peroksidaz analizi.....	31
3.5.2.6. Poligalakturonaz analizi.....	31
3.5.2.7. Proteaz analizi.....	32
3.5.2.8. Selülaz analizi.....	32
3.5.2.9. β -Glukanaz analizi.....	33
3.5.3. Antioksidant aktivite analizi.....	33
4. ARAŞTIRMA BULGULARI.....	34
4.1. Ayçiçeğinde Fermentasyon Sonrası Elde Edilen Veriler.....	34
4.2. Soya Küspesinde Fermentasyon Sonrası Elde Edilen Veriler	36
4.3. Buğday Fermentasyonu Sonrası Elde Edilen Veriler.....	38
4.4. Arpa Fermentasyonu Sonrası Elde Edilen Veriler	40
4.5. Yulaf Fermentasyonu Sonrası Elde Edilen Veriler.....	41
4.6. Elma Posasının Fermentasyonu Sonrası Elde Edilen Veriler	44
4.7. Domates Posasının Fermentasyonu Sonrası Elde Edilen Veriler	47
5. TARTIŞMA VE SONUÇLAR.....	50
KAYNAKLAR	54
ÖZGEÇMİŞ	64

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

KANATLILAR İÇİN BAZI YEM MADDELERİNE VE YAN ÜRÜNLERE KATI FAZ FERMANTASYON İLE KİMYASAL, ENZİMATİK VE PROBİYOTİK FONKSİYONLAR KAZANDIRMA İŞLEMLERİ

Civan ÇELİK

Süleyman Demirel Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Tarımsal Biyoteknoloji Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Yaşar KARAKURT

Bu tez çalışmasında 4 mikroorganizma (*Bacillus subtilis* (BS), *Lactobacillus salivarius* (LBS), *Phanerochaete chrysosporium* (PC), *Pleurotus ostreatus* (PO)) suşu ve modern bir biyoreaktör kullanılarak ayçiçeği, soya, arpa, yulaf, buğday, domates ve elma posalarında katı-faz fermentasyonu (KFF) yapılması hedeflenmiştir. Ayçiçeği ve soyada *B. subtilis* aracılığıyla 30°C sıcaklıkta, %60 nemde, pH 6.5'da 72 saat, yulaf, arpa, ve buğdayda *L.salivarius* aracılığıyla 38°C sıcaklıkta, %60 nemde, pH 5.5'da 48 saat, domates ve elmada ise *P. Chrysosporium* ve *P. ostreatus* aracılığıyla 28°C sıcaklıkta, %75-80 nemde, pH 5.5'da 21 gün fermentasyon çalışması yapılmıştır. Ayçiçeği, soya, buğday, arpa ve yulaf yemlerinde yapılan analizler sonucunda toplam fenolik madde ve antioksidant içeriklerinde artış tespit edilmiştir. Buna ek olarak, fitik asit içeriklerinde %63-80 oranında azalma, hücre duvarı unsurlarını parçalayıcı enzimlerin (poligalakturonaz, amilaz, fitaz vs.) aktivitelerinde artışlar tespit edilmiştir. *P. chrysosporium* ve *P. Ostreatus* aracılığıyla domates ve elma posalarında yapılan fermentasyon sonucunda toplam fenolik madde ve antioksidant içeriklerinde artış meydana gelmiştir. Domates posasında PO ve PC aracılığıyla yapılan fermentasyon sonucunda poligalakturonaz enzimi 14. gün, selüloz, lignin peroksidaz ve lakkaz enzimleri 21. günde maksimum enzim aktivitesine ulaşmıştır. Elma posasında ise PO ve PC aracılığıyla yapılan fermentasyon sonucunda toplam fenolik madde miktarı kontrole göre daha yüksek seviyelerde olduğu görülmüştür. Toplam flavonoid içeriklerinde ise dalgalanmalar söz konusu olmuştur. Sonuç olarak, bakteri ve fungal kökenli mikroorganizmaların KFF'da kullanılması ile kanatlılarda fonksiyonel özellik kazandırma gerçekleştirilebilir. Özellikle, kanatlılar için yağlı tohum küspeleri, tahılların ve domates ve elma posasının antibesinsel olan hücre duvarı unsurları ve fitik asit düzeyleri bakımından azaltılmış ve ayrıca enzim düzeyi artırılmış yemlerin kullanılması önemlidir.

Anahtar Kelimeler: Ayçiçeği, Soya, Arpa, Yulaf, Buğday, Domates ve Elma posası, optimize edilmiş katı faz fermentasyonu, fonksiyonel yem

2017,64 sayfa

ABSTRACT

M.Sc. Thesis

FORTIFYING FEEDINGSTUFFS AND BY PRODUCTS FOR POULTRY WITH CHEMICAL, ENZYMATIC AND PROBIOTIC PROPERTIES BY SOLID STATE FERMENTATION

Civan ÇELİK

Süleyman Demirel University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Agriculture Biotechnology

Supervisor: Prof. Dr. Yaşar KARAKURT

In this thesis, solid-state fermentation (KFF) of sunflower, soybean, barley, oat, wheat, apple and tomato pomaces were targeted using 4 different fungal microorganisms (*Bacillus subtilis* (BS), *Lactobacillus salivarius* (LBS), *Phanerochaete chrysosporium* (PC), *Pleurotus ostreatus* (PO)) using a modern bioreactor. Fermentation with sunflower and soybean meals were carried out at temperature 30°C, humidity %60, pH 6.5 72 hour fermentation by *B. subtilis*, fermentation with barley, oat and wheat were carried out at temperature 38°C, humidity %60, pH 5.5 48 hour fermentation by *L. salivarius*, and fermentation with apple and tomato pomaces were carried out at 28°C, humidity %75-80, pH 5.5 and 21 days by *P. Chrysosporium* (PC) and *P. Ostreatus* (PO). All bacterial fermentations with sunflower and soybean meals, barley, oat and wheat significantly induced increases in their total phenolic contents and antioxidant capacities. Fermentation of tomato pomace with PO and PC fungals had a significant effect on the increased activities of polygalacturonase enzyme at the end of 14 day and the increased activities of cellulase, lignin peroxidase and laccase enzymes at the end of 21 day. All fungal fermentations of apple pomace induced significantly increased total phenolic compound contents. In contrary, there were sporadic changes in the total flavonoid contents in this study. In conclusion, bacterial and fungal solid state fermentation have induced significant improvement in chemical composition of studied feed material used in poultry nutrition, providing reduced antinutrient contents of their cell wall constituents and enrichments in some important endogenous enzymes activities.

Key Words: Sunflower, Soybean, Barley, Oat, Wheat, Apple and Tomato pomaces, Optimized solid-state fermentation, Functional feed,

2017, 64 pages

TEŞEKKÜR

Bu araştırma için beni yönlendiren, karşılaştığım zorlukları bilgi ve tecrübesi ile aşmamda yardımcı olan değerli danışman hocam Prof. Dr. Yaşar KARAKURT'a ve Doç. Dr. Muhammet TONGUÇ'a teşekkürlerimi sunarım. Yemlerin hazırlanması ve fermentasyonları aşamasında bana yardımcı olan değerli hocam Prof. Dr. Sulhattin YAŞAR'a, laboratuvar çalışmalarında yardımını esirgemeyen kardeşim Ziraat Mühendis'i Sercan ÖNDER ve Ramazan TOSUN'a teşekkür ederim.

Tezimin gerçekleşmesinde 2140629 numaralı proje ile maddi destek sağlayan TÜBİTAK'a teşekkür ederim.

Tezimin her aşamasında beni yalnız bırakmayan manevi desteğini hiç esirgemeyen ve her aşamada yanımda olan eşim Eylem ÇELİK'e ve aileme sonsuz sevgi ve saygılarımı sunarım.

Civan ÇELİK
ISPARTA, 2017

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa
Şekil 3.1. Biyoreaktörden alınan parametreler.....	19
Şekil 3.2. Biyoreaktör hava ve su giriş sistemi.....	20
Şekil 3.3. Gaz ölçüm sensörlerinin sistem bağlantısı	21

ÇİZELGELER DİZİNİ

	Sayfa
Çizelge 2.1. Literatürden ayıklanmış mikorganizma suşları ve KFF ile alınan sonuçlar.....	15
Çizelge 3.1. Fermentasyonda kullanılan mikroorganizma suşları.....	22
Çizelge 3.2. Fonksiyonel Yem" etkileri test edilen mikroorganizmalar ile yürütülen KFF deneme planı fermentasyon koşulları.....	23
Çizelge 3.3. Çalışmada yapılacak olan bileşen analizlerinin hedef yem ve mikroorganizma dağılımı.....	26
Çizelge 4.1. Farklı fermentasyon zamanlarında ayçiçeği küspesinin BS katı faz fermentasyonunda antibesinsel faktörlerinin değişimi.....	34
Çizelge 4.2. Farklı fermentasyon zamanlarında ayçiçeği küspesinin kontrol örneklerinin katı faz fermentasyonunda antibesinsel maddelerinin değişimi.....	34
Çizelge 4.3. Farklı fermentasyon zamanlarında ayçiçeği küspesinin BS katı faz fermentasyonunda çeşitli enzimlerin aktivite değişimi.....	35
Çizelge 4.4. Farklı fermentasyon zamanlarında ayçiçeği küspesinin kontrol örneklerinde katı faz fermentasyonunda çeşitli enzimlerin aktivite değişimi.....	36
Çizelge 4.5. Farklı fermentasyon zamanlarında soya küspesinin BS katı faz fermentasyonunda antibesinsel faktörlerinin değişimi.....	36
Çizelge 4.6. Farklı fermentasyon zamanlarında soya küspesinin kontrol örneklerinde katı faz fermentasyonunda antibesinsel maddelerin değişimi.....	37
Çizelge 4.7. Farklı fermentasyon zamanlarında soya küspesinin BS katı faz fermentasyonunda çeşitli enzimlerin aktivite değişimi.....	37
Çizelge 4.8. Farklı fermentasyon zamanlarında soya küspesinin kontrol örneklerinde katı faz fermentasyonunda çeşitli enzimlerin aktivite değişimi.....	38
Çizelge 4.9. Farklı fermentasyon zamanlarında buğdayın LBS katı faz fermentasyonunda antibesinsel faktörlerinin değişimi.....	38
Çizelge 4.10. Farklı fermentasyon zamanlarında buğdayın LBS katı faz fermentasyonunda antibesinsel faktörlerinin değişimi.....	39
Çizelge 4.11. Farklı fermentasyon zamanlarında buğdayın LBS katı faz fermentasyonunda çeşitli enzimlerin aktivite değişimi.....	39
Çizelge 4.12. Farklı fermentasyon zamanlarında buğdayın kontrol örneklerinde katı faz fermentasyonunda çeşitli enzimlerin aktivite değişimi.....	40
Çizelge 4.13. Farklı fermentasyon zamanlarında arpanın LBS katı faz fermentasyonunda antibesinsel faktörlerinin değişimi.....	40
Çizelge 4.14. Farklı fermentasyon zamanlarında arpanın kontrol örneklerinde katı faz fermentasyonunda antibesinsel maddelerinin değişimi.....	40
Çizelge 4.15. Farklı fermentasyon zamanlarında arpanın LBS katı faz fermentasyonunda çeşitli enzimlerin aktivite değişimi.....	41

Çizelge 4.16. Farklı fermentasyon zamanlarında arpanın kontrol örneklerinde katı faz fermentasyonunda çeşitli enzimlerin aktivite değişimi.....	41
Çizelge 4.17. Farklı fermentasyon zamanlarında yulafın LBS katı faz fermentasyonunda antibesinsel faktörlerinin değişimi.....	42
Çizelge 4.18. Farklı fermentasyon zamanlarında yulafın LBS katı faz fermentasyonunda antibesinsel faktörlerinin değişimi.....	42
Çizelge 4.19. Farklı fermentasyon zamanlarında yulafın LBS katı faz fermentasyonunda çeşitli enzimlerin aktivite değişimi.....	43
Çizelge 4.20. Farklı fermentasyon zamanlarında yulafın kontrol örneklerinde katı faz fermentasyonunda çeşitli enzimlerin aktivite değişimi.....	43
Çizelge 4.21. Farklı fermentasyon zamanlarında elma posasının PO katı faz fermentasyonunda antibesinsel faktörlerinin değişimi.....	44
Çizelge 4.22. Farklı fermentasyon zamanlarında elma posasının kontrol örneklerinin katı faz fermentasyonunda antibesinsel maddelerinin değişimi.....	44
Çizelge 4.23. Farklı fermentasyon zamanlarında elma posasının PO katı faz fermentasyonunda çeşitli enzimlerin aktivite değişimi.....	45
Çizelge 4.24. Farklı fermentasyon zamanlarında elma posasının kontrol örneklerinde katı faz fermentasyonunda çeşitli enzimlerin aktivite değişimi.....	45
Çizelge 4.25. Farklı fermentasyon zamanlarında elma posasının PC katı faz fermentasyonunda antibesinsel faktörlerinin değişimi.....	46
Çizelge 4.26. Farklı fermentasyon zamanlarında elma posasının PC katı faz fermentasyon sonrası çeşitli enzimlerin aktivite değişimi.....	46
Çizelge 4.27. Farklı fermentasyon zamanlarında domates posasının PO katı faz fermentasyonunda antibesinsel faktörlerinin değişimi.....	47
Çizelge 4.28. Farklı fermentasyon zamanlarında domates posasının kontrol örneklerinin katı faz fermentasyonunda antibesinsel maddelerinin değişimi.....	47
Çizelge 4.29. Farklı fermentasyon zamanlarında domates posasının PO katı faz fermentasyonunda çeşitli enzimlerin aktivite değişimi.....	48
Çizelge 4.30. Farklı fermentasyon zamanlarında domates posasının kontrol örneklerinin katı faz fermentasyonunda çeşitli enzimlerin aktivite değişimi.....	48
Çizelge 4.31. Farklı fermentasyon zamanlarında domates posasının PC katı faz fermentasyonunda antibesinsel faktörlerinin değişimi.....	49
Çizelge 4.32. Farklı fermentasyon zamanlarında domates posasının PC katı faz fermentasyonunda çeşitli enzimlerin aktivite değişimi.....	49

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ABF	Antibesinsel faktör
AOA	Antioksidant aktivitesi
ATK	Ayçiçeği küspesi
BS	<i>Bacillus subtilis</i>
DMP	Düşük molekül ağırlıklı peptid miktarı
DNS	Dinitrosalisilik asit
FF	Fitin fosforu
g	Gam
HK	Ham kül
HP	Ham protein
HS	Ham selüloz
HY	Ham yağ
KFF	Katı faz fermentasyonu
LAB	Laktik asit bakteri sayısı
LBS	<i>Lactobacillus salivarius</i>
LgO	Ligninperoksidaz
LOD	Ölçüm sınırı altında
MEA	Malt Extract Peptone Agar
MnP	Manganperoksidaz
MO	Mikroorganizma
MRS	MRS Medium
NÖM	Nitrojensiz öz maddeler
NA	Nutrient Agar
NTOP	Nişasta tabiatında olmayan polisakkaritler
PC	<i>Phanerochaete chrysosporium</i>
PDA	Potato Dextrose Agar
PO	<i>Pleurotus ostreatus</i>
SAA	Serbest amino asit miktarı
SFK	Soya fasülyesi küspesi
TAN	Tanin
TFEN	Toplam fenolik bileşikler
Tİ	Tripsin inhibitörü
UMA	Universal Medium Agar
ÜA	Üreaz aktivitesi
%	Yüzde
w	Kütle

1. GİRİŞ

Kanatlı beslemede en çok kullanılan bitkisel protein kaynağı yağlı tohum küspeleridir. Küspelerin üretiminde karşılaşılan en büyük problem en yüksek ham protein içeriği ile birlikte en düşük antibesinsel faktör (ABF) içeriğine sahip bir son ürünün elde edilme zorluğudur (Hardy, 2010). Fungal ve bakteriyel kökenli mikroorganizmalar ve mayalar kullanılarak küspelerin katı faz fermentasyonu (KFF) metodu ile bu sorunun çözümlenmesine dair çalışmalar bulunmaktadır (Ravindra, 2000; Singhanian vd., 2009). Kanatlı beslemede enerji yemleri arasında kullanılan yemler, sırasıyla mısır, buğday, arpa, yulaf ve çavdar gibi tahıllar gelmektedir. Mısır haricinde diğer tahıl tanelerinin kullanımında sınırlamalar vardır. Bunun nedeni ise, hayvan performansı üzerine negatif etki yaratan nişasta tabiatında olmayan ve yapışkan dışkı problemine neden olan kompleks polisakkaritler (NTOP)'dir. Buna ilaveten, kanatlılarda fitaz enzimi az salgılandığı için bitkisel kaynaklı fosfordan (fitin) kanatlılar çok az yararlanır. NTOP'leri ve fitin fosforunu (FF) parçalayan enzimler, özellikle büyümekte olan kanatlılar tarafından çok az salgılandığından, bu yemlerden yararlanma oranı da azalır (Yasar, 1998; Yasar ve Demircan 2014). Bu yüzden, büyüyen kanatlılarda bu yemlere dayalı rasyonlar kullanıldığı zaman yemlere enzim katılmaktadır (Yasar ve Forbes 1999, 2000, Yaşar ve Demircan 2014). Bunun yanı sıra, tahılların besleme değerini artırmak için ıslatma (Yaşar, 1998) ve fermentasyon (Yasar ve Gök, 2014, Yasar vd. (2016) teknikleri de kullanılmaktadır.

Tahıllar içerisinde bulunan arpa, yulaf, buğday ve ayçiçeği ve soya dünyada ve ülkemizde hayvan beslenmesinde enerji ve protein ihtiyacının karşılanması için kullanılan en temel yem kaynaklarıdır. Son yıllarda ortaya çıkan beslenme sorunlarıyla birlikte özellikle sindirilebilir diyet lif yapıları göz önüne alınarak bu tahıllar insan beslenmesinde, ekmek, makarna, bisküvi yapımında katkı maddesi olarak kullanılmaktadır. Ülkemizin sahip olduğu önemli gen kaynaklarından birisi olan arpa çok köklü bir tarım kültürüne sahip % 90'ın üzerinde hayvan beslenmesinde kullanılan bir tahıldır. 1960'lı yıllarda dünya genelinde 100 milyon ton civarında üretilirken, son on yıllık ortalama dikkate alındığında üretimi 145 milyon tona yükselmiştir (Yılmazkart, 2015). Arpa ekim alanlarını ana kıtalar bağlamında ele aldığımızda, 2012 yılı itibarıyla en fazla arpa ekim alanı %50.2 ile Avrupa kıtasında bulunmaktadır. Bunu %21.7 ile Asya

ve %11.9 ile Amerika kıtası izlemektedir (FAO, 2014). Son yıllara kadar arpada protein ve verim odaklı yürütülen ıslah çalışmaları son yıllarda seleksiyon unsurları biraz daha genişletilerek hem *in-vitro* hem *in-vivo* koşullarda toplam sindirilebilirlik üzerine odaklanmaktadır. Burada protein değeri yüksek, nişasta değeri düşük ürünler elde etmek üzerine yoğunlaşmıştır. Tüm bunlara ek olarak yemlik arpaların kanatlı ve tek midelilerde de kullanımını arttırmaya yönelik çalışmalarda ciddi bir artış söz konusudur. Bu amaçla danede biriken fitik asit (FA) olarak bilinen fosfor mutasyonla azaltılarak ve verim düşürülmeden düşük FA içeren hatlar geliştirilerek bazı hayvan türlerinde (domuz ve balık) beslenme denemeleri yapılmış ve kemik ve doku gelişmesinde yani canlı ağırlıklarında artış olduğu gözlenmiştir. Buna ek olarak kanatlılarda ishale neden olan β -glukan'ın ektisi sıfırlanarak canlı ağırlık kaybını önleyen çalışmalar yapılmış ve pozitif sonuçlar elde edilmiştir (Gieger, 2009).

Dünya yulaf ekim alanları son 10 yıllık veriler ışığında değerlendirildiğinde 2002'lerde yaklaşık 12.4 milyon hektar iken 2012 yılında %20 azalışla 9.6 milyon hektara gerilemiştir (FAO, 2014). Yulaf tanesi her tür hayvan için ideal yem maddesi olup hayvan beslenmesinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Yulaf tanesi kavuzlu olduğu için hayvan beslenmesinde kullanılabilir, çünkü midede topaklaşma yapmaz ve hazmı kolaylaştırır. Aynı zamanda yulaf kümesi hayvanları için de iyi bir yem kaynağıdır. Ancak, danede bulunan %20-30 oranındaki kavuzun yemliklerde %25'den fazla olması istenmez (Başçetinçelik, 2014).

Dünyada birçok ülkede tarımı yapılan ayçiçeği (*Helianthus annuus* L.) bitkisel yağ sanayisinin başlıca hammaddesi olup, ekonomik değeri oldukça yüksek bir yağ bitkisidir. Ülkemizde ekimi yapılan yağlı tohumlu bitkiler arasında gerek ekim alanı (440 000 ha) gerekse yağ üretimi bakımından ayçiçeği ilk sırayı almaktadır (Anonim 2007). Ayçiçeği verimi bakımından Türkiye ortalaması 125 kg/da olurken, bazı bölgelerde verim 80 kg/da'a kadar düşebilmektedir (Kolsarıcı, 2005). Ayçiçeği küspesinde bulunan β -glukanlar, arabinoksilanlar, pektinler ve hemiselüloz gibi NTOP tavuklarda bağırsak vizkozitesini arttırmakta ve besin madde sindirilme derecesini azaltmaktadır (Brenes vd., 1993; Edney vd, 1989). Ayçiçeğinde fazla miktarda arabinoksilan ve pektin olması yemden yararlanmayı azaltmasının yanı sıra, sulu dışkı ve kirli yumurta üretimini arttırmaktadır. Arabinaz, ksilanaz ve pektinaz gibi bu bileşikler parçalayan enzimler

yemlere eklendiğinde protein sindirimi ve emilimi artmaktadır. Yemlere katılan bu enzimler büyümeyi ve verimi arttırmaktadırlar (Hesselman ve Aman 1985; Petterson vd, 1995).

İnsanların eski çağlardan bu yana tükettikleri temel gıda hammaddelerinin başında tahıllar (hububatlar) gelir. Tahıl terimi "Gamineae" familyasının tohumları olan buğday, mısır, çavdar, çeltik, arpa, yulaf, kuşyemi, darı ve tritikale gibi tanelerin tümünü ifade etmek için kullanılır (Altan, 1986). Buğday, başta ekmek olmak üzere pek çok unlu mamulün üretiminde kullanılan ana hammadde olması ve diğer tahıl unlarından farklı olarak kendine özgü bir takım özelliklere sahip olması nedenleriyle tahıllar içerisinde ayrıcalıklı bir yere sahiptir. Birçok ülkede olduğu gibi ülkemizde de gerek ekim alanı gerekse üretim bakımından tahıllar içerisinde ilk sırada yer alan buğday (Anonim, 2009) tarımının kolay yapılabilmesi, çok çeşitli gıdalara dönüşüm uygunluğu ve beslenmedeki rolü itibariyle önemli bir kültür bitkisidir.

Dünya elma üretiminin yaklaşık %30-40'ı üretim dışıdır. Toplam üretimin %20-40'ı ise elma suyu üretiminde kullanılmaktadır (FAO, 2012). Elma suyu üretiminden sonra geriye hayvancılıkta kullanılabilecek elma posası kalmaktadır. Kurutulmuş elma posasının etlik piliçlerde %10 düzeyinde kullanılabileceği bildirilmektedir. Bu düzeyin üstünde bir yemlemenin posadaki yüksek selüloz içeriğine bağlı olarak hayvanlarda yemden yararlanmayı düşürmekte ve ıslak gübre sorununa neden olmaktadır. Kanatlı beslemede elma posasının metabolik enerji değeri 2600-2800 kcal/kg arasında olup, kurutulmuş elma posasının ticari enzim katkıları ile desteklenmesi halinde daha iyi performans sonuçları alınmaktadır (Matoo vd., 2001). Narenciye ürünlerinin yaklaşık %50-60'lık kısmı posadan oluşmaktadır. Bunun %60-65'i kabuk, %30-35'i iç kısım ve %10'u çekirdeklerden oluşur (Crawshaw, 2004). Posa güneşte kurutularak, pelet edilerek veya silajlanarak değerlendirilebilir. Asit düzenleyici olarak kireç taşı katıldıktan sonra meyve pektinleri bağlanabilir ve aşırı su serbest bırakılabilir (Wing, 2003).

Domates posası fabrikasyon işlemlerinden sonra ortaya çıkar ve çoğunluğunu domates kabukları, tohumları ve bir miktar yumuşak posa oluşturur. Yeşil domatesten oluşan tomatin adlı alkaloid kırmızı domates posasında oluşmadığından domates posasının

hayvan yemi olarak kullanımı sınırlanmaz. Domates posasının kanatlılarda, özellikle etlik piliçlerde başlangıç döneminde %5'e ve büyütme döneminde %10'a kadar kullanılabileceği bildirilmiştir (Sethi, 2012). Yumurtacı tavuklarda %20'e kadar rasyona katılabilmektedir (Calislar ve Uygur, 2010; Salajegheh vd., 2012), ancak yüksek dozlarda kullanımı tavuk/gün üzerinden yumurta verimini azaltmaktadır (Jafari vd., 2006). *Trichoderma viride*, *Aspergillus niger*, *Fusarium* ve zehirsiz *P. ostreatus* mikroorganizma fermentasyonu ile bu tarımsal yan ürünlerin protein düzeylerinde önemli artışlar sağlandığı bildirilmektedir (Gautam ve Guleria, 2007). Etkili ve efektif tekniklerle gerek temel yem kaynaklarının gerekse tarımsal ürünlerin hayvanlar için değerli ve fonksiyonel yem maddelerine dönüşümleri sağlanarak çevre kirliliği azaltılabilir ve hayvansal üretime katma-değer sağlanabilir.

KFF kendine has özellikleri olan, düşük maliyetli ekipmanların kullanımına uygun, yüksek miktarda verim etkinliğine sahip ve düşük işletim maliyeti olan biyolojik ve fonksiyonel ürün üretimi için uygun modern bir yöntemdir (Krishna, 2005; Araya vd., 2007). Buna ilaveten, geleneksel metotlar ile karşılaştırıldığında KFF metodu verim etkinliği ve mikrobiyal büyüme hızı yüksek, karışık mikroorganizma kültür kullanımına uygun, düşük kaliteli substrat kullanımına olanak tanıyan, tarımsal ve endüstriyel temel ve yan ürünlerin antibesinsel kısıtlamalarını ortadan kaldıran ve mikroorganizma kontaminasyonu ve bulaşıklığını önleyen en uygun metot olarak tercih edilmektedir (Yang vd., 2004; Oboh, 2006).

Bu metodun en önemli sınırlayıcı tarafı ısı ve kütle transferinde yaşanan zorluklardır. Bu zorluklar laboratuarda cam erlenlerde yürütülen fermentasyonda kontrol edilemez. Fermentasyon koşullarının optimize edildiği kontrollü sistemlerde, ısı ve kütle transferi veya yer değiştirmesi uygun karıştırma yöntemleri ile ortadan kaldırılabilir. Bu sınırlama fermente edilecek ürünün fermentasyon esnasında gösterdiği davranışa göre uygun karıştırıcıların seçimi ile ortadan kaldırılabilir. Modern KFF ekipmanları değişik ısı transferine ve kütle değişimine olanak tanıyan seçenekler sunmakta (Du Rue, 1995) ve hayvan beslemede kullanım olanaklarının yüksek olduğu bildirilmektedir (Gaminha vd., 2008).

Bu yüzden, mevcut tezde kullanılacak yemlerin fermentasyon özelliğine uygun çevresel faktörlerin optimizasyonu, kontrolü ve kayıt altına alınmasına olanak tanıyacak laboratuvar boyutlarında pilot bir biyoreaktör seçimi yapılmıştır.

Özellikle, tahıllardan arpa, yulaf ve buğday, yağlı tohum küspelerinden ayçiçeği ve soya küspesi ile elma ve domates posasının kanatlı beslemede kullanım olanaklarını artırmak için modern KFF'na uygun biyoreaktör kullanarak bu yemler fungal ve bakteriyel kökenli GAS (generally regarded as safe) yani güvenli mikroorganizmalar ile fermentasyona uğratarak arzu edilmeyen bileşenlerin (diyetsel lif ve FA vb) azaltılması ve bu yemlere fonksiyonel özellik (enzim aktivite ve antioksidant kapasite vb.) kazandırma işlemlerini gerçekleştirmek hedeflenmiştir.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

KFF ile ilgili araştırmaların çoğu enzim üretmek için tahıl kepeğinden yararlanıldığını göstermektedir. *A. Neurospora*, *Rhizopus* ve *Trichoderma* gibi fungal kökenli mikroorganizmalar fermentasyon sonucu ortaya çıkan pektinaz, selüloz, hemiselüloz, glukanaaz, ksilanaz, proteaz, lipaz, tannaz, fitaz vb. enzimler vasıtasıyla yem ve gıda materyallerini biyolojik olarak değredasyona uğrattırılar (Gow ve Gadd, 1996; Dhillon vd., 2011; Hanson, 2008).

Başta buğday olmak üzere tahıl danelerinin KFF tekniği ile besleme değerinin arttırılmasına dair araştırmalar çok azdır. Hachmeister ve Daniel (1993) *Rhizopus oligosporus* NRRL 2549 veya *R. oligosporus* NRRL 2710 suşları kullanarak buğday, sorgum, arpa, mısır ve tritcale ve yulaf tanesinden fermente gıdalar üretmeyi başarmışlardır.

Son yıllarda Kaur vd. (2009) KFF ile buğdayın protein miktarını %11.2'den %21.3'e kadar arttırmayı başarmışlardır. *Auricularia polytricha*, *Calocybe indica*, *Lentinus edodes*, *Morchella sp.* ve *P. florida* mikroorganizmalarının test edildiği araştırmalarında, en iyi sonuç *Morchella sp.* ile elde edilmiştir. Mathot vd. (1992) *A. niger*'in arpa ile fermentasyonunda (KFF) protein miktarının %22'e kadar arttığını bildirmektedirler.

KFF ile en fazla yürütölen araştırmalar soya ve soya ürünleri ile dir. Soyaya probiyotik özellik kazandırmak için Zhang vd. (2014) soya dane ile *Bifidobacterium animalis* 937, *Lactobacillus casei* Zhang ve *Bacillus subtilis* natto + *Lactobacillus plantarum* P-8 ile KFF gerçekleştirmişlerdir. Sonuçta, KFF işleminin ile soyada laktik asit bakteri sayısında önemli artışlar elde edilmiş ve yeni fonksiyonel soya yeminin probiyotik etkileri ortaya çıkarılmıştır. Fungal (*A. niger*) ve bakteriyel (*B. coagulans*) KFF uygulaması ile soya küspesi ve buğday kepeğinin besin maddelerince (ham protein ve amino asit) zenginleştirilebileceği ve balık beslemede kullanılabileceği bildirilmektedir (Joseph vd., 2008).

Farklı *A. niger* suşlarının çalışıldığđ bir araştırmada en yüksek amilaz aktivitesinin "MTCC-104" suşu ile, soya küspesi, buğday, çavdar ve pirinç kepeği ile yapılan fermentasyonda en iyi sonucun pirinç kepeği ile elde edildiği bildirilmektedir (Kumar ve

Duhan, 2011). Fermentasyon esnasında ortaya çıkan bu tür enzimler ile ön sindirime uğrayan fibröz (diyetsel lif) materyaller mikroorganizmalar tarafından biyolojik olarak kullanılmaya hazır ürünlere dönüştürülebilmekte, sonuçta ABF içerikleri önemli derece azaltılmış fonksiyonel ve besleme değeri yükseltilmiş ürün veya ürünler ortaya çıkmaktadır. Örneğin, kanola küspesinin ham selüloz içeriğinde *A. niger* fermentasyonu ile %25 (Safari vd., 2012) ve kolza tohumunda ise *R. microspores* fermentasyonu ile %25 (Pal vig ve Walia, 2001) ve yine kanola küspesinde *A. ficcum* fermentasyonu ile çözünebilir karbonhidrat miktarında %80 ve çözünmeyen karbonhidrat miktarında %40 azalma (Nair, 1990) bildirilmektedir.

A. oryzae MTCC 3107 ve *T. reesei* MTCC 164 ile yağı alınmış pirinç kepeğinin optimize (30°C sıcaklık, % 75 nem, pH 5.5, spor 1×10^7 /ml, 5 gün) KFF koşullarında amilaz aktivitesi 0.787 IU/g ve selülaz aktivitesi 0.587 IU/g olarak tespit edilmiştir (Gover vd., 2013). Günümüzde farklı yoğunluklarda tek veya karışık mikroorganizma kültürleri kullanılarak fonksiyonel yem-gıda ve/veya katkı maddeleri üretilmektedir. KFF ile *A.niger* kullanılarak "koji" ve "miso" gibi fonksiyonel gıdalar üretimi yapılmaktadır (Machida ve Gomi, 2010). Buna ek olarak, yemlerin ve gıdaların tat, renk ve kokusunda arzu edilebilir değişiklikler oluşturmak, ABF içeriklerini azaltmak ve besleme değerlerini artırmak için *R.oligosporus*, *A. oryzae*, *N. sitophile* ve *L. plantarum* v.b ile KFF'ü oldukça yaygınlaştırmıştır (Gowthaman vd., 2001; Amadou vd., 2010).

Chantet vd. (2011) termo tolerant *L. acidophilus* ve *B. amyloliquefaciens* karışımı (0:3 veya 1:2) ile gerçekleştirilen fermentasyon sonucunda soya küspesinin protein miktarında önemli artışlar elde etmişlerdir. Ayrıca, fermentasyon sıcaklığının 37°C veya 40°C'de yürütülmesinin bir etkisi gözlenmemiş, ancak fermentasyona %30 ortam nemi ile başlamanın %40 neme göre protein artışında önemli fark yaptığı saptanmıştır. Soya küspesinin *Lactobacillus plantarum* Lp6 ile KFF'na maruz bırakılması sonucu serbest amino asit (%0.33'den %8.8'e artırılmış) ve biyoaktif peptit moleküler miktarının arttığı bildirilmektedir (Amadou vd., 2011).

Song vd. (2008) yaptıkları çalışmada soya küspesinin *Saccharomyces cerevisiae* ile fermentasyonu ile protein miktarı %47'den %58'e, *L. plantarum* ve *B. lactis* fermentasyonu ile de sırasıyla %52 ve %52.14'e arttığını bildirmişlerdir.

Rashad vd. (2011) 6 maya suşu (*Candida albicans* NRRL Y-12; *C. guilliermondii* NRRL Y-2075; *Kluyveromyces marxianus* NRRL Y-7571 ve NRRL Y-8281; *Pichia pinus* ve *S. cerevisiae* NRRL Y-12632) kullanarak "okora" adlı soya yan ürününü fermente ettikleri çalışmalarında ham yağ ve karbonhidrat miktarında azalış ile paralel olarak ham kül oranında %3-25'lik artış, ham protein miktarında %20-54 arasında bir artış ve ham selüloz oranında %8-48'lik bir azalış tespit etmişlerdir.

Soya küspesinin *A. oryzae* ile 2 gün fermentasyonu protein miktarında %10'luk artış sağlamaktadır (Kim vd., 2010a). Bu artışın sebebi olarak fermentasyon esnasında mikroorganizmaların proteaz sentezini artırması olmuştur (Kim vd., 2010b).

Koreye ait geleneksel soya gıdasının *B. subtilis* ile fermentasyonu sonucu proteaz aktivitesi 590 ve nötr proteaz aktivitesi ise 528 mikrogam/ml gibi çok yüksek düzeylere kadar çıkmıştır (Kim vd., 2012).

L. plantarum, *Bifidobacterium lactis*, *S. cerevisiae*, *B. subtilis*, *A. oryzae*, *R. oryzae*, *Actinomucor elegans*, *R. oligosporus* gibi mikroorganizma fermentasyonu ile soya ve soya yan ürünlerinde başta kükürt içeren amino asitler olmak üzere toplam amino asit miktarı artmaktadır (Frias vd., 2008; Hong vd., 2004; Kim vd., 2010b; Weng ve Chen, 2010).

A. oryzae kullanarak %50 nem, 30°C sıcaklık ve 10^7 spore/g inokulant koşullarında buğday kepeği, pamuk tohumu küspesi ve soya küspesi yemlerini ayrı ayrı ve uygun karışımlarının 72 saat fermentasyonunda, en yüksek proteinaz aktivitesi buğday kepeği ve soyanın tek veya birlikte kullanıldığı karışımlarda elde edilmiştir (de Castro vd., 2013).

Lin vd. (2006), yaptıkları çalışmada *A. oryzae*, *A. sojae*, *Actinomucor taiwanensis*, *A. awamori*, ve *Rhizopus spp.* mikroorganizma kültürleri ile gerçekleşen KFF'da "koji" fermente soya ürününün metanol ekstraksiyonu ile tespit edilmiş antioksidant düzeylerinin (Di(phenyl)-(2,4,6-trinitrophenyl) iminoazanium-DPPH radikallerini yok etme derecesi ve Fe^{+2} ile şelat oluşturma aktivitesi olarak ölçülmüş) arttığı ve en yüksek antioksidant aktivitesinin *A. awamori* soya koji ürünü ile elde edildiği bildirilmiştir.

Bacillus pumilus HY1 ile 60 saat fermente edilen "Cheonggukjang" ürününde DPPH radikallerini bağlama aktivitesi %54'den %96'a kadar artmıştır (Cho vd., 2009). *B. subtilis* ile fermente edilen "soya kinema" ürününde %60 DPPH bağlama aktivitesi gözlenmiştir (Moktan vd., 2008). Antioksidant kapasitesinin artmasının nedeni olarak fermente soya ürünlerinde toplam fenolik bileşik içeriğinin artması gösterilmiştir (Moktan vd., 2008; Cho vd., 2009; Lin vd., 2006). Fenolik bileşikler bitkilerde çevre ile interaksiyonun bir sonucu olarak ikincil metabolitler olarak oluşur. Yapısal antioksidant karakteristiklerinden dolayı antikanserojen, antienflamatör gibi bir dizi biyolojik fonksiyonları vardır (Han vd., 2007). Bunun yanı sıra tarımsal yan ürünlerin *R. stolonifer* LAU 07 ile fermentasyonunda antioksidant kapasitelerinde artışlar bildirilmiştir (Lateef vd., 2008). Soya yan ürünlerinin antioksidant kapasiteleri en fazla *K. marxianus* NRRL Y-828 suşu ile elde edilmiştir (Rashad vd., 2011).

KFF işlemlerinde, *R. oligosporus* türüne ait 2 farklı suşun ve *A. oryzae* türünden 8 farklı suşun hepsinin fitaz enzimi salgıladıkları bildirilmektedir (Wang vd., 1980). Soya küspesi fitin fosfor düzeyinin *R. oligosporus* NRRL 2710 ile fermentasyonu sonucu %33 oranında azaldığı (Egounlety ve Aworth, 2003), hayvanlar için fosforun yararlılığının arttığı (Hirabayashi vd., 1998) ve rasyonel inorganik fosfor katılımından tasarruf sağlandığı (Matsui vd., 1996) bildirilmektedir.

Shojaosadati vd. (1999), yaptıkları çalışmada *Neurospora sitophila* fermentasyonu ile narenciye posası (%61.5), buğday kepeği (%54.5) ve pancar unu (%75) selüloz içeriğinin önemli bir kısmı parçalanarak protein biyokütlesine dönüşümü sağlanmıştır. Selüloz, bakteri ve fungal kökenli mikroorganizmalar tarafından karbon kaynağı olarak kullanılmaktadır (Krishna, 2005). Mikroorganizmaların karbonhidratları kullanarak enerji ve yağ asidi üretimi yaptıkları da bilinmektedir (Hong vd., 2004). Krishna (2005), karbonhidratlardan (selülaz yolu ile) bitkisel protein kütlesine dönüştürücü olarak kullanılan en güçlü mikroorganizmanın *Trichoderma sp.* olduğunu bildirmektedir.

Lateef vd. (2008), yaptıkları çalışmada tarımsal yan ürünlerin *R. stolonifer* LAU 07 fungal suşu ile fermentasyonu sonucu protein miktarlarının %33-95 oranında arttığını ve ham selüloz oranının %7-44 oranında azaldığını bildirmektedir. Aynı araştırmacılar siyanid miktarında %90 kadar bir düşüş tespit etmişlerdir. Kağıt endüstrisi atığının maya ve

bakteri ağırlıklı probiyotik (%5-15 w/w), melas, üre, amonyum sülfat, kalsiyum karbonat ve vitamin-mineral karışımı ile birlikte değişik sürelerde fermente edilmesi sonucu son üründe ham protein, ham yağ, laktik asit ve amonyum azot miktarında, önemli artışlar ile kuru madde, ADF, NDF ve ham külde önemli azalmalar tespit edilmiştir (Ruiz-Barrera vd., 2013).

Dos Santos vd. (2012), yaptıkları çalışmada patates kabuklarının *A. niger* ile KFF sonucu en yüksek selüloz aktivitesi 82.9 saat, %51.48 nem, 29.46°C sıcaklık, ve en yüksek ksilanaz enzim aktivitesi de 81.82 saat, % 50.72 nem, 28.85°C sıcaklık ile elde edildiği bildirilmiştir.

Elma posası ile ilgili biyolojik ürün üretme çalışmalarında *C. utilis*, *A. niger*, *A. oryzae*, *F. moniliforme* ve *P. ostreatus* mikroorganizmaları kullanılmıştır (Villas-Boas vd., 2003; Joshi vd., 2006; Shojaosadati ve Babaeipour, 2002; Niture ve Pant, 2007). Elma veya diğer meyve posalarının ancak %25-30'unun gübre, yakıt, yem ve endüstri hammaddesi olarak kullanıldığı bildirilmektedir ve geriye kalan kısmın çevresel sorunlar oluşturduğu rapor edilmektedir (Joshi ve Devender, 2006). Bu yüzden elma posasından pektin, etanol, laktik asit, sitrik asit, enzim ve diğer biyolojik moleküllerin üretiminde yararlanmak için değişik metotlar geliştirilmiştir (Zheng ve Shetty, 1998 ve 2000; Shojaosadati ve Babaeipour, 2002; Schieber vd., 2003; Joshi ve Devender, 2006, Joshi vd., 2006). Elma posasının, özellikle %5 oranında *S. cerevisiae*, %1.8 amonyum sülfat ve 300 ppm potasyum metasüfit ile 25°C'de 4 gün fermente edildikten sonra etanolü uzaklaştırılmakta ve son üründe protein düzeyi yüksek elma posası yemi üretilmektedir (Joshi ve Devender, 2006). Bu şekilde elde edilmiş elma posasının 1:1 oranında etlik piliç yemi ile birlikte hayvanlara yedirildiğinde iç organlarda herhangi bir zarar oluşturmadan 6-8 haftalar arası büyüme oranını arttırdığı bildirilmiştir (Joshi ve Devender, 2000).

Ajila vd. (2011), yaptıkları çalışmada elma posasının *P. chrysosporium* ile KFF'nu sonucu fenolik antioksidant düzeyini önemli miktarda arttırmayı başarmışlardır.

Villas-Boas vd. (2003), yaptıkları çalışmada elma posasını *C. utilis* ile fermentasyona maruz bırakarak protein içeriğinde %100'lük artış, mineral içeriğinde %60 ve yemin

sindirilebilirliğinde %8.2'lik artış elde etmişlerdir. Amonyum sülfat ilave edilmesi sonucunda serbest şeker miktarında %97 azalma gerçekleşmiştir. Elma posasının *C. utilis* ve *P. ostreatus* ile birlikte 60 gün fermentasyonu protein içeriğinde %500 artışa neden olmuş, ancak uygulamada pratik bir yöntem olarak görülmemiştir. Elma posasının tek başına *P. ostreatus* ile fermentasyonunda serbest şeker miktarında artış gözlenmiştir.

Zhong-Tao vd. (2009), yaptıkları çalışmada elma posasını 1:1 ağırlık esasına dayalı olarak pamuk tohumu unu ile birlikte $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ve KH_2PO_4 mineral karışımı ve *A. niger* M2 ve M3 (2:1, w/w) suş karışımından %0.4 (w/w) oranında katılımı ile 30°C 48 saat KFF metodu ile fermentasyonunda yüksek enzim aktivitesine sahip (pektinaz 21168 U/g, proteinaz 3585 U/g ve selüloz 1208 U/g) ve pektin ve tannin (sırasıyla %99 ve %66 degedasyon) içerikleri minimize edilmiş "fonksiyonel ürün" üretmeyi başarmışlardır.

Dhillon vd. (2012), yaptıkları çalışmada en yüksek selüloz aktivitesinin elma posası (pirinç samanı ile birlikte) *A. niger* NRRL-567 ile bakır sülfat kullanıldığında 48 saatlik KFF'nunda ve yüksek ksilanaz enzimleri de aynı koşullarda veratril alkol kullanımı ile elde edilmiştir.

Rizal vd. (2010 ve 2012), elma, havuç, portakal, kavun ve domates posalarının eşit miktarda kurutularak etlik piliç rasyonlarında mısır yerine %40 oranında ikame edileceğini ve bu karışımın *T. viride* (%5.0, 7.0 ve 9.0) ile 0, 5, 7, 9 ve 11 gün KFF'nu ile besin maddelerince zenginleştirildiğini bildirmektedir.

Azza vd. (2013), yaptıkları çalışmada *S. cerevisiae*, *B. subtilis* ve *P. salmoneo-stramineus* ile tarımsal yan ürünlerin besleme değerlerinin artırıldığını bildirmektedir. *P. salmoneo-stramineus* MLCCNO. 117 ile KFF sonucu domates posasında ham protein %23-59 oranında artmış, ham selüloz içeriği %18-30 oranında azalmıştır. *S. cerevisiae* ATCC 2601 ile fermentasyon sonucu domates posasında toplam fenolik bileşik ve antioksidant aktivitesi artmaktadır.

P. ostreatus NRRL-0366 suşunun narenciye posasının KFF'nunda pektinaz enzim aktivitesini arttırdığı (Rashad vd., 2009) ve KFF'nunda 30°C sıcaklık ve pH 3.5 ortamında poligalakturanaz enzim aktivitesini artırmak için çok uygun koşullar olduğu (Rashad vd., 2010), aynı mikroorganizmanın bir başka suşunun domates posasının KFF'nunda poligalakturonaz enzim aktivitesinin önemli miktarda arttığı (Freixo vd., 2008), aynı mikroorganizmanın farklı suşları arasından *Pleurotus florida*'nın karbon kaynağı olarak %1 karboksimetilselüloz varlığında %0.5 oranında malt ekstraktı ile 12 gün boyunca selülaz enzim aktivitesini maksimize ettiği ve endo ve ekzo glukanaaz enzim aktivitesi için en uygun koşulların 35-40 °C ve pH 5.0 , β -glukosidaz enzim aktivitesi içinde 30°C sıcaklık ve pH 4.5 olduğu (Goyal ve Soni, 2011) bildirilmektedir.

Kurt ve Buyukalaca, (2010) *P. ostreatus* ve *P. sajor-caju* suşlarından değişik tarımsal yan ürünler ile birlikte fermentasyonunda karboksimetilselüloz ve lakkaz enzim aktivitesinin fermentasyonun 5. gününde maksimum düzeye ulaştığını bildirmektedirler. *P. ostreatus* ve *Trametes versicolor* ile domates posasının KFF'nu sonucu *Aspergillus* suşlarından daha fazla proteaz enzim aktivitesi elde edildiği ve her iki enzim karışımı ile lakkaz enzim aktivitesinde önemli derecede yüksek değerlere ulaşıldığı bildirilmiştir (Iandolo vd., 2011).

KFF metodu ile yenilikçi ürünler formüle etme (Kim vd., 2010a), daha küçük moleküler ağırlıkta proteinler (peptid boyutunda küçültme) ortaya çıkarma (Hong vd., 2004), özellikle *B. subtilis* fermentasyonu ile proteinlerin tamamen parçalanması (Weng ve Chen, 2010), biyolojik yarayışlılığı yüksek ürünlerin sindirim sistemi fonksiyonel etkinliğinin artırılması (Kiers vd., 2003), büyümeyi arttırıcı ve bağışıklık düzenleyici (Yamamoto vd., 2007) yeni biyolojik ve fonksiyonel moleküllerin elde edilmesi söz konusudur. Bu proseslerden uzun ve yorucu dizayn ve Ar-Ge çalışmaları sonucu elde edilen ürünler hali hazırda ticarileştirilmeye çalışılmaktadır. Örnek olarak, PepSoyGen® (PSG; Nutraferma Inc. of North Sioux City, SD, USA) *Aspergillus spp.* ve *Bacillus spp.* ile fermentasyonu sonucu elde edilen ticari bir üründür. Balık rasyonlarında bu yeni ürünün (High-value protein and microbials) %30'a kadar katılabileceği ve böylece balık unu yerine %50 oranında kullanılabileceği bildirilmiştir (Barnes vd., 2012). Nutraferma firması tarafından üretilen bu ürünün yanısıra, "fonksiyonel soya küspesi" adlı başka bir ürün daha patent almıştır. Bu ürün KFF yolu ile *B. subtilis* ve *Pediococcus pentosaceus*

mikroorganizmaları tarafından üretilmiş ve pazarda güçlü bir alternatif olarak satılmaktadır (Nutraferma, 2014).

Fermentasyon etkinliği veya verimliliği, kullanılan mikroorganizma türü, mikroorganizma inoküle yoğunluğu, kültürün yaşı, fermentasyon süresi, fermentasyon koşulları (oksijen, nem, sıcaklık, karıştırma hızı, hava akışı, oksijen ve karbondioksit konsantrasyonu v.b.) ile fermente karışımının (substrat) partikül büyüklüğü ve C:N oranı tarafından etkilenmektedir (Krishna, 2005; Khalil, 2006). Membrillo vd. (2011), yaptıkları çalışmada *P. ostreatus* gibi fungal mikroorganizmalardan uygun enzim aktivitesine sahip fermente karışımlar üretmede kullanılan substratın parçacık büyüklüğünün etkisinin önemli olduğunu bildirmektedir. Lignin ve selüloz parçalanımı için düşük (0.92 mm) veya lakkaz enzim aktivitesi için yüksek (2.9 mm) ve ksilanaz aktivitesi için orta (1.68 mm) büyüklükte materyal kullanımının daha uygun olduğu saptanmıştır.

KFF tekniğinde kullanılan substrat genelde temel potasyum kaynağını oluşturur (Pandey, 2003). Bunların çoğu ise tarımsal yan ürünler veya atıklardır. Bu yüzden karbon kaynağı olarak KFF tekniğinde hemen hemen her şey kullanılabilir (Gaminha vd., 2008). KFF metodunda en önemli özellik, düşük su aktiviteli substrat kullanımı, mikroorganizmaların fizyolojik özellikleri (spor oluşturma, vejetatif aksam gelişimi, çimlenme) ve üretilen metabolitler ve enzimler üzerine etkili olmasıdır. Gliserol, mannitol ve arabitotel üretimi genelde düşük su aktivitesi gösteren substrat kullanımından kaynaklanır. Sitrik asit, laktik asit, okzalik asit gibi organik asitler de KFF ile üretilmektedir (Ruijter vd., 2004; Holker vd., 2004). Protein KFF esnasında farklı bir yapılanma içerisine girebilir. İki farklı proteaz enzimi ve Glukoamilaz B enzimi ancak KFF ile elde edilmektedir. Tüm bu ürünler düşük su aktivitesinden elde edilir. Diğer taraftan maksimum poligalakturanaz ve ksilanaz (*T. viridae* ile KFF) ve β -glukosidaz sentezi 0,96-0,99 su aktivite koşullarında elde edilmektedir (Ishida vd., 1998 ve 2000; Biesebeke vd., 2002; Gajek ve Gervais, 1987).

KFF'de hava giriş ve çıkışının regülasyonu önemlidir. Fermentasyon esnasında ortaya çıkan ısı artışının düşürülmesi ve CO₂'nin ortamdan uzaklaştırılması gereklidir. Her bir mikroorganizma için ve elde edilecek son ürünün verimini etkileyecek pO₂ ve pCO₂ değerleri bilinmelidir (Chahal, 1987). Havalandırma fermente ürünün por büyüklüğü ile yakından alakalıdır. Partikül büyüklüğü partiküller arası boşluğu etkileyen faktördür.

Alkol, aldehit ve keton üretimi genelde düşük oksijen gereksinimi duyulan ortamdan elde edilir (Feron vd., 1996; Medeiros vd., 2001). Düşük oksijen girişi amilaz enzim miktarını azaltmaktadır (Rahardjo vd., 2005). Sargin ve Ongen (2003), en yüksek ksilanaz üretimini KFF uygulamasında 3.33 l/min/kg hava giriş hızı ile elde etmişlerdir. Sıcaklık ise hem havalandırma hem de su aktivitesi ile yakından ilgilidir. Biyoreaktörde ısı artışı proteinleri denatüre eder ve özellikle *P. fellutanum* KFF çalışmasında protez aktivitesi sıcaklığın 40°C'nin üzerinde ve hava girişinin düşük olduğu durumlarda önemli ölçüde azalmaktadır (Santos vd., 2004). Bu yüzden, havalandırma oksijen sağlama amacından çok ısıнын düşürülmesi amacı ile gerçekleştirilmelidir. Isının düşmesi sonucunda da ortam neminde azalma olacaktır. Bunun için içeri giren havanın uygun oranda nemlendirilerek verilmesi ve ortam su aktivitesinin düşürülmemesi gerekir. Bunun yanı sıra, faktöriyel deneme modelinde *A. niger* LPB 326 ile çalışılan KFF'de en yüksek ksilanaz enzim aktivitesi (3099 IU/g KM) şeker kamışı yan ürünü + soya küspesi (%65+35), başlangıç nem oranının %85 ve CuSO₄, KH₂PO₄ ve CoSO₄ içeren mineral çözelti ile 30°C ve 4 gün süre ile elde edilmiştir (Maciel vd., 2008).

Shahi vd. (2011), yaptıkları çalışmada *A. niger* CCUG 33991 ile yapılan KFF denemesinde en iyi (1465 U/g KM) ksilanaz aktivitesine sahip ürün 29°C sıcaklık, %55 nem ve 50 saat fermentasyondan elde edilmiştir.

Rajesh vd. (2012), *T. reesei* (MTCC 164) ile pirinç kepeği ve mısır samanından selüloz enzimi üretimi için en uygun koşulların pH 5.0 ve 28°C sıcaklık olduğunu bildirmektedir. Fadel vd. (2014), beyaz mısır ununun substrat olarak kullanarak *A. niger* F-119, *A. niger* F-93, *A. oryzae* F-236, *A. fumigatus* F-993, *T. harezinum* F416, *T. reesei* F-418, *T. vitide* F-127, *T. viride* F-321, *T. konogii* Fk-77 ve *P. finculosium* NRCE 629 gibi çok sayıda mikrorganizmayı farklı nem (% 35, 40°C, 45°C, 50°C, 60°C, 65°C, 70°C, 75°C ve 80°C), sıcaklık (25°C, 30°C, 35°C, 40°C ve 45°C) ve pH (3.0-8.0) koşullarında KFF'de en yüksek ksilanaz enzim aktivitesini *A. fumigates* F-993 ile elde etmişlerdir. *A. niger* ile buğday kepeğinin KFF'nunda en yüksek endoglukanaz üretimi (56.1 U/g) %72 ortam nem, %70 hava nemi, 20 ml/dak hava giriş hızı koşullarından elde edilmiştir (Farinas vd., 2011). Çeşitli tarımsal yan ürünler ile yürütülen bir KFF çalışmasında en yüksek manganperoksidaz enzim aktivitesi bakır sülfat ve tween 80 çözeltilerinin ortama eklenmesi ile elde edilmiştir. En yüksek lignin peroksidaz enzim aktivitesi elma posası

ve kağıt yan ürünü ile elde edilmiştir. Lakkaz enzim aktivitesi bakır sülfat ilavesi ile yükselmiştir. Maksimum lakkaz enzim aktivitesi biracılık yan ürünü ve elma posasından elde edilmiştir (Gassara vd., 2010). Gessese ve Mamo (1999), *Bacillus sp. AR-009* içeren kültür çözeltilisinden %10 oranında buğday kepeği ile KFF çalışmasında en yüksek ksilanaz üretimi buğday kepeği ve su karışımının 1:0.5 veya 1:1.5 olduğu ve %10 sodyum karbonatın kullanıldığı durumlarda elde etmişlerdir. Aşağıda literatürden ayıklanmış bazı mikroorganizma şuşları ve katı faz fermentasyonunda alınan sonuçlar verilmiştir;

Çizelge 2.1. Literatürden ayıklanmış mikorganizma şuşları ve KFF ile alınan sonuçlar

Mikroorganizma adı	Koşullar	Yem maddesi	Başarı ölçütleri	Referans
<i>A. niger</i> <i>A. niger</i> LPB 326 <i>A. niger</i> M1, M2 ve M3 <i>A. oryzae</i> M4 <i>A. niger</i> NCIM 616 <i>A. niger</i> S14 <i>A. sulphureus</i>	24-32°C, 3-8 gün	Tahıl yan ürünleri Yağlı tohum küspeleri Patates kabuğu Şeker kamışı yan ürünü Balık unu	FF (%35-74 azalış) TAN (%30-66) Glikosinolat (%63) ÜA (%58 azalma) HP (%13-66 artış) HY (%32 artış) NÖM (%17-75 azalış) Pektin (%99 azalma) Enzim aktiviteli	You-Ling vd. (2013) Safari vd. (2012) dos Santos vd. (2012) Maciel vd. (2008) Zhong-Tao vd. (2009) Joseph vd. (2008) Lu vd. (2004)
<i>Auricularia polytricha</i> <i>Calocybe indica</i> , <i>Lentinus edodes</i> , <i>Morchella sp.</i> <i>Pleurotus florida</i>	25 gün	Tahıl Daneleri	HP (%80-100 artış) Optimum koşullar: (<i>Morchella sp.</i> ile 20-25 gün)	Kaur vd. (2009)
<i>B. subtilis</i> ATCC 6633 <i>B. amyloliquefaciens</i> <i>B. coagulans</i> <i>Bacillus sp. AR-009</i> <i>B. subtilis natto</i>	37°C, 48-72 saat	Soya Danesi Soya Küspesi Tahıl yan ürünü Domates posası	HP (%3-104) HY (%7.7) HS (%17 azalış) HK (%80 artış) NÖM (%11-59 azalış) TFEN (%50 artış) AOA (artış) Ksilanaz, Selülaz, LAB ve DMP mik. artış.	Zhang vd. (2014) Azza vd. (2013) Chantet vd. (2011) Joseph vd. (2008) Gessese ve Mamo (1999)

<i>Bifidobacterium animalis</i> 937	37°C, 48 saat	Soya Danesi	LAB sayısında artış, HP düzeyinde artış DMP mik. artış.	Zhang vd. (2014)
<i>C. albicans</i> NRRL Y-12; <i>C. guilliermondii</i> NRRL Y-2075, <i>Kluyveromyces marxianus</i> NRRL Y-7571, <i>Pichia pinus</i> , <i>S. cerevisiae</i> NRRL Y-12632	30°C, gün	"Okara" soya ürünü	HP (%20.1- 54.4 artış) HS (%7.4-45.5 azalma). TFEN (artış) AOA (artış)	Rashad vd. (2011)
<i>C. tropicalis</i> <i>C. utilis</i> (CCT 3469)	28-30°C, 6-10 gün	Sorgum Posası, Elma Posası	HP (%100-150) HK (% 60) Şeker (%97)	Abalaka vd. (2011) Villas-Boas vd. (2003)
Kefir Kültürü	30°C, 4 gün	Posalar, melas v.b	HP (%18 artış) HY (%230 artış)	Aggelopoul vd. (2014)
<i>Kluyveromyces marxianus</i> IMB3	30°C, 4 gün	Tarımsal yan ürün karışımı (posalar, melas v.b)	HP (%68 artış) HY (%500 artış)	Aggelopoul vd. (2014)
<i>L.acidophilus</i> <i>L. brevis</i> , <i>L. casei</i> Zhang, <i>L. salivarius</i> 51R <i>L. plantarum</i> P-8 <i>L. plantarum</i> Lp6;	37°C, 48-72 saat	Soya küspesi	Tİ (%57 artış) ÜA (%83 azalma) FF (%5.2 azaltma) HP ve HY artışı LAB , SAA, DMP (artış)	Zhang vd. (2014) You-Ling vd. (2013) Chantet vd. (2011) Amodou vd. (2010)
<i>P. chrysosporium</i> <i>P. chrysosporium</i> BKM-F-1767	37°C 14 gün	Elma posası Bira, Balık, Kağıt kalıntıları	LgP, MnP, Lakkaz, TFEN (%58 artış) AOA (%91 artış)	Ajila vd. (2011) Gassara vd. (2010)
<i>P. ostreatus</i> var. <i>roseus</i> (syn) <i>P. ostreatoroseus</i> CCT 2603 <i>P. salmoneo-stramineus</i> MLCC No. 117	25-30°C, 3-6 gün	Elma posası Domates posası	HP (%156-500) HY (%35 azalış) HS (%38 azalış) HK (%120 artış) NÖM (%76 azalış) TFEN (%20 artış) AOA artış)	Azza vd. (2013) Villas-Boas vd. (2003)
<i>Rhizopus stolonifer</i> LAU 07	30°C, 5 gün	Tarımsal yan ürünler (toplam nem, %60-70)	HP (%33 -94 artış) HS (%7-44 azalma) Siyanid (%90	Lateef vd. (2008)

			azalma) AOA (artış).	
<i>S. cerevisiae</i> <i>S. cerevisiae</i> AXAZ-1 <i>S. cerevisiae</i> ATCC 2601	30°C, 5-10 gün	Elma Posası Narenciye posası Sorgum posası	HP (%75-%180 artış) HY (%7-230 artış), HK (%47 artış) HS (%33 artış) NÖM (%33-400 azalış) Vit C (%100 artış). TFEN (%450 artış) AOA (artış)	Aggelopoul vd. (2014) Azza vd. (2013) Abalaka vd. (2011) Joshi ve Devender (2006)
<i>T. reesei</i> + <i>A. niger</i> BC-1, <i>T. Longibrachiatum</i> , <i>T. reesei</i> (MTCC 164), <i>T. viride</i>	25-30 °C, 5-11 gün	Tahıl yan ürünler, sebze atıkları, meyve posaları	HP yükseltme, HS azaltma , Selulaz, Betaglukosidaz, Ksilanaz,	Rajesh vd. (2012) Rizal vd. (2012) Dhillon vd. (2011) Sargin ve Ongen (2003)

AOA (antioksidant aktivitesi); DMP (Düşük molekül ağırlıklı peptid miktarı); FF (fitin fosforu); HK (ham kül); HP (ham protein); HS (ham selüloz); HY (ham yağ); LAB (laktik asit bakteri sayısı); LgO (ligninperoksidaz); MnP (manganperoksidaz); NÖM (nitrojensiz öz maddeler); SAA (serbest amino asit miktarı); TAN (tanin); TFEN (toplam fenolik bileşikler); Tİ (tripsin inhibitörü); ÜA (üreaz aktivitesi).

Kısacası, KFF tekniğinde, en önemli faktörler: 1-Uygun karbon kaynağının seçimi, 2-Üretim amacı (organik asit, enzim, mikroorganizma hücre v.b) doğrultusunda uygun su aktivitesi seçimi ve 3-Oksijen sağlama ve ısının düşürülmesi amacına yönelik havalandırma vb. faktörlerdir.

Kaynak araştırmaları sonucuna göre, kullanılacak ürüne özgü olarak KFF için uygun koşulların seçimi yapıldıktan sonra başarı ile sonuçlanan fermentasyon çalışmaları vardır. Bu tez çalışmasında, kullanılan her bir yem materyali için Çizelge 2.1’de verilen ve pozitif etkileri söz konusu olan GAS mikroorganizmalar seçilmiş ve yine kaynak araştırması sonucu en etkili fermentasyon koşulları tespit edilmiştir.

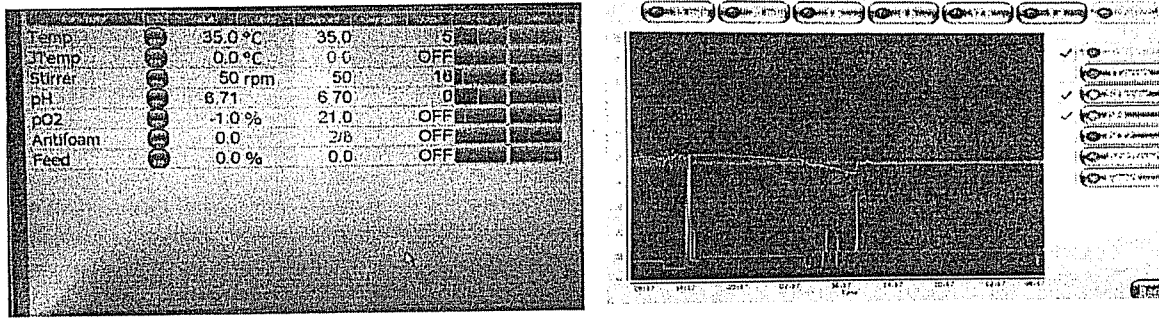
3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Yem materyalleri

Bu çalışmada yağlı tohum küspelerinden kanatlı beslemede en çok kullanılan soya fasülyesi küspesi ve ayçiçeği tohumu küspesi, tahıllardan arpa, yulaf ve buğday ile endüstriyel yan ürünlerden elma ve domates posası kullanıldı. Yem maddeleri örneklerinden her bir fermentasyon işlemi için 3 kg'a (%98 kuru madde) gereksinim duyulmaktadır. Çalışmada 4 adet mikroorganizma suşu (Çizelge 3.1'de belirtildiği gibi) ve 7 yem örneği ile 9 adet mikrobiyal ve 7 adet kontrol (kontrol yemleri) fermentasyon işlemi gerçekleştirilmiştir.

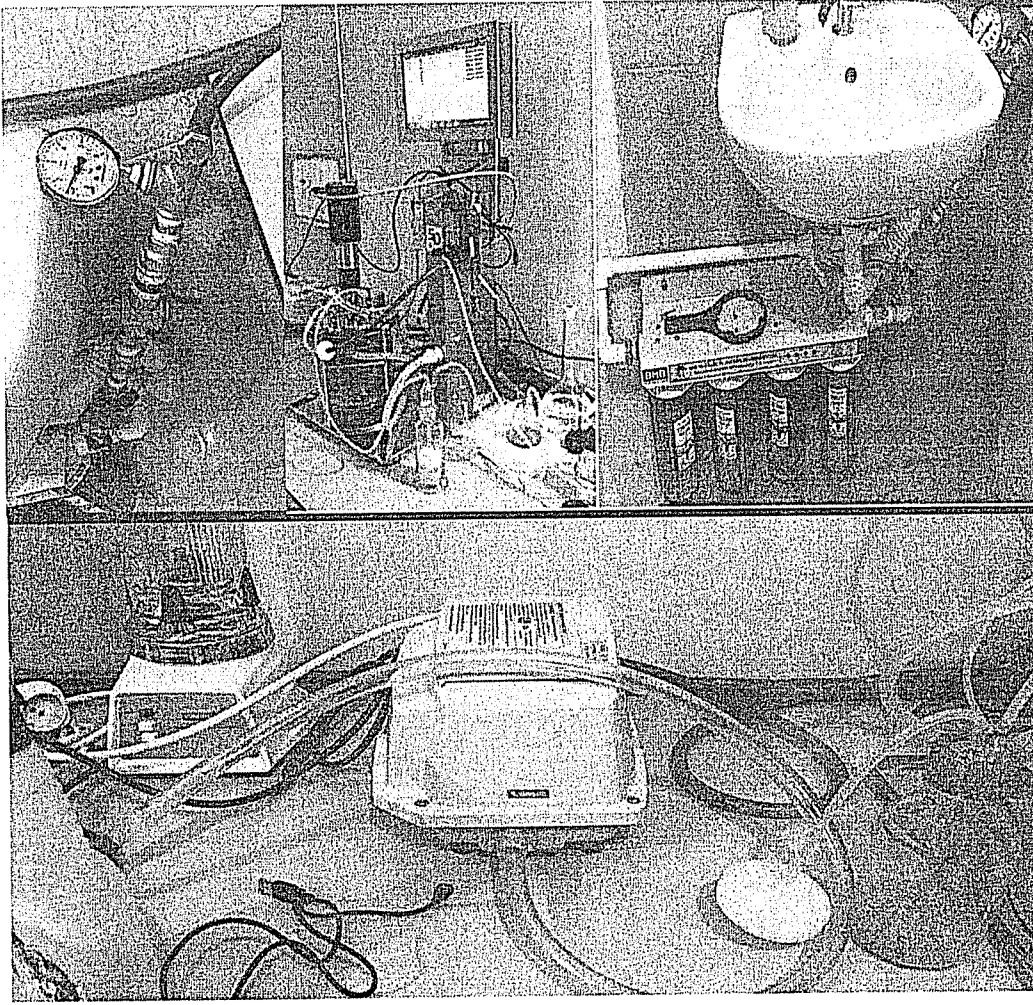
3.2. Biyoreaktör

Kullanılan biyoreaktör toplam 5 L hacimde, 2-5 L çalışma hacimlidir. Çalışma kapasitesi 2.5-3 lt olarak belirtilmiştir. Bu yüzden, biyoreaktöre yüklenen toplam hacim 2.5 lt'i geçmeyecek şekilde katı ve sıvı ile doldurulmuştur. Ayçiçeği ve soya küspesinin katı faz fermentasyonu (KFF) için belirlenen nem miktarı %60'dır. Bu yüzden sisteme yüklenen yemlerin hacmi ön ölçümlerle belirlenmiş ve 121°C'de 15 dakika otoklavda sterilize edilmiştir. Yemler katı formda sterilize edilmiştir. Yaptığımız ön denemede 3 mm elekten öğütülmüş yemi %60 neme ulaştırmak için su ilave edildikten sonra yapılan sterilizasyon işleminde yemdeki organik madde tekstürü bozulduğundan fermentasyon için uygun görülmemiştir. Bu yüzden, tüm sıvı (distile su, asit ve baz çözeltileri) ve katı bileşenler ayrı ayrı otoklav edilmiştir. Biyoreaktörün tüm parçaları alüminyum folyo ile kaplanarak benzer şekilde sterilize edilmiştir. Biyoreaktör cam ünitesi sterilizasyondan sonra steril kabin içerisine alınmış ve burada sıvı ve katı materyaller karıştırıldıktan sonra kapağı sıkıca kapatılmış ve tüm hortumları emniyet kilidi ve filtre (0,25 mikrometre) ile kapatıldıktan sonra fermentasyona başlamadan önce ana üniteye monte edilmiştir. Biyoreaktör çalıştırma rehberinde belirtilen işlemlere uyularak, sisteme basınç düşürücü ve ön filtreleme aparatlarından geçtikten sonra su girişi 2 barın altında olacak şekilde verilmiştir. Ana kontrol panelinde Çizelge 3.2.'de belirtilen sıcaklık (30-34°C) ve pH (6.5-7.0) set değerleri girilmiştir.



Şekil 3.1. Biyoreaktörden alınan parametreler

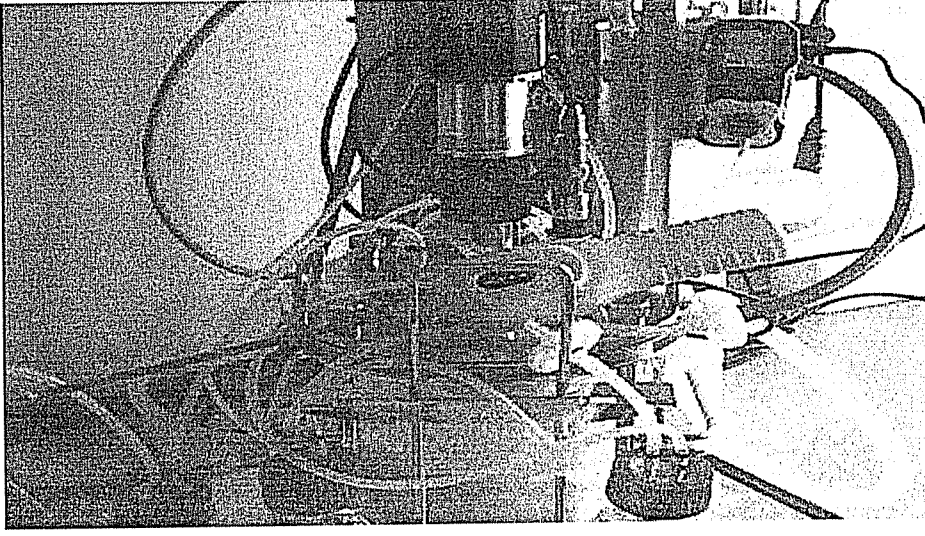
Karıştırma hızı fermentasyon süresi boyunca 20-100 rpm arasında olacak şekilde ayarlanmıştır. Yapılan ön denemeler ile sıcaklığın istenilen "set" değerinde fermentasyon boyunca sabit kalması için karıştırma hızının ayarlanması gerekir. Çünkü, sistemde sıcaklık ayarı biyoreaktörün dış cidar çeperlerinde dolaşan sıcak su ile gerçekleştirilmektedir. Sıcaklık ölçümü yapan sensör biyoreaktörde fermente olacak yem içerisinde olduğundan dolayı ürünün "set" sıcaklığında sabitlenmesi için uygun bir hızda karıştırılarak ısının homojen ve etkin dağılımı yapılmalıdır. Karıştırma hızı fermente ürünün tipine göre değişmektedir. Ön çalışmalarda soya ve ayçiçeği küspesi için uygun karıştırma hızının 20-90 rpm (ortalama 50 rpm) arasında olduğu ve ortalama 50 rpm'in uygun olduğu gözlenmiştir. Fermentasyon işleminde ek oksijen gaz tüpünün sisteme bağlanmasına gerek olmamıştır. Çünkü ortamdan gerekli gazların uzaklaştırılmasında normal hava içerisindeki oksijen miktarının yeterli olduğu gözlenmiştir. Atmosferik hava girişinde (%21 oksijen varsayımı) herhangi bir oksijen analizi yapılmamıştır. Hava girişi sisteme uygun aparatlar satın alınarak (hava pompası, hortum ve filtreler) sisteme eklenmiştir.



Şekil 3.2. Biyoreaktör hava ve su girişi sistemi

3.2.1. Gaz ölçümleri

Hava steril filtreler (0.2 mikrometre) kullanılarak sisteme uygun akış hızında (0.5-3.0 litre/dakika) bağlanmıştır. Sistemden çıkan hava yine filtrelerden geçtikten sonra CO_2 , metan, H_2S ve N gazı ölçümlerine tabi tutulmuştur. Portatif gaz ölçüm sensörünün ölçüm aralıkları şöyledir: Karbondioksit %1-100, Hidrojensülfür 1-1000 ppm, Metan %1-100. N gaz ölçümü sistemden çıkan hava, içerisinde %20 borik asit olan steril cam hazneden geçirildikten sonra, toplanan borik asit 0.1 N sülfürik asit çözeltisi ile titre edildikten sonra, dakikada sistemden kaybolan N miktarı hesaplanmıştır. CO_2 , metan ve H_2S miktarı ise gaz detektör cihazı ile belirli fermentasyon aralıklarında ölçülmüştür.



Şekil 3.3. Gaz ölçüm sensörlerinin sistem bağlantısı

3.3. Mikroorganizma suşları ve çoğaltma

Çalışma için yapılan literatür araştırmalarının genel bir sonucu Çizelge 3.1’de verilmiştir. Araştırma makalelerinden elde edilen bu veriler doğrultusunda bu projede başarı sağlayacak ölçütler dikkate alınarak (Çizelge 3.1) 4 adet mikroorganizma suşu (Çizelge3.2’de) seçilmiştir. Bu mikro organizmalar (MO) bilimsel adları ve ATCC numaraları ile birlikte tespit edilmiştir. Bu suşların Türkiye’de temin edilme olanakları araştırılmış, ancak çok az bir kısmına ulaşılabilmiştir. Bu yüzden, yurt dışından MO suşları satın alınmıştır. Siparişler ilgili suşun kullanılacağı tarihten 2 hafta önce yapılmıştır. Suşlar her bir MO için spesifik besi yerlerinde uygun koşullarda inkübe edilerek aktif kültür preparatları sağlanmış ve aktif kültürlerinden yine benzer koşullarda üretilerek fermentasyon karışımına (önceden steril edilmiş) doğrudan katılmıştır. Çizelge 3.1’de test edilecek MO suşları verilmiştir. Bu suşlar spesifik fonksiyonları yerine getirmek amacına yönelik olarak seçilmiştir.

Çizelge 3.1. Fermentasyonda kullanılan mikroorganizma suşları

Kod	Mikroorganizma	DSM Kod	Kullanım Amacı
A	<i>Bacillus subtilis subsp. spizizenii</i> Nakamura et al. (ATCC® 6633™)	DSM 347	Peptid oluşumu
B	<i>Lactobacillus salivarius subsp. salicinius</i> Rogosa et al. (ATCC® 11742™)	DSM 20555	Laktik asit, protein sentezi
C	<i>Phanerochaete chrysosporium</i> Burdsall, teleomorph (ATCC® 24725™)	DSM 6909	Lignin parçalar, posalar için özel, ligninaz, ksilanaz, peroksidaz, ksilanaz,
D	<i>Pleurotus ostreatus (Jacquin : Fries)</i> Kummer, teleomorph (ATCC® 34673™)	DSM 1020	Lakkaz

Soya küspesi ile 4 (4 x 3 kg=12 kg), ayçiçeği küspesi ile 4 (4 x 3 kg=12 kg), arpa ile 3 (3 x 3 kg=9 kg), buğday ile 3 (3 x 3 kg=9 kg), yulaf ile 3 (3 x 3 kg=9 kg), elma posası ile 3 (3 x 3 kg=9 kg) ve domates posası ile 3 (3 x 3 kg=9 kg) fermentasyon işlemi yapılmıştır. Yemler piyasadan temin edilmiştir. Yemlerin fiziksel ve kimyasal açıdan “yem” kalitesinde olmasına dikkat edilmiştir. Yani, nem, küflenme, toz, toprak ve saman vb. yabancı maddelerden arı olmasına dikkat edilmiştir. Fermentasyon öncesi yemler, 1-3 mm elekten geçirilerek öğütülmüş ve homojen olarak distile su ile karıştırıldıktan sonra (fermentasyon için gerekli nem miktarını sağlayacak ölçüde, w/w) 120°C’de 15-20 dakika sterilize edilmiştir. Sterilizasyon öncesi bazı fermentasyon koşullarında gerek pH ayarlanması gerek fermentasyonu hızlandırmak amacıyla yönelik mineral çözelti eklenmesi söz konusudur. Bu yüzden mineral madde ekleme işlemi sterilizasyondan önce yapılmıştır. Fermentasyonda istenilen nem düzeyini sağlamak için (Çizelge3.2’de belirtildiği gibi) distile ve sterilize edilmiş su ve mineral madde solüsyonu kullanılmıştır. Soya ve ayçiçeği küspesine distile su ve 2 mg/g disodyum fosfat (mikroorganizma aktivitesini artırmak için) eklenmiştir (Amodou vd., 2010). Tahıllarda istenilen nemi sağlamak amacıyla mineral madde solüsyonu olarak: %0.1MgSO₄.7H₂O, %0.1KH₂PO₄, %0.1CaCl₂, %0.05 FeSO₄ and %0.1 NH₄(SO₄)₂ (Kumar ve Duhan, 2011) ve %10Na₂CO₃ (Gessesse ve Mamo, 1999) kullanılırken, elma posası ve domates posası ile birlikte mineral madde solüsyonu olarak: %1 (w/w) NH₄NO₃, (NH₄)₂SO₄, NaNO₃ ve NH₄Cl tuz karışımları kullanılmıştır (Zhong-Tao vd., 2009).

Çizelge 3.2."Fonksiyonel Yem" etkileri test edilen mikroorganizmalar ile yürütülen KFF deneme planı fermentasyon koşulları

Yem*	MO Kod	pH	Nem %	Sıcaklık	Test aralığı	Süre**	Optimum kültür düzeyi	Besi Yeri***	Örnekleme sayısı
1,2	A	6,5-7,0	60	30-34°C	4°C	3 gün	10 ⁸ spor/g	NA	8 (0, 24, 48, 72)
3,4,5	B	5,1-5,5	60	32-38°C	4°C	2 gün	5 x 10 ⁸ cfu/ml	MRS	9 (0, 24, 48)
6,7	C	5,5	75	24-28°C	4°C	3 gün	10 ⁸ cfu/ml	MEA	8
6,7	D	3,0-3,5	80	24-28°C	4°C	5 gün	2,5 x 10 ⁶ spor/g	MEA	12

* 1,2,3,4,5,6,7; sıra ile SFK, ATK, buğday, arpa, yulaf, elma posası, domates posası (yemler 1-3 mm büyüklüğünde öğütülmüş) yemlerini temsil eder.

**Örnekleme aralığı, 0.saat dahil her 24 saatlik dilimlerde 10-20 g ağırlığında steril örnek alma kabı ile gerçekleştirilmiştir.

***PDA (Potato Dextrose Agar); MEA (Malt Extract Peptone Agar); NA (Nutrient Agar); MRS (MRS Medium); UMA (Universal Medium Agar).

B. subtilis suşu inokülasyonu ile soya ve ayçiçeği küspesinin fermentasyon amacı probiyotik etkili MO bakımından zengin, antibesinsel faktör bakımından fakir, enzim ve antioksidant düzeyi yüksek ve özellikle ayçiçeği küspesinde ham lif oranı düşük fonksiyonel yem üretimi amaçlanmıştır. Kullanılan *B. subtilis* suşu yeni peptid oluşumu sağlayan bir suştur. Özellikle proteince zengin yemlerden yeni fonksiyonel protein sentezi ve özellikle alkali proteaz enzim üretimi elde edilmesinde kullanılmaktadır. Bu MO suşu ayrıca yüksek laktik asit üretimi sağlayan bir suştur (Joseph vd., 2008).

L. salivarius suşu inkübasyonu ile arpa, buğday ve yulaf gibi tahıl yemleri fermente edilmiştir. Bu suş protein sentezi ve laktik asit üretimi için kullanılan yaygın bir suştur. Tahıllarda protein bakımından düşük olduğu için *L. salivarius* kullanımı ile tahıllarda protein miktarının artması düşünülmüş, bunun yanısıra probiyotik aktiviteli MO sayısında artış ve diğer enzimatik ve antioksidant aktivite miktarlarında artış beklentisi vardır (Joshi ve Devender, 2006).

C ve D mikroorganizma suşları fungal mikroorganizma olup özellikle ham lif materyallerinin parçalanmasına yönelik çalışmalarda, elma ve domates posasında kullanılmıştır. Bu ürünler bölgemizde çokça bulunmaktadır. Bunların ticari fonksiyonel

yem (besin madde miktarınca zengin, antibesinsel faktör bakımından fakir vb.) olarak kullanım olanağı araştırılması önemlidir.

3.4. Fermentasyon İşlemleri ve Deneysel Metodoloji

Soya fasülyesi ve ayçiçeği tohumu küspesi *B. Subtilis* ile arpa, buğday ve yulaf *L. salivarius* ile ve son olarak elma posası ve domates posası hem *P. chrysosporium* hem de *P. Ostreatus* mikroorganizma (mono/poli) suşları ile fermente edilmiştir. Toplamda 9 adet fermentasyon işlemi gerçekleştirilmiştir. Her bir yemden yaklaşık 3 kg gereksinim duyulduğundan, toplamda her bir yem maddesinden 15 kg satın alınmıştır. Her bir yem ile gerçekleştirilen fermentasyon süreleri Çizelge 3.2'de verilmiştir. Fermentasyon süresi boyunca 0 (kontrol), 24, 48, 72 saatlerde örnekleme yapılmıştır. Fermentasyon süresi boyunca pH, sıcaklık, çözünmüş oksijen, karbondioksit, hava girişim hızı ölçümleri devamlı bir şekilde ölçülüp otomatik olarak kaydedilmiş ve bilgisayar ortamında grafik ile istenilen an kontrol edilmiştir. Parametrelerdeki değişiklikler sürekli takip edilmiş ve sistem kendisini otomatik olarak önceden ayarlanmış optimum değerlere getirmiştir. pH düzenleyici olarak tampon çözeltileri önceden hazırlanıp sistemdeki peristaltik pompa haznelerine yerleştirilmiştir. Köpük önleyici solüsyonu da benzer şekilde hazırlandıktan sonra sisteme eklenmiştir. Oksijen tüpü ile ortamın oksijen gereksinimi ayarlanmıştır. Soğutma ve ısıtma otomatik olarak kontrol edilmiştir. Fermentasyon sonunda tüm içerik steril koşullar altında etüvde 30°C %12 nem düzeyine kadar kurutulmuştur. Kurutma işleminden sonra yemler 1-3 mm elekten geçecek şekilde öğütülmüştür. Bu örnekler daha ileride analiz edilmek üzere +2 ile +8 derecede 1 hafta süre ile muhafaza edilmiştir. Uzun dönemde yapılacak analizler için, fermente örnekler dondurarak (-100°C) kurutma cihazı ile kurutulup sonraki analizler için dondurucuda (-70°C) bekletilmiştir (Safari vd., 2012).

Liyofilize olarak satın alınan mikroorganizma suşları Çizelge 3.2'de verilen 1. besiyerlerinde kültüre alınarak aktifleştirilip, çoğaltılmıştır. Bu besi yerlerinde çoğaltılan mikroorganizmalar besi yerinden steril bir şekilde hasat edilip fizyolojik tuz ve/veya nötr buffer çözeltisinde süspansiyon haline getirilmiş ve homojenize edilmiştir. Bu süspansiyon çözeltisindeki mikroorganizma sayısı gerek neubauer lam ve gerekse de optik yoğunluk spektrofotometrik olarak 600 nm'de bulanıklık üzerinden yoğunlukları

tespit edildikten sonra yine Çizelge 3.2'de verilen dozlarda yemlere katılmak üzere 2. besi yerinde kullanılmıştır. Sisteme doğrudan mikroorganizma inoküle edildiğinden dolayı, 1. besi yerinden 2. besiyerine herhangi bir substrat etkileşimine neden olacak bir bulaşıklık da önlenmiştir. Böylece çizelge 3.2'de verilen KFF koşullarında sadece kullanılan mikroroganizmanın etkisi araştırılmıştır. Fermentasyon süresi boyunca söz konusu inkübasyon saatlerinde steril olarak alınan fermente ürünün kendisi üzerinde mikroorganizma sayımları (ekim yapılarak – cfu, neubauer lam veya optik yoğunluk spektrofotometrik olarak 600 nm'de ölçümü ile) tespit edilmiştir.

3.5. Antibesinsel ve Enzim Analizleri

Çizelge 3.3'te yürütülen bileşen analizlerinin hedef yem-mikroorganizma dağılımı verilmiştir. Bazı bileşenler kimi yemlerde çalışılmamıştır. Bunun nedeni, söz konusu bileşenin ölçülebilir düzeyde o yemlerde yeterli miktarda ya da hiç bulunmamasından kaynaklanmaktadır. Bu yemlerde yapılan ölçümün hayvan açısından biyolojik değeri yoktur.

Çizelge 3.3. Hedef yem materyallerinde yürütülen kimyasal analizler listesi

MO KOD	A		B			C V E D	
MO adı	<i>B. subtilis subsp. spizizenii</i> Nakamura et al. (ATCC® 6633™)		<i>L. salivarius subsp. salicinius</i> Rogosa et al. (ATCC® 11742™)			<i>P. chrysosporium</i> Burdsall, teleomorph (ATCC® 24725™) ve <i>P. ostreatus</i> (Jacquin : Fries) Kummer, teleomorph (ATCC® 34673™)	
YEMLER	Ayçiçeği küspesi	Soya küspesi	Arpa	Buğday	Yulaf	Elma posası	Domates posası
Besin madde	x	x	x	x	x	x	x
Antibesinsel faktörler							
fitik asit	x	x	x	x	x	Ölçüm düzeyi düşük	
Toplam fenolikler	x	x	x	x	x	x	x
Toplam flavanoidler	x	x	x	x	x	x	x
Antioksidant kapasite	x	x	x	x	x	x	x
Enzim aktivitesi							
Amilaz	x	x	x	x	x	Ölçüm düzeyi düşük	
Proteaz	x	x	Ölçüm düzeyi düşük				
Ksilanaz	Ölçüm düzeyi düşük		x	x	x	Ölçüm düzeyi düşük	
Betaglukanaz	X	Ölçüm düzeyi düşük	x	x	x	Ölçüm düzeyi düşük	
Selülaz	X	x	x	x	x	x	x
Poligalakturonaz	Ölçüm düzeyi düşük					x	x
Lakkaz	Ölçüm düzeyi düşük					x	x
Lignin peroksidaz	Ölçüm düzeyi düşük					x	x
Fitaz	x	x	x	x	x	Ölçüm düzeyi düşük	Ölçüm düzeyi düşük

3.5.1. Antibesinsel Faktör Analizleri

3.5.1.1. Toplam fenolik analizi

Singleton vd. (1965)'nin, belirttiği metoda göre yapılmıştır. Buna göre; örneklerden 1g tartılıp üzerlerine %0,1 HCl içeren %100'lük metanol eklenmiş ve bütün örnekler 1 dakika vortekslenmiştir. 15 dakika boyunca ultrasonik banyoda bekletildikten sonra 10 dakika 4000rpm'de santrifüj edilmiştir. Süpernatant kısımları alınıp, pelet kısımlarının üzerine 15ml %0,1 HCl içeren %100'lük metanol eklenip ve yukarıdaki aşamalar tekrar edilmiştir. Süpernatant kısımları alındıktan sonra tekrar pelet kısmının üzerine 15ml %0,1 HCl içeren %100'lük metanol eklenip tekrar yukarıdaki aşamalar tekrarlanmıştır. Son hacimler not alınmıştır. Biriken süpernatant kısımları tekrar maksimum rpm'de santrifüj edilip 0.45µm'lik filtrelerden geçirilmiştir. Tüplere 2,4ml saf su konulup üzerine 40µl ekstrakt ilave edilmiştir. Daha sonra 200µl folin-ciocalteu ilave edilmiştir. Bir önceki aşama ile arasında 30 saniye-7,5 dakika ara olmak koşuluyla 600µl oda sıcaklığına getirilmiş sodyum karbonat ilave edilmiştir. 760µl saf su eklenip vortekslenmiştir. 2 saat oda sıcaklığında bekletildikten sonra spektrofotometrede 765nm dalga boyunda absorbansları okunmuştur. Blank olarak ekstrakt yerine aynı miktarda %0,1 HCl içeren %100'lük metanol eklenip geri kalan kimyasallar aynı şekilde konulup blank olarak kullanılmıştır. Sonuçlar aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır.

$$x = \frac{y - 0,0312}{24,648} \quad (3.1)$$

y= Absorbans değeri

3.5.1.2. Toplam flavonoid analizi

Wu vd. (2006)'nin belirttiği metoda göre yapılmıştır. Buna göre; örneklerden 0,2g tartılıp üzerlerine 10ml %80'lik soğuk metanol eklenmiştir. Oda sıcaklığında 10 dakika karıştırıldıktan sonra 10000g'de 10 dakika santrifüj edilmiş ve sonra süpernatant kısmı alınmıştır. Daha sonrasın hacim metanol ile 25ml'ye tamamlanmıştır. 0,25ml metanol ekstraktından alınıp üzerine 1,25ml distile su, 75µl %5 sodyum nitrit eklenmiştir. 6 dakika bekletildikten sonra üzerine 0,15ml %10 alüminyum klorid eklenip 5 dakika daha bekletilmiştir. Daha sonra 0,5ml M sodyum hidroksit eklenmiş ve 510nm dalga

boyunda absorbansları okunmuştur. Sonuçlar örneklerin her bir gamında bulunan kateşinin miligramı olarak ifade edilmiştir.

3.5.1.3. Fitik asit analizi

Fitik asit analizi Bartlett (1986), tarafından belirtilen metoda göre yapılmıştır. Buna göre;

Solüsyon A: 16g Amonyum molibdat tartılıp 120ml saf su içerisinde çözündürülmüştür.

Solüsyon B: 40ml HCL ve 10ml civa 80ml A solüsyonu içerisinde 30 dakika karıştırılıp Whatman no 1 filtre kağıdı ile filtre edilmiştir.

Solüsyon C: 200ml H₂SO₄ üzerine dikkatlice kalan A solüsyonu ile süzülen B solüsyonu eklenmiştir.

Chromogenic Solüsyon: 45ml metanol, 25ml saf su ve 25ml C solüsyonu karıştırılmıştır.

Standart Fitat Solüsyonu: 0,023g Sodium fitat tartılıp 200ml saf suda çözündürülmüştür.

Her örnekten 0,5g tartılıp 125 ml'lik erlenmayerlere konmuştur. Üzerlerine 25ml %3'lük TCA eklenip 45 dakika oda sıcaklığında karıştırılmıştır. Oluşan karışımdan 8ml alınıp 1500rpm'de 15 dakika santrifüj edilmiştir. Santrifüjden sonra 5ml süpernatant kısımdan alınıp üzerine 3ml %1 FeCl_{3.6}H₂O (1N HCl içerisinde çözündürülmüş) eklenmiş ve kaynayan suda 45 dakika bekletilmiştir. Daha sonra soğutulup 15000rpm'de 15 dakika santrifüj edilmiştir. Santrifüjün ardından süpernatant kısım atılıp pelet kısmının üzerine 4 ml 0,5 N HCl eklenip oda sıcaklığında 2 saat bekletilmiştir. Daha sonra 4ml 0,5N HCl eklenip 10 dakika arayla iki defa yıkanmıştır. Yıkandıktan sonra 3ml 1,5N NaOH ve 7ml saf su eklenip 15 dakika kaynayan suda bekletilmiştir. Daha sonra soğutulup 10 dakika santrifüj edildikten sonra süpernatant kısımları fitik asit analizi için kullanılmıştır. Süpernatant kısımlardan 0,2ml alınıp üzerine 4,6ml saf su ve 0,2ml Chromogenic solüsyonu eklenip 95°C'de 30 dakika bekletilmiş ve soğutulduktan sonra 830 nm dalga boyunda örneklerin absorbansları okutulmuştur.

3.5.2. Enzim Analizleri

3.5.2.1. Amilaz analizi

Kumar ve Duhan (2011)'nin belirttiği metoda göre yapılmıştır. Buna göre; örneklerden 0,5g tartılmış ve üzerine 5ml 0,05M fosfat buffer (pH 6.5) eklenmiştir. Oda sıcaklığında 60 dakika çalkalayıcıda bekletildikten sonra üzerlerine 0,125µl %20'lik $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ eklenmiş ve 15 dakika daha çalkalanmıştır. Elde edilen ekstrakt ince bir tülbentle süzölmüş ve süzöntü 20 dakika 3000g'de santrifüj edilmiştir. 0,5ml ekstraktan alınıp tüplere konulmuştur. Üzerlerine 1ml %1'lik nişasta eklenmiştir. Vortekslenip 37°C'de 30 dakika inkübe edilmiştir. 3ml DNS reagent eklenmiş ve 5 dakika kaynayan suda bekletilmiştir. 1ml Rochelle tuz çözeltisi (soğuk) ilave edilmiş ve renk yoğunluğu 510 nm dalga boyunda okutulmuştur. Amilaz aktivitesinin bir ünitesi deney koşulları altındaki 1µl reaksiyon karışımındaki nişastadan açığa çıkan 1µmol D-glukozun enzim miktarı olarak tanımlanmıştır.

3.5.2.2. Fitaz analizi

Fitaz enzim aktivitesi TS EN 30024:2009'a göre tespit edilmiştir. Buna göre; örneklerden 4,5g tartılıp 5200g'de 15 dakika santrifüj edilmiştir. Santrifüjden sonra oluşan süpernatant kısımdan 0,125ml alınıp üzerine 0,1M sodyum asetat içerisinde çözdürölmüş 1,5mM'lık sodyum fitattan 0,125ml eklenmiş son hacim pH'sı 5,5'e ayarlanmıştır. Daha sonra reaksiyon karışımı 55°C'de 30 dakika inkübasyona tabi tutulmuştur. İnkübasyonun ardından reaksiyonu durdurmak için 0,25ml %15'lik trikloroasetik asit solüsyonu ve 2ml renk solüsyonu eklenmiştir (2:1:1:1 oranında su, %2,5 amonyum molibdat, 6N H_2SO_4 , %10'luk askorbik asit). 55°C'de 30 dakika inkübasyona tabi tutulmuştur. Daha sonra oda sıcaklığında soğutulup, 700 nm dalga boyunda örneklerin absorbansları okutulmuştur. 1 unite fitaz aktivitesi söz konusu koşullarda ortaya çıkan 1 mikromol inorganik fosfata eşittir varsayımı ile ifade edilmiştir.

3.5.2.3. Ksilanaz analizi

Ksilanaz analizi König vd. (2002) tarafından belirtilen metoda göre yapılmıştır. Buna göre, örneklerden 0.2 g tartılıp 100ml asetat solüsyonu içerisine konulup 10 dakika oda sıcaklığında karıştırılmıştır. 30µl reaksiyon karışımından alınıp ependorf tüplere konulmuştur. 5 dakika 40°C'de ön inkübasyona tabi tutulmuştur. 300µl xylan substratı eklenmiştir. 20 dakika 40°C'de inkübasyona tabi tutulmuştur. Daha sonra 150µl DNS reagent eklenmiş ve karıştırılmıştır. Daha sonra karışım 14000 rpm'de birkaç dakika santrifüj edilmiştir. 10 dakika kaynayan suda bekletilip ardından 5 dakika soğuk su banyosuna alınmıştır. Bütün tüplere 1,5ml saf su eklenip karıştırılmıştır. Daha sonra örnekler 530 nm dalga boyunda okutulmuştur. Sonuçlar aşağıda verilen formüle göre hesaplanmıştır;

$$\text{IUg}^{-1}\text{'daki Spesifik aktivite} = \frac{\Delta\text{OD}_{530} \cdot D \cdot V}{m \cdot W \cdot t} \quad (3.2)$$

ΔOD_{530} = Absorbans değeri

D= Seyreltme katsayısı

V= 100ml

m= Standart eğri

W= Örnek ağırlığı

t= Inkübasyon süresi

3.5.2.4. Lakkaz analizi

Lakkaz analizi Gassara vd. (2010) tarafından belirtilen metoda göre yapılmıştır. Buna göre; 1g örnek tartılıp üzerine 50 mM Sodyum fosfat (10/1, v/w, pH 6,5) eklenmiştir. 1 saat boyunca 150rpm'de çalkalanmıştır. 20 dakika 7000g'de santrifüj edilmiştir. Santrifüjün ardından üst kısımda kalan süpernatant kısmından 0,5ml alınıp, üzerine 0,5ml 0,1M fosfat-sitrat tamponu(içerisinde 2,2-azinobis 3-ethylbenzylthiazoline-6 sulfonic acid) (ABTS)çözdürülmüştür) eklenmiş ve son olarak 0,5ml 1mM sodyum asetat bufferi eklenip karıştırılmıştır. Örnekler 420 nm dalga boyunda okutulmuştur. 1 birim

lakkaz aktivitesi reaksiyon koşullarında dakikada okside olan mikromol substrat miktarına eşittir varsayımı kullanılmıştır.

3.5.2.5. Lignin peroksidaz analizi

Lignin peroksidaz analizi Gassara vd. (2010), tarafından belirtilen metoda göre yapılmıştır. Buna göre; 1g örnek tartılıp üzerine 50 mM sodyum fosfat (10/1, v/w, pH 6,5) eklenmiştir. 1 saat 150rpm'de çalkalanmıştır. 20 dakika 7000g'de santrifüj edilmiştir. Süpernatant kısmından 0,4ml alınıp üzerine 1,5ml 0,1M fosfat-sitrat bufferi (pH 3.0), 1ml 10mM veratril alkol eklenmiş ve karıştırılmıştır. Reaksiyon 0,1ml 10mM H₂O₂ tarafından 25°C'de başlatılmıştır. Lignin peroksidaz aktivitesi 310 nm dalga boyunda hidrojen peroksit tarafından 25°C'de veratril aldehitin veratril alkola dönüşümünün gözlenmesi suretiyle tespit edilmiştir. Enzim aktivitesi optik yoğunluğu ölçülen kuru örneklerin her gamındaki aktivite olarak ifade edilmiştir.

3.5.2.6. Poligalakturonaz analizi

Poligalakturonaz analizi Milner & Avigad (1967), tarafından belirtilen yöntemle yapılmıştır. Buna göre, örneklerden 0,3g tartılmıştır. 5ml %80'lik etanol ile havan ve tokmak yardımıyla iyice ezilmiştir. 4°C'de 15.000 rpm'de 20 dakika santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonrası pelet kısmına dikkat edilerek süpernatant kısmı atılmıştır. Tekrar 5ml soğuk etanol eklenip aynı şartlarda santrifüj edilmiştir. Tekrar süpernatant kısmı atılıp pelet üzerine 1,5ml 50mM Tris+1,2M NaCl (pH 7.0) eklenip 30 dakika buz banyosunda bekletilmiştir. Tekrar aynı şartlarda santrifüj edilip Miracloth bezi ile süzölmüştür. Poligalakturonaz enzim aktivitesinin belirlenmesi için, 0,1ml enzim alınarak 2 mg/ml poligalakturonik asit içeren 0,5ml substrat solüsyonuna (50 mM Tris, 1.2 M NaCl, pH 5.5) ilave edilmiş ve 34°C'de 2 saat bekletilmiştir. Reaksiyon ortamından 0.5ml alınarak Milner Avigad metoduyla üronik asit miktarı belirlenmiştir. Bu amaçla 0,5ml reaksiyon karışımı cam tüplerin içine konulmuştur. İnaktif hale getirilmiş enzimlerden 0,1ml cam tüplerin içine konulmuş ve üzerine 0,4ml tris tampon çözeltisi ilave edilmiştir. Tüpün içerisine 1,5ml daha önceden hazırlanmış olan bakır solüsyonundan ilave edilmiş ve manyetik karıştırıcıda karıştırılmıştır. Karıştırılan tüpler 10 dakika sıcak suda kaynatıldıktan sonra hemen soğuk su banyosuna alınarak soğutulmuştur. Soğutulmuş örneklerin üzerine 1ml arsenik çözeltisinden ilave edilerek karıştırılmıştır. Daha sonra

üzerlerine 2ml saf su ilave edilerek tekrar karıştırılmıştır. Elde edilen örnekler 600 nm dalga boyunda okutulmuştur. Aktivite mol galakturonik asit eşdeğeri/ kg protein/saat olarak ifade edilmiştir.

3.5.2.7. Proteaz analizi

Proteaz analizi Yasuda vd. (1984) tarafından belirtilen metoda göre yapılmıştır. Buna göre; 1g örnek tartılıp üzerine 3ml 10mM sodyum sitrat-20mM sodyum fosfat bufferi (pH 6.0) eklenip ve 1 saat oda sıcaklığında inkübasyona bırakılmıştır. Daha sonra elde edilen ekstrakt ince bir tülbent yardımıyla süzölmüş ve süzöntü 20 dakika 3000g'de santrifüj edilmiştir. %0,8'lik azocasein 100mM potasyum fosfat buffer (pH 7.0) içerisinde çözödürölmüştür. 0,5ml azocasein ve 0,5ml enzim ekstraktından alınıp karıştırılmıştır. Reaksiyon karışımı 1,8ml'lik mikrosantrifüj tüplerine konulup 3 saat 25°C'de inkübe edilmiştir. Her tüpe 0,5ml 1,5M HClO₄ (soğuk) eklenip ve 30 dakika buzda bekletilmiştir. Daha sonra 13000g'de 5 dakika santrifüj edilmiştir. Süpernatant alınıp aynı miktarda 1N NaOH eklenip ve 440 nm dalga boyunda okutulmuştur. Sonuçlar her saatte çözöünen azocaseinin mikrogamı, proteaz aktivitesini temsil etmektedir.

3.5.2.8. Selölaz analizi

Selölaz analizi König vd. (2002) tarafından belirtilen metoda göre yapılmıştır. Buna göre; örneklerden 0.2g tartılıp 100ml asetat buffer içerisine konulup 10 dakika oda sıcaklığında karıştırılmıştır. 30µl örneklerden alınıp ependorf tüplere konulmuştur. 5 dakika 40°C'de ön inkübasyona tabi tutulmuştur. 300 µl karboksimetil selölaz (CMC) substratı eklenmiştir. 20 dakika 40°C'de inkübasyona tabi tutulmuştur. Daha sonra 150µl DNS reagent eklenip ve karıştırılmıştır. Daha sonra karışım 14000 rpm'de birkaç dakika santrifüj edilmiştir. 10 dakika kaynayan suda bekletilip ardından 5 dakika soğuk su banyosuna alınmıştır. Bütün tüplere 1,5ml saf su eklenip karıştırılmış ve 530 nm dalga boyunda absorbans değeri ölçölmüştür. Sonuçlar 3.2'de verilen formöle göre hesaplanmıştır.

3.5.2.9. β -Glukanaz analizi

β -Glukanaz analizi König vd. (2002) tarafından belirtilen metoda göre yapılmıştır. Buna göre; örneklerden 0.2g tartılıp 100ml asetat buffer içerisine konulup 10 dakika oda sıcaklığında karıştırılmıştır. 30 μ l örneklerden alınıp ependorf tüplere konulmuştur. 5 dakika 40°C'de ön inkübasyona tabi tutulmuştur. Üzerlerine 300 μ l β -Glukan substratı eklenmiş ve 20 dakika 40°C'de inkübasyona tabi tutulmuştur. Daha sonra 150 μ l DNS reagent eklenmiş ve karıştırılmıştır. Daha sonra karışım 14000 rpm'de birkaç dakika santrifüj edilmiştir. 10 dk kaynayan suda bekletilip ardından 5 dakika soğuk su banyosuna alınmıştır. Bütün tüplere 1,5ml saf su eklenip karıştırılmıştır. Daha sonra 530 nm dalga boyunda absorbans değerleri ölçülmüştür. Sonuçlar 3.2'de verilen formüle göre hesaplanmıştır.

3.5.3. Antioksidant aktivite analizi

Antioksidant aktivitesi için örneklerde metanol ekstraktlar oluşturulmuştur (Rashad vd., 2011). Kurutulmuş örnekler öğütüldükten sonra 55°C 100rpm'de 2 saat boyunca 1:5 w/v metanol ile ekstrakte edilmiştir. Whatman 1 numaralı kağıttan filtre edildikten sonra saklanmıştır. DPPH bağlama, demir ile şelat oluşturma ve serbest radikal indirgeme testleri Shimada vd. (1992) ve Mensor vd. (2001) tarafından bildirilen metoda göre tespit edilmiştir. Sonuçlar;

Antiradikal aktivite(%)= $\frac{(\text{Kontrolün absorbans değeri}-\text{örneğin absorbans değeri})}{\text{kontrolün absorbans değeri}} \times 100$ şeklinde hesaplanıp % olarak ifade edilmiştir.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1. Ayçiçeğinde Fermentasyon Sonrası Elde Edilen Veriler

Ayçiçeğinde yapılan fermentasyon sonucunda toplam fenolik bileşikler içeriğinde fermentasyon süresi boyunca önemli artışlar görülmüştür. Diğer taraftan toplam flavanoid seviyesi fermentasyon süresince ilk 24 saat içerisinde önemli azalma göstermiş, fakat fermentasyonun geri kalan süresi boyunca da artış göstermiştir. Fitik asit miktarı ise fermentasyon süresince önemli derecede azalma göstermiştir. Fermentasyon süresi sonunda fitik asit miktarı yaklaşık %80 civarında azalmıştır (Çizelge 4.1).

Çizelge 4.1. Farklı fermentasyon zamanlarında ayçiçeği küspesinin BS katı faz fermentasyonunda antibesinsel faktörlerinin değişimi

Antibesinsel faktörler	0. saat ¹	24. saat	48. saat	72. saat
Toplam fenolik bileşikler	3,12±0,09 ^a	4,34±0,14 ^b	5,32±0,14 ^c	6,90±0,12 ^d
Toplam flavonoidler	29,1±2,3 ^a	16,5±1,5 ^b	17,4±1,2 ^c	19,6±1,6 ^d
Fitik asit	0,54±0,02 ^a	0,26±0,01 ^b	0,19±0,02 ^c	0,11±0,01 ^d

¹ BS inokulantı olan "0" saat fermentasyon örneğindeki analizler ile BS inokulantı konulmadan ayçiçeği küspesinin KFF'nun 0. saati ile 24., 48. ve 72. saatleri arasında Çizelge 4.2 'de verilen analiz değerleri bakımından hiç bir fark saptanmamıştır.

^{a,b,c} Aynı satır üzerinde farklı harfler ile gösterilen ortalama değerler arasındaki fark önemlidir (P<0.05).

Çizelge 4.2.'de BS inokulantı kullanmadan kontrol örneklerde antibesinsel faktör miktarlarının farklı fermentasyon süreleri boyunca değişmediği görülmektedir.

Çizelge 4.2. Farklı fermentasyon zamanlarında ayçiçeği küspesinin kontrol örneklerinin katı faz fermentasyonunda antibesinsel faktörlerinin değişimi

Antibesinsel faktörler	0. saat ¹	24. saat	48. saat	72. saat
Toplam fenolik bileşikler	3,11±0,01	3,10±0,01	3,09±0,02	3,10±0,02
Toplam flavonoidler	29,0±0,25	29,2±0,3	29,1±0,01	29,0±0,01
Fitik asit	0,55±0,03	0,55±0,01	0,53±0,02	0,52±0,03

¹ BS inokulantı olan "0" saat fermentasyon örneğindeki analizler ile BS inokulantı konulmadan ayçiçeği küspesinin KFF'nun 0. saati ile 24., 48. ve 72. saatleri arasında Çizelge 4.2 'de verilen analiz değerleri bakımından hiç bir fark saptanmamıştır.

BS fermentasyonunda önemli etkiyi proteaz enzim aktivitesi üzerinde göstermiştir. Fermentasyon süresi boyunca proteaz aktivitesi yaklaşık 4 katlık bir artış göstermiştir.

Fitaz aktivitesi de 48. saate kadar 3 kat artış göstermiş ve daha sonra azalmaya başlamıştır. Hücre duvarını parçalayıcı enzimlerden selüloz ve β -glukanaz aktivitelerinde fermentasyon süresi boyunca benzer oranlarda artışlar kaydedilmiştir. Bu durum BS fermentasyonuna cevaben lignin, selüloz ve hemiselüloz miktarlarındaki azalmaların sebebi olabileceklerini göstermektedir. Diğer taraftan BS fermentasyonu amilaz enzim aktivitesinde önemli değişikliklere sebep olmamıştır. Antioksidant kapasitesi metodun ölçüm sınırı altındadır (Çizelge 4.3).

Çizelge 4.3. Farklı fermentasyon zamanlarında ayçiçeği küspesinin BS katı faz fermentasyonunda çeşitli enzimlerin aktivite değişimi

Enzim Aktivitesi	0. saat ¹	24. saat	48. saat	72. saat
Proteaz, IU/g	2,5±0,4 ^a	7,01±0,3 ^b	7,3±0,5 ^c	9,9±0,7 ^d
Amilaz, IU/g	5,19±0,82 ^a	5,80±0,69 ^b	5,64±0,54 ^c	5,66±0,82 ^d
Selüloz, IU/g	43,1±2,2 ^a	42,8±2,5 ^a	46,5±2,1 ^a	46,5±1,8 ^a
Fitaz, IU/g	0,9±0,03 ^a	1,4±0,07 ^b	2,8±0,11 ^c	1,6±0,08 ^b
β -glukanaz, IU/g	40,3±2,1	42,4±1,9	44,1±2,2	44,3±1,8
Antioksidant kapasite	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
¹ BS inokulanı olan "0" saat fermentasyon örneğindeki analizleri ile BS inokulanı konulmadan ayçiçeği küspesinin KFF'nun 0. saati ile 24, 48 ve 72 saatleri arasında çizelge 4.4 'de verilen analiz değerleri bakımından hiç bir fark saptanmamıştır. LOD (ölçüm sınırı altında)				

^{a,b,c} Aynı satır üzerinde farklı harfler ile gösterilen ortalama değerler arasındaki fark önemlidir (P<0.05).

Çizelge 4.4'de BS inokulanı içermeyen kontrol örneklerde farklı fermentasyon sürelerinde ayçiçeği küspesinin enzim aktivitelerinde önemli bir değişim olmadığı saptanmıştır.

Çizelge 4.4. Farklı fermentasyon zamanlarında ayçiçeği küspesinin kontrol örneklerinde katı faz fermentasyonunda çeşitli enzimlerin aktivite değişimi

Enzim Aktivitesi	0. saat ¹	24. saat	48. saat	72. saat
Proteaz, IU/g	2,3±0,01	2,24±0,03	2,3±0,05	2,4±0,1
Amilaz, IU/g	5,0±0,20	5,10±0,10	4,88±0,30	5,06±0,15
Selülaz, IU/g	43,0±0,05	42,9±0,05	43,1±0,01	43,5±0,5
Fitaz, IU/g	1,0±0,02	1,1±0,05	1,13±0,01	1,10±0,04
β-glukanaz, IU/g	39,95±0,1	40,11±0,9	40,1±0,2	40,2±0,5
Antioksidant kapasite	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
¹ BS inokulantı olan "0" saat fermentasyon örneğindeki analizler ile BS inokulantı konulmadan soya küspesinin KFF'nun 0. saati ile 24., 48.ve 72. saatleri arasında çizelge 4.8 'de verilen analiz değerleri bakımından hiç bir fark saptanmamıştır.				

4.2. Soya Küspesinde Fermentasyon Sonrası Elde Edilen Veriler

Çalışmada kullanılan soya küspesi, son yıllarda ülkemizde yaygın olarak kullanılan yağı fazla ekstrakte edilmemiş, protein oranı yüksek ve ısıl işleme fazla maruz kalmamış soya küspesidir. Fermente olmayan kontrol ve kontrol soya örneklerinde fitik asit fermente olan küspelere nazaran oldukça yüksektir. Fermentasyon işlemi ile antibesinsel faktör miktarı azaltılmıştır. Fitik asitiçeriği düzeyi %79 oranında azaltılmıştır. Fermentasyon işlemi toplam fenolik bileşik içeriğinde önemli artışlara neden olmuştur. Toplam flavonoid içeriğinde artış gözlenirse de çok fazla bir artış söz konusu değildir. Toplam fenolik içeriği 72 saatlik fermentasyon süresi boyunca yaklaşık 5 katlık bir artış göstermiştir (Çizelge 4.5).

Çizelge 4.5. Farklı fermentasyon zamanlarında soya küspesinin BS katı faz fermentasyonunda antibesinsel faktörlerinin değişimi

Antibesinsel faktörler	0. saat ¹	24. saat	48. saat	72. saat
Toplam fenolik bileşikler	0,75±0,01 ^a	1,29±0,01 ^b	2,31±0,03 ^c	3,67±0,08 ^d
Toplam flavonoidler	3,0±0,2	3,1±0,1	3,3±0,2	3,3±0,3
Fitik asit	1,22±0,05 ^a	1,09±0,05 ^b	0,69±0,01 ^c	0,26±0,01 ^d
¹ BS inokulantı olan "0" saat fermentasyon örneğindeki analizler ile BS inokulantı konulmadan soya küspesinin KFF'nun 0. saati ile 24, 48 ve 72 saatleri arasında Çizelge 4.6 'de verilen analiz değerleri bakımından hiç bir fark saptanmamıştır.				

^{a,b,c} Aynı satır üzerinde farklı harfler ile gösterilen ortalama değerler arasındaki fark önemlidir (P<0.05).

Çizelge 4.6'de kontrol soya örnekleri farklı fermentasyon süreleri boyunca antibesinsel faktör içerikleri bakımından farklılıklar göstermemektedir.

Çizelge 4.6. Farklı fermentasyon zamanlarında soya küspesinin kontrol örneklerinin katı faz fermentasyonunda antibesinsel faktörlerinin değişimi

Antibesinsel faktörler	0. saat	24. saat	48. saat	72. saat
Toplam fenolik bileşikler	0,80±0,01	0,74±0,05	0,78±0,07	0,75±0,02
Toplam flavonoidler	2,9±0,3	3,1±0,1	3,0±0,2	3,2±0,5
Fitik asit	1,21±0,05	1,19±0,01	1,22±0,05	1,20±0,08

Soya küspesinde BS fermentasyonu proteaz, amilaz, selülaz ve fitaz enzim aktiviteleri üzerinde de önemli etkiye sahip olmuştur (Çizelge 4.7). Proteaz aktivitesi fermentasyon süresi sonunda fermente olmayan ürüne göre yaklaşık 5 katlık bir artış göstermiştir. Benzer şekilde, fitaz aktivitesinde de fermentasyonun 48. saatinde kontrole göre yaklaşık 3 katlık bir artış gerçekleşmiştir. Amilaz ve selülaz enzim aktivitelerinde de kontrole göre sırasıyla %42 ve %11'lik bir artış gözlenmiştir. Antioksidant kapasitede ise kontrole göre %22'lik bir artış sözkonusudur(Çizelge 4.7).

Çizelge 4.7. Farklı fermentasyon zamanlarında soya küspesinin BS katı faz fermentasyonunda çeşitli enzimlerin aktivite değişimi

Enzim Aktivitesi	0. saat ¹	24. saat	48. saat	72. saat
Proteaz, IU/g	0,9±0,02 ^a	3,5±0,3 ^b	3,6±0,3 ^b	4,9±0,2 ^c
Amilaz, IU/g	5,21±0,52 ^a	5,35±0,38 ^a	6,20±0,32 ^b	7,38±0,41 ^b
Selülaz, IU/g	45,3±1,9 ^a	45,3±1,7 ^a	46,4±2,1 ^{ab}	50,4±2,3 ^b
Fitaz, IU/g	1,3±0,11 ^a	2,4±0,12 ^b	3,6±0,15 ^c	2,1±0,09 ^b
Antioksidant kapasite	45,87±0,2 ^a	46,73±0,15 ^a	56,82±0,2 ^b	56±0,11 ^b
¹ BS inokulanlı olan "0" saat fermentasyon örneğindeki analizler ile BS inokulanlı konulmadan soya küspesinin KFF'nun 0. saati ile 24., 48.ve 72. saatleri arasında çizelge 4.8 'de verilen analiz değerleri bakımından hiç bir fark saptanmamıştır.				

^{a,b,c} Aynı satır üzerinde farklı harfler ile gösterilen ortalama değerler arasındaki fark önemlidir (P<0.05).

Çizelge4.8'de BS ile kontrol soya küspesi örneklerinde yürütülen farklı fermentasyon süreleri boyunca enzim aktiviteleri ve antioksidant kapasitede farklılıklar gözlenmemiştir.

Çizelge 4.8. Farklı fermentasyon zamanlarında soya küspesinin kontrol örneklerinde katı faz fermentasyonunda çeşitli enzimlerin aktivite değişimi

Enzim Aktivitesi	0. saat	24. saat	48. saat	72. saat
Proteaz, IU/g	0,85±0,5	0,90±0,01	0,93±0,03	0,91±0,01
Amilaz, IU/g	5,3±0,02	5,1±0,3	5,11±0,4	5,19±0,01
Selüloz, IU/g	44,8±0,75	45,2±0,5	45,0±0,01	45,6±0,45
Fitaz, IU/g	1,28±0,01	1,31±0,02	1,30±0,01	1,27±0,01
Antioksidant kapasite, %	46,00±0,5	45,50±0,4	45,00±0,3	46,2±0,7

4.3. Buğday Fermantasyonu Sonrası Elde Edilen Veriler

LBS ile buğday fermantasyonunda toplam fenolik bileşikler içeriğinde fermentasyon süresince kontrole göre 4 kattan daha fazla bir artış gerçekleşmiştir. Fakat toplam flavonoid miktarında fermentasyonun ilk 24 saatinde önemli bir azalma gerçekleşmiş ve 48. saat sonunda toplam flavonoid miktarı kontrol ile aynı seviyeye ulaşmıştır. Diğer yandan fitik asit miktarında kontrole göre önemli bir düşüş gerçekleşmiştir. Fitik asit seviyesi 48 saatlik fermentasyondan sonra yaklaşık %67 oranında azalmıştır (Çizelge 4.9).

Çizelge 4.9. Farklı fermentasyon zamanlarında buğdayınLBS katı faz fermentasyonunda antibesinsel faktörlerinin değişimi

Antibesinsel faktörler	0. saat ¹	24. saat	48. saat
Toplam fenolik bileşikler	0,44±0,01 ^a	0,91±0,02 ^b	1,86±0,01 ^c
Toplam flavonoidler	2,8±0,2 ^a	2,4±0,1 ^b	2,9±0,3 ^a
Fitik asit	1,88±0,08 ^a	1,06±0,06 ^b	0,62±0,02 ^c
¹ LBS inokulanlı olan "0" saat fermentasyon örneğindeki analizler ile LBS inokulanlı konulmadan buğdayın KFF'nun 0. saati ile 24. ve 48. saatleri arasında çizelge 4.10 'de verilen analiz değerleri bakımından hiç bir fark saptanmamıştır.			

^{a,b,c} Aynı satır üzerinde farklı harfler ile gösterilen ortalama değerler arasındaki fark önemlidir (P<0.05).

Çizelge 4.9'da LBS inokulanlı kullanmadan kontrol buğday örneklerinin farklı fermentasyon süreleri boyunca analiz değerleri arasında farklılık saptanmamıştır.

Çizelge 4.10. Farklı fermentasyon zamanlarında buğdayın kontrol örneklerinin katı faz fermentasyonunda antibesinsel faktörlerinin değişimi

Antibesinsel faktörler	0. saat	24. saat	48. saat
Toplam fenolik bileşikler	0,45±0,01	0,44±0,01	0,43±0,01
Toplam flavonoidler	2,7±0,1	2,8±0,2	2,9±0,1
Fitik asit	1,90±0,1	1,88±0,05	1,87±0,08

Buğdayda LBS katı faz fermentasyonu amilaz, selülaz, ksilanaz, β -glukanaz ve fitaz enzim aktiviteleri üzerinde de önemli etkilere sahip olmuştur. Hücre duvarını parçalayıcı enzimlerinden selülaz, ksilanaz ve β -glukanaz aktivitelerinde 48 saatlik fermentasyon süresince kontrole göre sırasıyla %63, %23 ve %15 oranında bir artış gözlenmiştir. Nişasta parçalayıcı enzim olan amilaz enzim aktivitesi ise fermentasyon süresince %31 oranında azalmıştır. Fermentasyonla en çok artış gösteren enzim fitaz olmuştur. Söz konusu enzimin aktivitesi 48 saatlik fermentasyon süresince yaklaşık 3 katlık bir artış göstermiştir. Antioksidant kapasitede ise kontrole göre yaklaşık olarak %138'lik bir artış söz konusudur (Çizelge 4.11).

Çizelge 4.11. Farklı fermentasyon zamanlarında buğdayın LBS katı faz fermentasyonunda çeşitli enzimlerin aktivite değişimi

Enzim Aktivitesi	0. saat	24. saat	48. saat
Amilaz, IU/g	9,54±0,74 ^a	11,05±1,1 ^{ab}	12,53±0,9 ^b
Selülaz, IU/g	16,5±1,1 ^a	16,8±1,1 ^a	26,9±1,4 ^b
Ksilanaz, IU/g	33,1±1,3 ^a	37,2±1,1 ^b	40,9±1,5 ^b
β -glukanaz, IU/g	36,5±1,5 ^a	42,3±2,1 ^b	42±1,4 ^b
Fitaz, IU/g	0,6±0,02 ^a	0,9±0,07 ^b	1,7±0,11 ^c
Antioksidant kapasite, %	35,62±0,7 ^a	78,64±0,5 ^b	84,75±0,8 ^c
¹ LBS inokulantı olan "0" saat fermentasyon örneğindeki analizler ile LBS inokulantı konulmadan buğdayın KFF'nun 0. saati ile 24 ve 48 saatleri arasında çizelge 4.12'de verilen analiz değerleri bakımından hiç bir fark saptanmamıştır.			

^{a,b,c} Aynı satır üzerinde farklı harfler ile gösterilen ortalama değerler arasındaki fark önemlidir (P<0.05).

Çizelge 4.12'de LBS inokulantı kullanılmadan kontrol buğday örneklerinin farklı fermentasyon sürelerinde analiz değerleri arasında farklılık bulunmamıştır.

Çizelge 4.12. Farklı fermentasyon zamanlarında buğdayın kontrol örneklerinin katı faz fermentasyonunda çeşitli enzimlerin aktivite değişimi

Enzim Aktivitesi	0. saat	24. saat	48. saat
Amilaz, IU/g	9,75±0,50	9,35±0,30	9,60±0,40
Selüloz, IU/g	16,8±1,0	16,5±0,9	16,3±0,5
Ksilanaz, IU/g	33,3±1,1	33,1±1,2	33,2±0,4
β-glukanaz, IU/g	36,6±1,0	36,3±0,5	36,1±1,1
Fitaz, IU/g	0,6±0,01	0,6±0,01	0,6±0,01
Antioksidant kapasite, %	35,5±0,9	35,6±0,5	35,2±0,1

4.4. Arpa Fermentasyonu Sonrası Elde Edilen Veriler

LBS bakteri fermentasyonu sonucu arpada toplam flavonoid ve fitik asit içeriklerinde fermentasyon süresi boyunca kontrole göre sırasıyla % 48 ve 59 oranında azalma meydana gelmiştir. Antibesinsel faktörlerin eliminasyonunda LBS'nin etkili olduğu gözlenmiştir. Toplam fenolik bileşik içeriğinde de önemli bir artış (yaklaşık 3 kat) gerçekleşmiştir (Çizelge 4.13).

Çizelge 4.13. Farklı fermentasyon zamanlarında arpanın LBS katı faz fermentasyonunda antibesinsel faktörlerinin değişimi

Antibesinsel faktörler	0. saat ¹	24. saat	48. saat
Toplam fenolik bileşikler	0,96±0,01 ^a	1,23±0,03 ^b	2,93±0,05 ^c
Toplam flavonoidler	3,1±0,1 ^a	1,8±0,1 ^b	1,6±0,2 ^b
Fitik asit	1,96±0,08 ^a	1,13±0,04 ^b	0,81±0,02 ^c
¹ LBS inokulanı olan "0" saat fermentasyon örneğindeki analizler ile LBS inokulanı konulmadan arpanın KFF'nun 0., 24. ve 48. saatleri arasında çizelge 4.14'de verilen analiz değerleri bakımından hiç bir fark saptanmamıştır.			

^{a,b,c} Aynı satır üzerinde farklı harfler ile gösterilen ortalama değerler arasındaki fark önemlidir (P<0.05).

Çizelge 4.14'de LBS inokulanı kullanılmadan arpa kontrol örneklerinde yürütülen fermentasyonlarda analiz değerleri arasında farklılıklar tespit edilmemiştir.

Çizelge 4.14. Farklı fermentasyon zamanlarında arpanın kontrol örneklerinin katı faz fermentasyonunda antibesinsel faktörlerinin değişimi

Antibesinsel faktörler	0. saat	24. saat	48. saat
Toplam fenolik bileşikler	1,0±0,05	0,87±0,1	0,95±0,5
Toplam flavonoidler	3,2±0,1	3,2±0,1	3,2±0,1
Fitik asit	2,0 ±0,05	1,99±0,01	1,99 ±001

Arpada LBS fermentasyonu beklenildiği gibi selülag, ksilanaz, β -glukanaz ve fitaz enzim aktivitelerinde önemli değişimlere sebep olmuştur. Selülag aktivitesi fermentasyon ile birlikte artmış ve 24. saatte maksimum seviyesine ulaştıktan sonra azalmaya başlamıştır. Ksilanaz ve beta glukanaz aktiviteleri ise 48. saate kadar artış göstermişlerdir. En yüksek artış fitaz aktivitesinde görülmüştür. Fitaz aktivitesi 48 saatlik fermentasyon süresi boyunca yaklaşık 2,5 kat artış göstermiştir. Diğer taraftan amilaz aktivitesinde fermentasyon süresince önemli bir artış kaydedilmemiştir. Antioksidant kapasitede ise kontrole göre %153 oranında bir artış gözlenmiştir (Çizelge 4.15).

Çizelge 4.15. Farklı fermentasyon zamanlarında arpanın LBS katı faz fermentasyonunda çeşitli enzimlerin aktivite değişimi

Enzim Aktivitesi	0. saat ¹	24. saat	48. saat
Amilaz, IU/g	9,43±1,1	10,39±0,84	10,54±1,2
Selülag, IU/g	32,5±1,9 ^a	39,1±1,9 ^b	25,9±1,1 ^c
Ksilanaz, IU/g	32,3±1,4 ^a	37,8±1,4 ^b	43,8±1,3 ^c
β -glukanaz, IU/g	37,1±1,9 ^a	37,7±1,6 ^b	45,4±2,3 ^c
Fitaz, IU/g	0,6±0,03 ^a	0,8±0,01 ^b	1,6±0,05 ^c
Antioksidant kapasite	34,22±0,32 ^a	85,4±5,2 ^b	86,8±0,45 ^b
¹ LBS inokulantı olan "0." saat fermentasyon örneğindeki analizler ile LBS inokulantı konulmadan arpanın KFF'nun 0., 24. ve 48. saatleri arasında çizelge 4.16'da verilen analiz değerleri bakımından hiç bir fark saptanmamıştır.			

^{a,b,c} Aynı satır üzerinde farklı harfler ile gösterilen ortalama değerler arasındaki fark önemlidir (P<0.05).

Çizelge 4.16'da LBS inokulantı kullanılmadan arpanın kontrol örnekleri ile yürütülen KFF denemesinde söz konusu bileşenler bakımından farklılıklar saptanmamıştır.

Çizelge 4.16. Farklı fermentasyon zamanlarında buğdayın kontrol örneklerinin katı faz fermentasyonunda çeşitli enzimlerin aktivite değişimi

Enzim Aktivitesi	0. saat	24. saat	48. saat
Amilaz, IU/g	9,5±0,1	9,55 ±0,02	9,45±0,02
Selülag, IU/g	33,0±1,1	33,1±0,9	33,9±0,9
Ksilanaz, IU/g	32,0±0,2	32,8±0,4	32,8±0,3
β -glukanaz, IU/g	37,0±0,9	37,0±0,6	36,7±0,3
Fitaz, IU/g	0,65±0,05	0,61±0,03	0,61±0,01
Antioksidant kapasite	34,0±0,2	35,1±0,50	34,8±0,05

4.5. Yulaf Fermentasyonu Sonrası Elde Edilen Veriler

LBS bakteri fermentasyonu sonucu yulafta toplam fenolik bileşikler içeriğinde önemli artışlar görülmüştür. Fermentasyon süresi boyunca toplam fenolik bileşikler kontrole göre yaklaşık olarak 3,6 kat artış göstermiştir. Diğer taraftan gerek fitik asit gerekse de toplam flavonoidlerin seviyelerinde fermentasyon boyunca kontrole göre azalma meydana gelmiştir. En büyük azalma da fitik asit içeriğinde (%63) meydana gelmiştir (Çizelge 4.17).

Çizelge 4.17. Farklı fermentasyon zamanlarında yulafın LBS katı faz fermentasyonunda antibesinsel faktörlerinin değişimi

Antibesinsel faktörler	0. saat ¹	24. saat	48. saat
Toplam fenolik bileşikler	0,76±0,01 ^a	1,31±0,03 ^b	2,73±0,09 ^c
Toplam flavonoidler	2,9±0,4 ^a	2,3±0,2 ^b	2,5±0,5 ^b
Fitik asit	2,2±0,3 ^a	1,19±0,08 ^b	0,81±0,06 ^c
¹ LBS inokulanı olan "0." saat fermentasyon örneğindeki analizler ile LBS inokulanı konulmadan yulafın KFF'nun 0., 24. ve 48. saatleri arasında çizelge 4.18 'de verilen analiz değerleri bakımından hiç bir fark saptanmamıştır.			

^{a,b,c} Aynı satır üzerinde farklı harfler ile gösterilen ortalama değerler arasındaki fark önemlidir (P<0.05).

Çizelge 4.18'de LBS inokulanı kullanılmadan kontrol yulaf örneklerinin fermentasyonu sonucu analiz değerleri arasında farklılıklar saptanmamıştır.

Çizelge 4.18. Farklı fermentasyon zamanlarında yulafın kontrol örneklerinin katı faz fermentasyonunda antibesinsel faktörlerinin değişimi

Antibesinsel faktörler	0. saat	24. saat	48. saat
Toplam fenolik bileşikler	0,80±0,01	0,75±0,01	0,77±0,01
Toplam flavonoidler	2,88±0,01	3,0±0,02	3,01±0,01
Fitik asit	2,4±0,05	2,1±0,03	2,3±0,06

Yulafta LBS katı faz fermentasyonu amilaz, selüloz, ksilanaz, beta glukanaaz ve fitaz enzim aktivitelerinde önemli değişimlere sebep olmuştur. Amilaz aktivitesi 48 saat fermentasyon boyunca kontrole göre % 54 oranında artış göstermiştir. Hücre duvarı enzimlerinden ksilanaz ve beta glukanaaz aktiviteleri 48 saatlik fermentasyon süresince sırasıyla % 34 ve 46 oranında artmıştır. Diğer hücre duvarı enzimi olan selüloz aktiviteside fermentasyonun ilk 24 saatinde artmış ve sonrasında azalmıştır. Fakat 48

saatlik fermentasyondan sonra bile kontrole göre daha yüksek seviyelerde seyretmiştir. Fitaz aktivitesinde de yine 48 saatlik fermentasyon süresince kontrole göre yaklaşık 2 katlık bir artış gözlenmiştir. Antioksidant kapasitede ise yaklaşık olarak %115'lik bir artış söz konusu olmuştur (Çizelge 4.19).

Çizelge 4.19. Farklı fermentasyon zamanlarında yulafın LBS katı faz fermentasyonunda çeşitli enzimlerin aktivite değişimi

Enzim Aktivitesi	0. saat ¹	24. saat	48. saat
Amilaz, IU/g	5,71±0,5 ^a	6,47±0,23 ^a	8,80±0,44 ^b
Selüloz, IU/g	22,8±0,7 ^a	40,3±1,3 ^b	31,7±0,5 ^c
Ksilanaz, IU/g	30,9±1,6 ^a	35,4±1,1 ^a	41,3±1,2 ^b
β-glukanaz, IU/g	32,4±1,6 ^a	36,1±1,8 ^a	47,4±2,1 ^b
Fitaz, IU/g	0,8±0,02 ^a	1,1±0,04 ^b	1,5±0,03 ^c
Antioksidant kapasite	38,25±0,5 ^a	76,39±0,87 ^b	82,2±0,52 ^c
¹ LBS inokulanı olan "0." saat fermentasyon örneğindeki analizler ile LBS inokulanı konulmadan yulafın KFF'nun 0., 24. ve 48. saatleri arasında çizelge 4.20 'de verilen analiz değerleri bakımından hiç bir fark saptanmamıştır.			

^{a,b,c} Aynı satır üzerinde farklı harfler ile gösterilen ortalama değerler arasındaki fark önemlidir (P<0.05).

Çizelge 4.20'de LBS kullanılmadan kontrol yulaf örneklerine ait fermentasyonlarda elde edilen bileşenlerin analiz değerleri arasında farklılıklar tespit edilmemiştir.

Çizelge 4.20. Farklı fermentasyon zamanlarında yulafın kontrol örneklerinin katı faz fermentasyonunda çeşitli enzimlerin aktivite değişimi

Enzim Aktivitesi	0. saat	24. saat	48. saat
Amilaz, IU/g	5,73±0,2	5,70±0,3	5,68±0,5
Selüloz, IU/g	23,0±0,5	22,9±0,2	22,7±0,3
Ksilanaz, IU/g	31,0±0,8	30,5±0,7	30,8±0,5
β-glukanaz, IU/g	32,8±0,6	32,9±0,5	32,0±0,8
Fitaz, IU/g	0,79±0,01	0,81±0,01	0,80±0,01
Antioksidant kapasite	38,00 ±0,3	38,5±0,5	37,9 ±0,5

4.6. Elma Posasının Fermentasyonu Sonrası Elde Edilen Veriler

Elma posasının PO ile fungal fermentasyonu sonucu tüm besin madde miktarları dikkatlice incelendiği zaman, elma posasının PO ile fermente edilmesi elma posasının çok iyi bir yem kaynağı olabileceğini göstermektedir.

Elma posasının PO ile fermentasyonunda toplam fenolik bileşikler içeriğinde fermentasyonun 14. gününe kadar yaklaşık %154 oranında bir artış olurken, 21. güne doğru azalmaya başlamıştır. Fakat 21. günde bile kontrole göre daha yüksek seviyelerde kalmıştır. Toplam flavonoidlerde ise bir dalgalanma söz konusudur. 7. günde bir azalma görülürken 14. günde bir artış gözlenmiş ve 21. günde tekrar azalma meydana gelmiştir. (Çizelge 4.21).

Çizelge 4.21. Farklı fermentasyon zamanlarında elma posasının PO katı faz fermentasyonunda antibesinsel faktörlerinin değişimi

Antibesinsel faktörler	0. gün ¹	7.gün	14. gün	21.gün
Toplam fenolik bileşikler	0,82±0,01 ^a	0,92±0,01 ^b	2,08±0,08 ^c	1,02±0,02 ^d
Toplam flavonoidler	2,9±0,4 ^a	2,5±0,2 ^b	2,8±0,1 ^a	2,5±0,1 ^b
¹ PO inokulantı olan "0." gün fermentasyon örneğindeki analizler ile PO inokulantı konulmadan elma posasının KFF'nun 0., 7.,14. ve 21. günleri arasında çizelge 4.22 'de verilen analiz değerleri bakımından hiç bir fark saptanmamıştır.				

^{a,b,c} Aynı satır üzerinde farklı harfler ile gösterilen ortalama değerler arasındaki fark önemlidir (P<0.05).

Çizelge 4.22'de PO inokulantı kullanılmadan kontrol elma posası örneklerinin fermentasyonunda sözkonusu bileşenler bakımından farklılıklara rastlanılmamıştır.

Çizelge 4.22. Farklı fermentasyon zamanlarında elma posasının kontrol örneklerinin katı faz fermentasyonunda antibesinsel faktörlerinin değişimi

Antibesinsel faktörler	0. gün ¹	7.gün	14. gün	21.gün
Toplam fenolik bileşikler	0,85±0,01	0,80±0,01	0,83±0,01	0,81±0,01
Toplam flavonoidler	3,0±0,2	2,8±0,1	2,9±0,1	3,1±0,1

Elmada PO katı faz fermentasyonu poligalakturonaz, selülaz gibi hücre duvarını parçalayıcı enzimlerin aktivitesini ve de lakkaz ile lignin peroksidaz enzim aktivitelerini önemli ölçüde etkilemiştir. Poligalakturonaz aktivitesi fermentasyonla birlikte artarak

14. günde maksimum seviyeye çıkmıştır. Selülaz enzim aktiviteside fermentasyonun 7. gününde maksimum seviyeye ulaşmıştır. Diğer taraftan lakkaz enzim aktivitesinde fermentasyon boyunca dalgalanmalar gözlenmiştir. Lignin peroksidaz aktiviteside fermentasyonun 7. gününde kontrole göre yaklaşık 6 katlık bir artış göstermiştir. Fermentasyonun 7. gününden sonra bu enzimin aktivitesi azalmaya başlamıştır. Antioksidant kapasitede ise kontrole göre %30'luk bir artış söz konusudur (Çizelge 4.23).

Çizelge 4.23. Farklı fermentasyon zamanlarında elma posasının PO katı faz fermentasyonunda çeşitli enzimlerin aktivite değişimi

Enzim Aktivitesi	0. gün ¹	7.gün	14. gün	21.gün
Poligalakturonaz IU/g	18,4±1,6 ^a	23,2±1,3 ^b	32,8±1,8 ^c	26,4±1,8 ^b
Selülaz, IU/g	24,9±0,8 ^a	28,5±1,2 ^b	16,1±1,4 ^c	8,3±0,1 ^d
Lakkaz, IU/g	1,84±0,09 ^a	1,03±0,08 ^b	1,66±0,08 ^c	1,30±0,04 ^d
Lignin peroksidaz, IU/g	0,72±0,01 ^a	4,56±0,12 ^b	3,38±0,11 ^c	1,15±0,05 ^d
Antioksidant kapasite	64,78±0,36 ^a	83,6±0,54 ^b	80,0±0,26 ^c	84,5±0,11 ^b
¹ PO inokulantı olan "0" gün fermentasyon örneğindeki analizler ile PO inokulantı konulmadan elma posasının KFF'nun 0., 7., 14. ve 21. günleri arasında çizelge 4.24'de verilen analiz değerleri bakımından hiç bir fark saptanmamıştır.				

^{a,b,c} Aynı satır üzerinde farklı harfler ile gösterilen ortalama değerler arasındaki fark önemlidir (P<0.05).

Çizelge 4.24'de PO kullanılmadan elma posasının kontrol örneklerinin fermentasyon süreleri boyunca söz konusu bileşenler arasında farklılıklar saptanmamıştır.

Çizelge 4.24. Farklı fermentasyon zamanlarında elma posasının kontrol örneklerinde katı faz fermentasyonunda çeşitli enzimlerin aktivite değişimi

Enzim Aktivitesi	0. gün	7.gün	14. gün	21.gün
Poligalakturonaz IU/g	18,0±0,5	18,9±0,6	18,0±0,4	18,6±1,0
Selülaz, IU/g	25,0±0,5	24,1±0,9	24,9±0,01	25,4±0,8
Lakkaz, IU/g	1,78±0,1	1,90±0,5	1,80±0,7	1,85±0,2
Lignin peroksidaz, IU/g	0,75±0,01	0,70±0,01	0,72±0,01	0,72±0,01
Antioksidant kapasite	64,00±0,5	65,1±0,6	65,4±0,3	64,6±0,9

Elma posasının *P. chrysosporium* (PC) ile fermentasyonunda toplam fenolik bileşikler içeriğinde fermentasyonun 14. gününe kadar düzenli bir artış söz konusu olup bu noktadan sonra 14. güne göre yaklaşık %50 oranında bir azalma görülmüştür. Benzer şekilde, toplam flavonoid içeriğinde de 14. güne kadar düzenli bir artış gözlenmiş ve bu noktadan sonra bir azalma meydana gelmiştir (Çizelge 4.25).

Çizelge 4.25. Farklı fermentasyon zamanlarında elma posasının PC katı faz fermentasyonunda antibesinsel faktörlerinin değişimi

Antibesinsel faktörler	0. gün ¹	7.gün	14. gün	21.gün
Toplam fenolik bileşikler	0,82±0,01 ^a	4,16±0,13 ^b	6,3±0,13 ^c	3,57±0,09 ^e
Toplam flavonoidler	2,9±0,4	3,1±0,4	4,5±0,4	3,2±0,7
¹ PC inokulanlı olan "0." gün fermentasyon örneğindeki analizler ile PC inokulanlı konulmadan elma posasının KFF'nun 0., 7., 14. ve 21. günleri arasında çizelge 4.22 'de verilen analiz değerleri bakımından hiç bir fark saptanmamıştır.				

Elmada PC katı faz fermentasyonu enzim aktiviteleri üzerinde de önemli etkilerde bulunmuştur. Poligalakturonaz aktivitesi fermentasyonla birlikte artış göstermiş ve fermentasyonun 14. gününde maksimum seviyesine ulaşmıştır. Selülaz enzim aktivitesinde de fermentasyonun ilk 7 gününde önemli bir artış kaydedilmiş ve aktivite daha sonra azalmaya başlamıştır. Lakkaz enzim aktivitesinde de bir dalgalanma gözlenmiştir. Fermentasyonun en büyük etkisi lignin peroksidaz enzim aktivitesi üzerinde gözlenmiştir. Fermentasyonun 7. gününde lignin peroksidaz aktivitesi kontrole göre yaklaşık 18 katlık bir artış göstermiştir. Antioksidant kapasitede ise kontrole göre yaklaşık olarak %33'lük bir artış söz konusudur (Çizelge 4.26).

Çizelge 4.26. Farklı fermentasyon zamanlarında elma posasının PC katı faz fermentasyon sonrası çeşitli enzimlerin aktivite değişimi

Enzim Aktivitesi	0. gün ¹	7.gün	14. gün	21.gün
Poligalakturonaz, IU/g	18,4±1,6 ^a	19,4±1,1 ^a	28,9±1,7 ^b	23,2±2,1 ^c
Selülaz, IU/g	24,9±0,8 ^a	43,5±1,9 ^b	22,9±0,8 ^a	19,8±1,1 ^c
Lakkaz, IU/g	1,84±0,09 ^a	4,49±0,11 ^b	3,17±0,13 ^c	4,37±0,09 ^b
Lignin peroksidaz, IU/g	0,72±0,01 ^a	12,59±0,31 ^b	11,38±0,22 ^b	12,38±0,12 ^b
Antioksidant kapasite	64,78±0,25 ^a	87,04±1,3 ^b	73,54 ±2,1 ^c	86,05±1,5 ^b
¹ PC inokulanlı olan "0." gün fermentasyon örneğindeki analizler ile PC inokulanlı konulmadan elma posasının KFF'nun 0., 7., 14. ve 21. günleri arasında çizelge 4.24 'de verilen analiz değerleri bakımından hiç bir fark saptanmamıştır.				

^{a,b,c} Aynı satır üzerinde farklı harfler ile gösterilen ortalama değerler arasındaki fark önemlidir (P<0.05).

4.7. Domates Posasının Fermentasyonu Sonrası Elde Edilen Veriler

Domates posasının *P. ostreatus* (PO) ile fermentasyonunda toplam fenolik içeriğinde fermentasyon süresince önemli artışlar elde edilmiştir. Fermentasyonun 21. gününde toplam fenolik içeriği kontrole göre %124 oranında bir artış göstermiştir. Toplam flavonoid içeriğinde de fermentasyon süresince önemli bir değişim gözlenmemiştir (Çizelge 4.27).

Çizelge 4.27. Farklı fermentasyon zamanlarında domates posasının PO katı faz fermentasyonunda antibesinsel faktörlerinin değişimi

Antibesinsel faktörler	0. gün ¹	7.gün	14. gün	21.gün
Toplam fenolik bileşikler	1,53±0,06 ^a	2,27±0,09 ^b	2,81±0,1 ^c	3,42±0,11 ^d
Toplam flavonoidler	3,0±0,2	2,9±0,3	2,8±0,2	3,2±0,4
¹ PO inokulanlı olan "0." gün fermentasyon örneğindeki analizler ile PO inokulanlı konulmadan domates posasının KFF'nun 0., 7., 14. ve 21. günleri arasında çizelge 4.28 'de verilen besin madde analiz değerleri bakımından hiç bir fark saptanmamıştır.				

^{a,b,c} Aynı satır üzerinde farklı harfler ile gösterilen ortalama değerler arasındaki fark önemlidir (P<0.05).

Çizelge 4.28'de PO inokulanlı olmadan domates posasının kontrol örneklerinde yürütülen fermentasyonda söz konusu bileşenlerin analiz değerleri arasında farklılıklar saptanmamıştır.

Çizelge 4.28. Farklı fermentasyon zamanlarında domates posasının kontrol örneklerinin katı faz fermentasyonunda antibesinsel faktörlerinin değişimi

Antibesinsel faktörler	0. gün ¹	7.gün	14. gün	21.gün
Toplam fenolik bileşikler	1,50±0,2	1,55±0,05	1,52±0,1	1,49±0,1
Toplam flavonoidler	3,0±0,1	3,0±0,1	3,0±0,1	3,0±0,1

Domateste PO katı faz fermentasyonu enzim aktivitelerinde de önemli değişimlere sebep olmuştur. Poligalaturonaz enzim aktivitesi fermentasyon süresince artış göstermiş ve maksimum aktivitesine fermentasyonun 14. gününde ulaşmıştır. Selüloz, lakkaz ve lignin peroksidaz enzim aktiviteleri fermentasyon süresince önemli derecede artış göstermiş ve fermentasyonun 21. gününde maksimum seviyelerine ulaşmışlardır. Antioksidant kapasitede ise %10,2'lik bir artış söz konusudur (Çizelge 4.29).

Çizelge 4.29. Farklı fermentasyon zamanlarında domates posasının PO katı faz fermentasyonunda çeşitli enzimlerin aktivite değişimi

Enzim Aktivitesi	0. gün ¹	7.gün	14. gün	21.gün
Poligalakturonaz IU/g	23,2±1,1 ^a	25,5±1,5 ^a	36,3±1,6 ^b	25,9±1,1 ^a
Selüloz IU/g	23,7±0,8 ^a	51,2±2,1 ^b	51,7±2,2 ^b	54,2±2,1 ^b
Lakkaz IU/g	1,70±0,03 ^a	3,81±0,14 ^b	8,79±0,11 ^c	10,94±0,17 ^d
Lignin peroxidaz IU/g	5,13±0,08 ^a	6,67±0,09 ^b	11,70±0,15 ^c	14,77±0,18 ^d
Antioksidant kapasite	77,12±0,1 ^a	86,98±0,36 ^b	83,73±0,88 ^c	85,02±1,2 ^{bc}

¹ PO inokulantı olan "0" gün fermentasyon örneğindeki analizler ile PO inokulantı konulmadan domates posasının KFF'nun 0, 7, 14 ve 21 günleri arasında çizelge 4.30 'da verilen besin madde analiz değerleri bakımından hiç bir fark saptanmamıştır.

^{a,b,c} Aynı satır üzerinde farklı harfler ile gösterilen ortalama değerler arasındaki fark önemlidir (P<0.05).

Çizelge 4.30. PO inokulantı olmadan kontrol domates posası örnekleri ile yürütülen fermentasyonda analiz değerleri arasında büyük farklılıklar tespit edilmemiştir.

Çizelge 4.30. Farklı fermentasyon zamanlarında domates posasının kontrol örneklerinin katı faz fermentasyonunda çeşitli enzimlerin aktivite değişimi

Enzim Aktivitesi	0. gün	7.gün	14. gün	21.gün
Poligalakturonaz IU/g	23,0±0,1	23,5±0,1	22,9±0,8	23,0±1,0
Selüloz IU/g	24±0,05	23,8±0,02	23,5±0,01	23,7±0,01
Lakkaz IU/g	1,67±0,3	1,75±0,1	1,72±0,7	1,71±0,01
Lignin peroxidaz IU/g	5,2±0,04	5,0±0,3	5,5±0,1	4,83±0,9
Antioksidant kapasite	77,0±0,3	77,2±0,0,1	76,9±0,6	77,3±0,5

Domates posasının *P. chrysosporium* (PC) ile fermentasyonu sonucu toplam fenolik bileşikler ve toplam flavonoidler içeriklerinde değişimler meydana gelmiştir. Buna göre, PC domates posasındaki toplam fenolik bileşikler içeriğinde fermentasyon süresi sonunda kontrole göre yaklaşık 6 katlık bir artış gözlenmiştir. Toplam flavonoid içeriğinde fermentasyon süresince dalgalanmalar görülmüş, fakat önemli bir değişim gözlenmemiştir (Çizelge 4.31).

Çizelge 4.31. Farklı fermentasyon zamanlarında domates posasının PC katı faz fermentasyonunda antibesinsel faktörlerinin değişimi

Antibesinsel faktörler	0. gün ¹	7.gün	14. gün	21.gün
Toplam fenolik bileşikler	1,53±0,06 ^a	5,7±0,14 ^b	8,65±0,16 ^c	9,77±0,15 ^c
Toplam flavonoidler	3,0±0,2	3,0±0,1	2,8±0,4	2,9±0,3
¹ PC inokulantı olan "0." gün fermentasyon örneğindeki analizler ile PC inokulantı konulmadan domates posasının KFF'nun 0., 7.,14. ve 21. günleri arasında çizelge 4.28.'de verilen besin madde analiz değerleri bakımından hiç bir fark saptanmamıştır.				

^{a,b,c} Aynı satır üzerinde farklı harfler ile gösterilen ortalama değerler arasındaki fark önemlidir (P<0.05).

Domateste PC katı faz fermentasyonu poligalakturonaz, selülaz, lakkaz ve lignin peroksidaz enzim aktivitelerinde de önemli değişimlere sebep olmuştur (Çizelge 4.32). Poligalakturonaz aktivitesi fermentasyonun ilk 14. gününde artarak maksimum seviyelerine ulaşmıştır. Lakkaz ve lignin peroksidaz aktiviteleri fermentasyonun sonuna kadar artış göstermiştir. Selülaz aktiviteside fermentasyonun ilk 7 gününde keskin bir yükselişten sonra azalmaya başlamıştır. Fakat 21 günlük fermentasyon süresi sonunda bile kontrole göre %30 oranında daha yüksek seviyede seyretmiştir. Antioksidant kapasitede ise ilk 14. gün yaklaşık olarak %12'lik bir artış söz konusu iken, 21. günde kontrole göre bir azalma söz konusudur (Çizelge 4.32).

Çizelge 4.32. Farklı fermentasyon zamanlarında domates posasının PC katı faz fermentasyonunda çeşitli enzimlerin aktivite değişimi

Enzim Aktivitesi	0. gün ¹	7.gün	14. gün	21.gün
Poligalakturonaz IU/g	23,2±1,1 ^a	29,2±1,2 ^b	39,6±1,9 ^c	24,0±1,3 ^a
Selülaz, IU/g	23,7±0,8 ^a	45,5±2,1 ^b	38,6±1,7 ^c	30,9±0,6 ^d
Lakkaz, IU/g	1,70±0,03 ^a	4,10±0,08 ^b	7,25±0,15 ^c	9,82±0,18 ^d
Lignin peroksidaz, IU/g	5,13±0,08 ^a	11,66±0,14 ^b	14,01±0,16 ^c	14,91±0,13 ^c
Antioksidant kapasite	77,12±0,2 ^a	83,02 ±0,25 ^b	86,05±0,54 ^c	75,46±0,74 ^d
¹ PC inokulantı olan "0." gün fermentasyon örneğindeki analizler ile PC inokulantı konulmadan domates posasının KFF'nun 0., 7.,14. ve 21. günleri arasında çizelge 4.30 'de verilen besin madde analiz değerleri bakımından hiç bir fark saptanmamıştır.				

^{a,b,c} Aynı satır üzerinde farklı harfler ile gösterilen ortalama değerler arasındaki fark önemlidir (P<0.05).

5. TARTIŞMA VE SONUÇLAR

Safari vd., (2012)'nin yaptığı çalışmanın sonuçlarına paralel olarak ayçiçeği küspesinde BS aracılığıyla yapılan fermentasyonda, fermentasyon süresi boyunca önemli artışlar görülürken toplam flavanoid seviyesi fermentasyon süresince ilk 24. saat içerisinde önemli azalma göstermiş, fakat fermentasyonun geri kalan süresi boyunca da artış göstermiştir. Fitik asit miktarı ise fermentasyon süresince önemli derecede azalma göstermiştir. Fermentasyon süresi sonunda fitik asit miktarı yaklaşık %80 civarında azalmıştır. Kim vd., (2012) tarafından BS ile yapılan fermentasyon sonucunda proteaz aktivitesi artmıştır. Yaptığımız fermentasyon sonucunda Kim vd., (2012) ile yapılan çalışmayı destekleyici nitelikte olmuştur. Nitekim fermentasyon sonucunda, fermentasyon süresi boyunca proteaz aktivitesi yaklaşık 4 katlık bir artış göstermiştir. Bunun yanı sıra fitaz aktivitesinde 48. saate kadar 3 kat artış gözlenmiş ve daha sonralarda aktivite de azalmalar başlamıştır. Hücre duvarını parçalayıcı enzimlerden selüloz ve beta glukanaz aktivitelerinde fermentasyon süresi boyunca benzer oranlarda artışlar kaydedilmiştir. Bu durum BS fermentasyonuna cevaben lignin, selüloz ve hemiselüloz miktarlarındaki azalmaların sebebi olabileceklerini göstermektedir. Diğer taraftan BS fermentasyonu amilaz enzim aktivitesinde kayda değer değişikliklere sebep olmamıştır. Antioksidant kapasitesi ise metodun ölçüm sınırı altında kalmıştır.

Soya fasülyesi küspesinde yapılan çalışmalar sonucunda da fitik asit içeriği düzeyi %79 oranında azaltılmış, fermentasyon işlemi toplam fenolik bileşik içeriğinde önemli artışlara neden olmuş ve toplam fenolik içeriği 72. saatlik fermentasyon süresi boyunca yaklaşık 5 katlık bir artış göstermiştir. Buna ekolarak proteaz aktivitesi fermentasyon süresi sonunda fermente olmayan ürüne göre yaklaşık 5 katlık bir artış göstermiş, benzer şekilde, fitaz aktivitesinde de fermentasyonun 48. saatinde kontrole göre yaklaşık 3 katlık bir artış gerçekleşmiştir. Amilaz ve selüloz enzim aktivitelerinde kontrole göre sırasıyla %42 ve %11'lik bir artış gözlenmiştir. Antioksidant kapasitede ise kontrole göre %22'lik bir artış olmuştur.

Zhang vd. (2014) tarafından buğdayda *Lactobacillus* ile yapılan fermentasyon sonucunda besin içeriği yüksek yem üretilmiştir. Bizim yaptığımız çalışma sonucunda da *Lactobacillus* ile buğday yeminde toplam fenolik madde içeriğinde kontrole göre 4 katlık

bir artış, toplam flavonoid içeriğinde ilk 24. saatte kontrole göre bir düşüş yaşanırken, 48. saatte kontrol seviyelerine tekrar ulaşmıştır. Fitik asit seviyesinde ise 48. saatin sonunda kontrole göre %67'lik bir düşüş yaşanmıştır. Bunlara ek olarak hücre duvarını parçalayıcı enzimlerinden selülaaz, ksilanaz ve β -glukanaz aktivitelerinde 48. saatlik fermentasyon süresince kontrole göre sırasıyla %63, %23 ve %15 oranında bir artış gözlenmiş, nişasta parçalayıcı enzim olan amilaz enzim aktivitesi Kumar ve Duhan, (2011) tarafından yapılan çalışmaya benzer şekilde azalış göstermiştir. Buna göre amilaz enzim aktivitesi fermentasyon süresince %31 oranında azalmıştır. Fermentasyon esnasında ortaya çıkan bu tür enzimler ile ön sindirime uğrayan fibröz (diyetsel lif) materyaller mikroorganizmalar tarafından biyolojik olarak kullanılmaya hazır ürünlere dönüştürülebilmekte, sonuçta ABF içerikleri önemli derece azaltılmış fonksiyonel ve besleme değeri yükseltilmiş ürün veya ürünler ortaya çıkmaktadır. Fermentasyonla en çok artış gösteren enzim fitaz olmuştur. Kim vd., (1998) tarafından yapılan çalışmada da fermentasyonun 96. ve 120. saatinde fitaz aktivitesi artış göstermiştir. Söz konusu çalışmamızda ise fitaz enzimin aktivitesi 48 saatlik fermentasyon süresince yaklaşık 3 katlık bir artış göstermiştir. Antioksidant kapasitede ise ykontrole göre yaklaşık olarak %138'lik bir artış söz konusudur.

KFF ile ilgili araştırmaların çoğu enzim üretmek için tahıl kepeğinden yararlanıldığını göstermektedir. Çeşitli mikroorganizmalar fermentasyon sonucu ortaya çıkan pektinaz, selülaaz, hemiselülaaz, glukanaz, ksilanaz, proteaz, lipaz, tannaz, fitaz v.b. ekzojen enzimler vasıtasıyla yem ve gıda materyallerini biyolojik olarak degradasyona uğrattırlar (Gow ve Gadd, 1996; Dhillon vd., 2011; Hanson, 2008). Söz konusu çalışmamızda da LBS aracılığıyla yapılan fermentasyon sinucunda arpa yemlerinde toplam flavonoid ve fitik asit içeriklerinde kontrole göre sırasıyla %48 ve %59 oranında azalma meydana gelmişken, antibesinsel faktörlerin eliminasyonunda LBS'nin etkili olduğu gözlenmiştir. Toplam fenolik bileşik içeriğinde de önemli bir artış (yaklaşık 3 kat) gerçekleşmiştir. Ayrıca selülaaz aktivitesi fermentasyon ile birlikte artmış ve 24. saatte maksimum seviyesine ulaştıktan sonra azalmaya başlamıştır. Ksilanaz ve β -glukanaz aktiviteleri ise 48. saate kadar artış göstermişlerdir. En yüksek artış fitaz aktivitesinde görülmüştür. Fitaz aktivitesi 48. saatlik fermentasyon süresi boyunca yaklaşık 2.5 kat artış göstermiştir. Diğer taraftan amilaz aktivitesinde fermentasyon süresince önemli bir artış

kaydedilmemiştir. Antioksidant kapasitede ise kontrole göre %153 oranında bir artış gerçekleşmiştir.

Arpaya ek olarak yulaf yemlerinde de LBS bakteri fermentasyonu sonucu toplam fenolik bileşikler içeriğinde önemli artışlar görülmüştür. Fermentasyon süresi boyunca toplam fenolik bileşikler kontrole göre yaklaşık olarak 3,6 kat artış göstermiştir. Diğer taraftan Wang vd., (2014) ve Ferri vd., (2016)'ın bildirdiğinin aksine, gerek fitik asit gerekse de toplam flavonoidlerin seviyelerinde fermentasyon boyunca kontrole göre azalma meydana gelmiştir. Bu farklılığın nedeninin LBS'nin esteraz aktivitesinden kaynakladığı düşünülmektedir. Çünkü Cai vd., (2012) ve Schmidt vd., (2014) yaptıkları ön çalışma sonucunda esteraz enzimindeki gelişmenin flavonoid içeriğinde de gelişmeye neden olduğu kanısına varılmıştır. Diğer yandan en büyük azalma fitik asit içeriğinde (%63) meydana gelmiştir. Amilaz aktivitesi 48 saat fermentasyon boyunca kontrole göre %54 oranında artış göstermiştir. Hücre duvarı enzimlerinden ksilanaz ve β -glukanaz aktiviteleri 48 saatlik fermentasyon süresince sırasıyla %34 ve %46 oranında artmıştır. Diğer hücre duvarı enzimi olan selülaz aktivitesinde fermentasyonun ilk 24. saatinde artmış ve sonrasında azalmıştır. Fakat 48. saatlik fermentasyondan sonra bile kontrole göre daha yüksek seviyelerde seyretmiştir. Fitaz aktivitesinde de yine 48 saatlik fermentasyon süresince kontrole göre yaklaşık 2 katlık bir artış gözlenmiştir. Antioksidant kapasitede ise yaklaşık olarak %115'lik bir artış söz konusudur. Literatür çalışmaları incelendiğinde fermente son üründe antioksidant kapasitesinin artmasının toplam fenolik madde içeriğinin artmasından kaynaklandığı belirtilmiştir (Moktan vd., 2008). Yapılan bu çalışmada da toplam fenolik madde ve antioksidant kapasitesinin artması literatürle paralellik göstermektedir.

Elma posasında yapılan çalışmalar sonucunda PO'nun fenolik bileşikler içeriğinde fermentasyonun 14 gününe kadar yaklaşık %154 oranında bir artışa sebep olduğu gözlenirken, fenolik bileşik içeriğinde 21. güne doğru azalma başlamıştır, fakat 21. günde bile kontrole göre yüksek seviyelerde kalmıştır. Fermentasyon sonucunda poligalakturonaz, selülaz, lakkaz ve lignin peroksidaz enzimlerinin aktivitelerinde önemli ölçüde artışlar gözlenmiştir. Poligalakturonaz aktivitesi fermentasyonla birlikte artarak 14. günde maksimum seviyeye çıkmıştır. PO'un katı faz fermentasyonu ile selülaz enziminin üretilebileceği yapılan araştırmalarda bildirmiştir (Goyal ve Soni,

2011). Nitekim söz konusu çalışmamızda selüloz enzim aktiviteside fermentasyonun 7. gününde maksimum seviyeye ulaşmıştır. Diğer taraftan lakkaz enzim aktivitesinde fermentasyon boyunca dalgalanmalar gözlenmiştir. Lignin peroksidaz aktiviteside fermentasyonun 7. gününde kontrole göre yaklaşık 6 katlık bir artış göstermiştir. Fermentasyonun 7. gününden sonra bu enzimin aktivitesi azalmaya başlamıştır. Sonuçlar literatürle kıyaslandığında benzer sonuçlar elde edildiği görülmüştür (Rashad vd., 2010; Freixo vd., 2008). Antioksidant kapasitede ise kontrole göre %30'luk bir artış söz konusudur. Diğer yandan domates posasında PO ile yapılan fermentasyonda domates posasının PO ile fermentasyonunda toplam fenolik içeriğinde fermentasyon süresince önemli artışlar elde edilmiştir. Fermentasyonun 21. gününde toplam fenolik içeriği kontrole göre %124 oranında bir artış göstermiştir. Toplam flavonoid içeriğinde de fermentasyon süresince önemli bir değişim gözlenmemiştir. Poligalakturonaz enzim aktivitesi fermentasyon süresince artış göstermiş ve maksimum aktivitesine fermentasyonun 14. gününde ulaşmıştır. Selüloz, lakkaz ve lignin peroksidaz enzim aktiviteleri fermentasyon süresince önemli derecede artış göstermiş ve fermentasyonun 21. gününde maksimum seviyelerine ulaşmışlardır. Selüloz aktivitesindeki artış literatürlerde verilen sonucu destekler niteliktedir (Goyal ve Soni, 2011). Lakkaz enziminde meydana gelen artış da literatürde verilen sonuçlara uygun bulunmuştur (Kurt ve Buyukalaca 2010). Antioksidant kapasitede 7 ve 14 günde yaklaşık olarak %10,2'lik bir artış söz gözlenirken 21. gün azalma söz konusu olmuştur.

Domates ve elma posası yemlerinde PC aracılığıyla yapılan fermentasyon sonucunda elma posasında toplam fenolik bileşikler içeriğinde fermentasyonun 14. gününe kadar düzenli bir artış söz konusu olup, bu noktadan sonra 14. güne göre yaklaşık %50 oranında bir azalma göstermiştir. Benzer şekilde, toplam flavonoid içeriğinde de 14 güne kadar düzenli bir artış gözlenmiş ve bu noktadan sonra bir azalma meydana gelmiştir. Domates posasında toplam fenolik bileşikler içeriğinde ise fermentasyon süresi sonunda kontrole göre yaklaşık 6 katlık bir artış gözlenmiştir. Toplam flavonoid içeriğinde fermentasyon süresince dalgalanmalar görülmüş, fakat önemli bir değişim gözlenmemiştir. Domates posasında antioksidant kapasitede ilk 14. gün yaklaşık olarak %12'lik bir artış söz konusu iken 21. günde kontrole göre bir azalma meydana gelmiştir. Elma posasında antioksidant kapasitede dalgalanmalar olsa da, kontrole göre artış söz konusudur. Sonuçlar literatürlerle uyum sağlamaktadır (Ajila vd., 2011). Elma ve

domates posasında yapılan enzim analizleri sonucunda poligalakturonaz aktiviteleri literatürü destekleyici nitelikte artarken, selülaz enzim aktivitesi yedinci güne kadar artıp daha sonrasında azalma göstermiştir. Elma posasında lakkaz enziminde dalgalanmalar gözlenirken, domates posasında lakkaz enzim aktivitesinde artış gözlenmiştir (Gassara vd., 2010). Elma posasında fermentasyon süresince lignin peroksidaz enzim aktivitesinde kontrole göre 6 katlık bir artış gözlenmiştir. Domates posasında da benzer şekilde lignin peroksidaz enzim aktivitesinde artışların olması literatürleri yine destekleyici niteliktedir (Gassara vd., 2010).

Sonuç olarak ATK ve SFK'da BS, arpa, yulaf ve buğdayda LBS ve son olarak elma ve domates posasında da PC ve PO aracılığıyla yapılan fermentasyon sonucunda elde edilen enzim aktivitelerinin önemli ölçüde artması literatürlerle paralellik göstermiş ve fermentasyon sonucu elde edilen son ürünlere bakılarak söz konusu bakterilerin, birer probiyotik olarak kullanılması vasıtasıyla hayvanların yemlerden daha iyi bir şekilde yararlanabilecekleri ve bu yemlerin fonksiyonel yem olarak kullanabilecekleri kanısına varılmıştır.

KAYNAKLAR

- Aggelopoulos, T., Katsieris, K., Bekatorou, A., Pandey, A., Banat, I.M., Koutinas, A.A., 2014. Solid state fermentation of food waste mixtures for single cell protein, aroma volatiles and fat production. *Food Chemistry*, 145, 710-716.
- Ajila, C.M., Brar, S.K., Verma, M., Tyagi, R.D., Valéro J.R., 2011. Solid-state fermentation of apple pomace using *Phanerocheate chrysosporium* – Liberation and extraction of phenolic antioxidants. *Food Chemistry*, 126, 1071-1080.
- Altan, A., 1986. Tahıl İşleme Teknolojisi. Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Ofset Atölyesi, 107, Adana.
- Amadou, I., Kamara, M.T., Tidjani, A., Foh, M.B.K., 2010. Physicochemical and nutritional analysis of fermented soybean protein meal by *Lactobacillus plantarum* Lp6. *World Journal of Dairy and Food Sciences*, 5(2), 114-118.
- Anonim, 2009. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Statistical Database, <http://www.fao.org>.
- Aoyama, M., Yasuda, M., Nakachi, K., Kobamoto N., Oku, H., Kato, F., 2000. Soybean-milk-coagulating activity of *Bacillus pumilus* derives from a serine proteinase. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 53(4), 390-395.
- Araya, M. M., Arrieta, J.J., Pérez-Correa, J.R., Biegler L.T., Jorquera, H., 2007. Fast and reliable calibration of solid substrate fermentation kinetic models using advanced non-linear programming techniques. *Electronic Journal of Biotechnology*, 10(1).
- Assi, J.A., King, A. J., 2008. Manganese Amendment and *Pleurotus ostreatus* Treatment to Convert Tomato Pomace for Inclusion in Poultry Feed. *Poultry Science*, 87, 1889-1896.
- Azza, A.M., Samia El-Safy, F., Eman H.F.A., 2013. Improvement of Nutritional Quality and Antioxidant Activities of Fermented Wastes by *Saccharomyces cerevisiae*, *Bacillus subtilis* and *Pleurotus salmoneo-stramineus*. *Proceedings of 3rd Int. Conference on Biotechnology and its applications in Botany and Microbiology*, April 17-18, 2013 Cairo, Mısır.
- Başçetinçelik, A., Öztürk, H.H., Karaca, C., Kaçira, M., Ekinci, K., Kaya, D., Baban, A., Güneş, K., Komıttı, N., Barnes, I., Nieminen, M., 2005. Türkiye’de Tarımsal Atıkların Değerlendirilmesi Rehberi, LIFE 03 TCY/ TR/000061, Adana.
- Bartlett, G.R., 1986. Phosphorus assay in column chromatography. *J. Biol. Chem.* 234:466.
- Brenes, A., Smith, M., Guenter, W., Marquardt, R.R., 1993. Effect of enzyme supplementation on the performance digestive tract size of broiler chickens fed wheat and barley based diets. *Poultry Sci*, 72, 1731-1739.

- Calislar, S., Uygur, G., 2010. Effects of dry tomato pulp on egg yolk pigmentation and some egg yield characteristics of laying hens. *Journal of Animal Veterinary Advances*, 9, 96-98.
- Chantet, T., Sudarat, T., Pornthap, T., 2011. Enhancing Protein Content in Soybean Meal by Mixed Culture Fermentation Process. *KKU Science Journal*, 40, 138-143.
- Cho, K.M., Hong, S.Y., Math R. H., Lee J. H., 2009. Biotransformation of phenolics (isoflavones, flavanols and phenolic acids) during the fermentation of cheonggukjang by *Bacillus pumilus* HY1. *Food Chemistry*, 114, 413-419.
- Crawshaw, R., 2004. *Co-product Feeds: Animal Feeds from the Food and Drinks Industries*. Nottingham University Press.
- De Boland, A.R., Garner, G.B., O Dell B.L., 1975. Identification and properties of phytate in cereal gains and oil seed products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 23, 1186-1189.
- De Castro, R.J.S., Sato, H.H., 2013. The application of a simplex centroid mixture design to the production of protease by *Aspergillus oryzae* under solid state fermentation. The proceedings of International Conference on Food and Biosystems Engineering, 30 May-02 June 2013, Skiathos Island, GEECE.
- Denter, J., Rehm, H., Bisping B., 1998. Changes in the contents of fat-soluble vitamins and provitamins during tempeh fermentation. *International Journal of Food Microbiology*, 45, 129-134.
- Dhillon, G.S., Kaur, S., Brar, S., Verma, M., 2012. Potential of apple pomace as a solid substrate for fungal cellulase and hemicellulase bioproduction through solid-state fermentation. *Industrial Crops and Products*, 38, 6-13.
- Dhillon, G.S., Oberoi, H.S., Kaur, S., Bansal, S., Brar, S., 2011. Value-addition of agricultural wastes for augmented cellulase and xylanase production through solid-state tray fermentation employing mixed-culture of fungi. *Industrial Crops and Products*, 34, 1160-1167.
- Díaz-Godínez, G., 2012. Production of laccases by *Pleurotus ostreatus* in solid-state and submerged fermentation. *Biotechnology of Microbial Enzymes*. Nova Science Publishers, 99-121, New York.
- Dos Santos, T.C., Gomes, D.P.P., Bonomo, R.C.F., Franco, M., 2012. Optimisation of solid state fermentation of potato peel for the production of cellulolytic enzymes. *Food Chemistry*, 133, 1299-1304.
- Edney, M.J., Campbell, G.L., Classen, H.L., 1989. The effect of β -glucanase supplementation on nutrient digestibility and growth in broilers given diets containing barley, oat groats or wheat. *Animal Feed Science and Technology*, 25, 193-200.

- Egounlety, M., Aworth, O.C., 2003. Effect of soaking, dehulling, cooking and fermentation with *Rhizopus oligosporus* on the oligosaccharides, trypsin inhibitor, phytic acid and tannins of soybean (*Glycine max* Merr.), cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp) and groundbean (*Macrotyloma geocarpa*) Harm. Journal of food engineering, 56, 249-254.
- FAO. 2012. FAOSTAT. Food and Agriculture Organization, the United Nations.
- Freixo, M.R., Karmali, A., Arteiro, J.M., 2008. Production and chromatographic behavior of polygalacturonase from *Pleurotus ostreatus* on immobilized metal chelates. Process Biochem, 43, 531- 539.
- Frias, J., Song, Y.S., Martinez-Villaluenga, C., 2008. Immunoreactivity and amino acid content of fermented soybean products. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 56, 99-105.
- Gassara, F., Brar, S.K., Tyagi, R.D., Verma, M., Surampalli, R.Y., 2010. Screening of agro-industrial wastes to produce ligninolytic enzymes by *Phanerochaete chrysosporium*. Biochemical Engineering Journal, 49(3), 388-394.
- Gautam, H.R., Guleria, S.P.S., 2007. Fruit and Vegetable Waste Utilization. Science Tech Entrepreneur. January, 2007.
- Gieger, H.H., Miedaner, T.M.J., 2009. Rye Breeding. Cereals, DOI: 10.1007/978-0-387-72297-9, Springer Science, Business Media, LLC.
- Gow, N.A.R., Gadd, G.M., 1996. The Gowing Fungus. Chapman and Hall, 473.
- Gowthaman, M.K., Krishna, C.H., Moo-Young, M., 2001. Fungal solid state fermentation- an overview. Applied Mycology and Biotechnology, 1, 305-352.
- Goyal, M, Soni, G., 2011. Production and characterization of cellulolytic enzymes by *Pleurotus florida*. African Journal Microbiology Research, 5, 1131-1136.
- Gaminha, E.B.N., Goncalves, A.Z.L., Pirota, R.D.P.B., Balsalobre, M.A.A., Da Silva, R., Gomes, E., 2008. Enzyme production by solid-state fermentation: Application to animal nutrition. Animal Feed Science and Technology, 144, 1-22.
- Gover, A., Maninder, A., Sarao, L.K., 2013. Production of fungal amylase and cellulase enzymes via solid state fermentation using *Aspergillus oryzae* and *Trichoderma reesei*. International Journal of Advancements in Research & Technology, 2(8), 108-124.
- Hachmeister, K.A., Daniel, Y., Fung, C., 1993. A Mold-Modified Indigenous Fermented Food Made from Soybeans and/or Cereal Gains. Critical Reviews in Microbiology, 19(3), 137-188.
- Han, X., Shen, T., Lou, H., 2007. Dietary polyphenols and their biological significance. International Journal Food Microbiology, 8, 950-988.

- Hanson, J. R., 2008. "The Chemistry of Fungi" 1st ed. RSC Publishing. S:221.
- Hardy, R.W., 2010. Utilization of plant proteins in fish diets: effects of global demand and supplies of fish meal. *Aquaculture Research*, 41, 770-776.
- Hesselman, K., Aman, P., 1985. Analysis of cereal gains and the influence of β -glucans on digestion in broilers. *New Approaches to Research on Cereal Carbohydrates*. Edited by R.D. Hill and L. Munck, Elsevier Science Publishers, B.V. Amsterdam.
- Hirabayashi, M., Matsui, T., Yano, H., 1998. Fermentation of soybean meal with *Aspergillus oryzae* reduces phosphorus excretion in chicks. *Poultry Science*, 77, 552-556.
- Hong, K. J., Lee, C., Kim, H.S.W., 2004. *Aspergillus oryzae* GB-107 fermentation improves nutritional quality of food soybeans and soybean meals. *Journal of Medical Food*, 7(4), 430-435.
- Jafari, M., Pirmohammadi, R., Bampidis, V., 2006. The use of dried tomato pulp in diets of laying hens. *International Journal of Poultry Science*, 5, 618-622.
- Joseph I., Paul, R.R., Bhatnagar, D., 2008. Effect of solid state fermentation on nutrient composition of selected feed ingredients. *Indian Journal Fish*, 55(4), 327-332
- Joshi, V.K., Devender, A., 2006. Solid state fermentation of apple pomace for the production of value added products. *Natural Product Radiance*, 5(4), 289-296.
- Joshi, V.K., Gupta, K., Devrajan, A., Lal, B.B., Arya, S.P., 2000. Production and evaluation of fermented apple pomace in the feed of broilers. *Journal of Food Science and Technology*, 37(6), 609-612.
- Joshi, V.K., Mukesh, P., Rana, N.S., 2006. Pectin esterase production from apple pomace in solid-state and submerged fermentations. *Food Technology and Biotechnology*, 40(2), 253-256.
- Kaur, K., Bakshi, M.P.S., Wadhwa, M., Saxena, A.K., Sunita, S., Phutela, R.P., 2009. Solid state fermentation of cereal gains for protein value addition. *Journal of Food Science and Technology*, 46(2), 109-113.
- Kim, M., Han, S., Ko, J., Kim, Y., 2012. Degradation characteristics of proteins in Cheonggukjang (fermented unsalted soybean paste) prepared with various soybean cultivars. *Food Science and Biotechnology*, 21(1), 9-18.
- Kim, S. W., Heugten, E., Ji, F., Lee, C. H., Mateu, R.D., 2010a. Fermented soybean meal as a vegetable protin source for nursery pigs: I. Effects on growth performance of nursery pigs. *Journal of Animal Science*, 88, 214-224.
- Kim, J., Hwang, K., Lee, S., 2010b. ACEInhibitoryandhydrolyticenzymeactivities in textured vegetable protein in relation to the solid state fermentation period using *Bacillus subtilis* HA. *Food Science and Biotechnology*, 19(2), 487-495.

- Kolsarıcı, O., Kaya, M.D., Üstüner, N.D., Sarıhan, E.O., 2005. Farklı NaCl konsantrasyonlarının bazı yağ bitkileri tohumlarının çimlenmesi üzerine etkileri. Türkiye VI. Tarla Bitkileri Kongresi, Cilt I: 553-556. 5-9 Eylül 2005, Antalya.
- König, J., Gasser, R., Pikor, H., Vogel, K., 2002. Determination of xylanase, beta-glucanase, and cellulase activity. *Anal Bioanal Chem.*, 374(1), 80-87
- Krishna, CH., 2005. Solid-state fermentation systems- an overview. *Critical Reviews in Biotechnology*, 25, 1-30.
- Kumar, A., Duhan, J.S., 2011. Production and characterization of amylase enzyme isolated from *Aspergillus niger* mtcc-104 employing solid state fermentation. *International Journal of Pharma and BioSciences*, 2(3), 250-258.
- Kurt, S., Buyukalaca, S., 2010. Yield performances and changes in enzyme activities of *Pleurotus* spp. (*P. ostreatus* and *P. sajor-caju*) cultivated on different agricultural wastes. *Bioresource Technology*, 101, 3164-3169.
- Lateef, A., Oloke, J.K., Gueguim, K.E.B., Oyeniya, S.O., Onifade, O.R., Oyeleke, A.O., Oladosu, O.C., Oyelami, A.O., 2008. Improving the quality of agro-wastes by solid-state fermentation: Enhanced antioxidant activities and nutritional qualities. *World Journal Microbiology Biotechnology*, 24, 2369-2374.
- Machida, M., Gomi, K., 2010. *Aspergillus: Molecular Biology and Genomics*. Caister Academic Press, 238.
- Mathot, P., Debevere, C., Walhain, P., Baudart, E., Théwis, A., Brakel, J., 1992. Composition and nutritive value for rats of *Aspergillus niger* solid fermented barley. *Animal Feed Science and Technology*, 39(3-4), 227-237.
- Matoo, F.A., Bhat, G.A., Banday, M.T., Ganai T.A.S., 2001. Performance of broiler fed on apple pomace diets supplemented with enzymes. *Indian Journal of Animal Nutrition*, 18, 349-352.
- Matsui, T., Hirabayashi, M., Iwama, Y., 1996. Fermentation of soya-bean meal with *Aspergillus usami* improves phosphorus availability in chicks. *Animal Feed Science and Technology*, 60(1-2), 131-136.
- Milner, Y., Avigad, G., 1967. A copper reagent for the determination of hexuronic acids and certain ketohexoses. *Carbohydrate Research*, 4, 359-361.
- Mohamed A. I., Perera P. A. J., and Hafez, Y. S. 1986. New Chromophore for Phytic Acid Determination. *American Association of Cereal Chemists*, 63(6), 475-478.
- Moktan, B., Saha, J., Sarkar, P.K., 2008. Antioxidant activities of soybean as affected by *Bacillus*-fermentation to kinema. *Food Research International*, 41, 986-993.

- Naik, A.S., Lee, S.S., 2012. Solid state fermentation of pomegranate seed for lovastatin production: A bioprocessing approach. *Advances in Bioscience and Biotechnology*, 3, 643-647.
- Nair, V., 1990. Reduction of phytic acid content in canola meal by solid state fermentation. PhD thesis. The University of Ottawa, 146.
- Niture, S., Pant, A., 2007. Production of cell-wall degrading enzymes by a pH tolerant estuarine isolate *Fusarium moniliforme* NCIM1276 in different culture conditions. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 23(8), 1169-1177.
- Oboh, G., 2006. Nutrient enrichment of cassava peels using a mixed culture of *Saccharomyces cerevisiae* and *Lactobacillus* spp. solid media fermentation techniques. *Electronic Journal of Biotechnology*, vol. 9, no. 1.
- Pal Vig, A., Walia, A., 2001. Beneficial effects of *Rhizopus oligosporus* fermentation on reduction of glucosinolates, fiber and phytic acid in rapeseed (*Brassica napus*) meal. *Bioresources Technology*, 78, 309-312.
- Petterson, D., Gaham, H., Aman, P., 1991. The nutritive value for broiler chickens of pelleting an enzyme supplementation of a diet containing barley, wheat and rye. *Animal Feed Science and Technology*, 33, 1-14.
- Quettier-Deleu, C., Gessier, B., Vasseur, J., Dine, T., Brunet, C., Luyckx, M., Cazin, M., Cazin, J.C., Bailleul, F., Trotin, F., 2000. Phenolic compounds and antioxidant activities of buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) hulls and flour. *Journal Ethnopharmacol*, 72, 35-42.
- Rashad, M.M., Abdou, H.M., Mahmoud, A.E., Nooman, M.U., 2009. Nutritional analysis and enzyme activities of *Pleurotus ostreatus* cultivated on *Citrus limonium* and *Carica papaya* wastes. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, 3, 3352-3360.
- Rashad, M.M., Abdou, H.M., Shousha, W.G.H., Ali, M.M., El-Sayed, N.N., 2010. Purification and characterization of extracellular polygalacturonase from *Pleurotus ostreatus* using *Citrus limonium* waste. *Journal of Applied Sciences Research*, 6(81)-88.
- Rashad, M.M., Mahmoud, A.E., Abdou, H.M., Nooman, M.U., 2011. Improvement of nutritional quality and antioxidant activities of yeast fermented soybean curd residue. *African Journal of Biotechnology*, 10(28), 5504-5513.
- Ravindra, A. P., 2000. Value-added food: single cell protein. *Biotechnology Advances*, 18, 459-479.
- Rizal, Y., Mahata, M.E., Joli, I., Wu, G., 2012. Improving the Nutrient Quality of Juice Wastes Mixture Through Fermentation by Using *Trichoderma viride* for Poultry Diet. *International Journal of Poultry Science*, 11, 203-207.

- Ruiz-Barrera, O., Castillo-Castillo, Y., Carrillo-Chan, L.M., Salinas-Chavira, J., Arzola-Alvarez, C., LópezMorones, J., Gado-Ahuir, A., 2013. Probiotic levels, chemical composition and fermentative characteristics in solid state fermentation of paper sludge for animal feeding. *Advances in Bioscience and Biotechnology*, 4, 1147-1154.
- Safari, O.M., Farhangi, C., Carter, B., Yakhchali, S., Bai, M., Sangatash, M., 2012. Study on the effect of solid state fermentation with *Aspergillus niger* on antinutritional factors of canola protein concentrate with aim of using in the diet of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). The proceedings of the 1th International and the 4th National Congress on Recycling of Organic Waste in Agriculture, 26 – 27 April 2012 in Isfahan, 1-12, Iran.
- Salajegheh, M.H., Ghazi, S., Mahdavi, R., Mozafari, O., 2012. Effects of different levels of dried tomato pomace on performance, egg quality and serum metabolites of laying hens. *African Journal of Biotechnology*, 11, 15373-15379.
- Sato, T., Yamada, Y., Ohtani, Y., 2001. Production of Menaquinone (Vitamin K₂)- 7 by *Bacillus subtilis*. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 91(1), 16-20.
- Schieber, A., Hilt, P., Streker, P., Endress, H.U., Rentschler, C., Carle, R.A., 2003. New process for the combined recovery of pectin and phenolic compounds from apple pomace. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 4(1), 99-107.
- Sethi, A.P.S., 2012. Effect of tomato pomace on the performance of broilers. Proceedings national seminar on new frontiers and future challenges in horticultural crops, 219. Punjab Agricultural University, Ludhiana. 15-17 March 2012.
- Singleton, V.L., Rossi, J.R., 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16, 144-158.
- Shojaosadati, S.A., Babaeipour, V., 2002. Citric acid production from apple pomace in multi-layer packed bed solid-state bioreactor. *Process Biochemistry*, 37(8), 909-914.
- Shojaosadati, S.A., Faraidouni, R., Madadi-Nouei, A., Mohamadpour, I., 1999. Protein enrichment of lignocellulosic substrates by solid state fermentation using *Neurospora sitophila*. *Resources, Conservation and Recycling*, 27, 73-87.
- Singhania, R.R., Patel, A.K., Soccol, C.R., Pandey, A., 2009. Recent advances in solid- state fermentation. *Biochemical Engineering Journal*, 44, 13-18.
- Song, Y.S., Frias, J., Martinez-Villaluenga, C., 2008. Immunoreactivity reduction of soybean meal by fermentation, effect on amino acid composition and antigenicity of commercial soy products. *Food Chemistry*, 108, 571-581.
- TS EN ISO 14902:2001. Hayvan yemleri-Soya ürünlerinin tripsin engelleyici aktivitesinin tayini. Türk Standartları Enstitüsü. Necatibey Caddesi No.112 Bakanlıklar/ANKARA.

- TS EN ISO 30024:2009. Hayvan yem maddeleri - Fitaz aktivitesinin tayini. Türk Standartları Enstitüsü. Necatibey Caddesi No.112 Bakanlıklar/ANKARA.
- TS EN ISO 5506:1988. Soya fasülyesi ürünleri - Üreaz aktivitesinin tayini. Türk Standartları Enstitüsü. Necatibey Caddesi No.112 Bakanlıklar/ANKARA.
- Villas-Boas, S.G., Esposito, E., De Mendonca, M.M., 2003. Bioconversion of apple pomace into a nutritionally enriched substrate by *Candida utilis* and *Pleurotus ostreatus*. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 19, 461-467.
- Wang, H.L., Swain, E.W., Hesseltine, C.W., 1980. Phytase of molds used in oriental food fermentation. Journal of Food Science, 45, 1262-1266.
- Wang, X.J., Bai, J.G., Liang, Y.X., 2006. Optimization of multienzyme production by two mixed strains in solid-state fermentation. Applied Microbiology and Biotechnology, 73(3), 533-540.
- Weng, T., Chen, M., 2010. Changes of protein in Natto (a fermented soybean food) affected by fermenting time. Food Science and Technology Research, 16(6), 537-542.
- Wing, J.M., 2003. Citrus Feedstuffs for Dairy Cattle. University of Florida, IFAS, 829.
- Yang, Y.H., Wang, B.C., Wang, Q.H., Xiang, L.J., Duan, C.R., 2004. Research on solid-state fermentation on rice chaff with a microbial consortium. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 34(1), 1-6.
- Yasar, S., Gok, M.S., 2014. Fattening Performance of Japanese Quails (*coturnix coturnix japonica*) Fed on Diets with High Levels of Dry Fermented Wheat, Barley and Oats Gains in Whey with Citrus Pomace. Bulletin UASVM Animal Science and Biotechnologies, 71(1), 51-62.
- Yasar, S., Forbes, J.M., 1999. Performance and gastro-intestinal response of broiler chickens fed on cereal gain-based foods soaked in water. British Poultry Science, 40, 65-76.
- Yasar, S., Forbes, J.M., 2000. Enzyme supplementation of dry and wet wheat-based feeds for broiler chickens: performance and gut response. British Journal of Nutrition, 84, 297-307.
- Yasar, S., 1998. Assessment of the nutritional effects of water treatment of feed for poultry. Ph.D. Thesis, Leeds University, Department of Animal Physiology & Nutrition, School of Biology.
- Yasar, S., 2014. Etlik Cıvı ve Piliçlerde Buğday, Arpa ve Yulaf Dane Yemlerinin Peynir Suyu ve Narenciye Posası ile Fermentasyona Uğratarak Besleme Değerlerinin Artırılmasına Yönelik Çalışmalar, TÜBİTAK 1030201 Nolu Proje Raporu, Temmuz 2014.

- Yasar, S., Gok, M.S., Gurbuz, Y. 2016. Performance of broilers fed raw or fermented and redried wheat, barley, and oat gains. Turk J Vet Anim Sci, 40: 313-322.
- Yasuda, M., Soeishi, K., Miyahira, M., 1984. Purification and Properties of Acid Protease from *Monascus*. Agricultural and Biological Chemistry, 48(6), 1637-1639.
- Yilmazkart, M., 2015. Ulusal Hububat Konseyi Arpa-Yulaf-Çavdar-Tritikale Raporu. Kasım 2015.
- Zhang, ST., Shi, Y., Zhang, S., Shang, W., Gao, X., Wang, H., 2014. Whole soybean as probiotic lactic acid bacteria carrier food in solid-state fermentation. Food Control, 41, 1-6.
- Zheng, Z.X., Shetty, K., 1998. Solid-state of beneficial fungi on apple processing wastes using glucosamine as the indicators of growth. Journal of Agricultural Food Chemistry, 46, 783-787.
- Zheng, Z.X., Shetty, K., 2000. Solid state production of polygalacturonase by *Lentinus edodes* using fruit processing wastes. Process Biochemistry, 35(8), 825-830.
- Zhong-Tao, S., Lin-Mao, T., Cheng, L., Jin-Hua, D., 2009. Bioconversion of apple pomace into a multienzyme bio-feed by two mixed strains of *Aspergillus niger* in solid state fermentation. Electronic Journal of Biotechnology, 12(1), 1-9.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Civan ÇELİK

Doğum Yeri ve Yılı : Batman, 1991

Medeni Hali : Evli

Yabancı Dili : İngilizce

E-posta : civan__celik@hotmail.com

Taranmış
Fotoğraf
(3.5cm x 3cm)

Eğitim Durumu

Lise : Söke Anadolu Lisesi, 2009

Lisans : SDÜ, Ziraat Fakültesi, Tarımsal Biyoteknoloji Bölümü