**ANKARA ÜNİVERSİTESİ  
BİLİMSEL ARAŞTIRMA PROJELERİ  
KOORDİNASYON BİRİMİ KOORDİNATÖRLÜĞÜNE**

**Proje Türü : Hızlandırılmış Destek Projesi**

**Proje No : 17H0443006**

**Proje Yürütücüsü : Doç.Dr. Suna ERTUNÇ**

**Proje Başlığı : Ön çoğaltma ve havalandırma koşullarının maya çoğalması ve beta glukan verimine etkisinin incelenmesi**

Yukarıda bilgileri yazılı olan projemin sonuç raporunun e-kütüphanede yayınlanmasını;

İSTİYORUM

İSTEMİYORUM  GEREKÇESİ:

18.12.2018

Doç.Dr. Suna ERTUNÇ  
 İmza

|  |
| --- |
| **ANKARA ÜNİVERSİTESİ**  **BİLİMSEL ARAŞTIRMA PROJESİ SONUÇ RAPORU**  **Ön çoğaltma ve havalandırma koşullarının maya çoğalması ve beta glukan verimine etkisinin incelenmesi**    Proje Yürütücü: **Doç.** **Dr. Suna ERTUNÇ**  Proje Numarası: **17H0443006**  Başlama Tarihi: **08.11.2017**  Bitiş Tarihi: **08.07.2018**  Rapor Tarihi: **05.10.2018**                       Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Ankara - " 2018 " |

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 1. **Projenin Türkçe ve İngilizce Adı ve Özetleri**   **Ön çoğaltma ve havalandırma koşullarının maya çoğalması ve beta glukan verimine etkisinin incelenmesi**  Beta glukan; insan ve hayvan sağlığı üzerinde olumlu etkileri olan, ekonomik değeri yüksek, FDA tarafından onaylı bir maddedir. Bağışıklık sistemini güçlendirici, anti-inflamatuar, anti-mikrobiyal, anti-viral, yara iyileştirici, kolesterol düşürücü, radyoaktif koruyucu olarak da etki göstermektedir [1, 2]. Beta glukan; bakteri, maya, alg ve mantarların hücre duvarlarında; arpa, yulaf ve buğday gibi çeşitli tahıllarda bulunur [3]. Elde edildiği kaynağa göre beta glukanın kimyasal yapısı, fiziksel özellikleri ve sağlık üzerine olan etkileri değişmektedir. Beta glukanlar, kaynağına göre değişen yapıda, kısa ve orta uzunluktaki zincirlerden oluşan polisakkaritlerdir. Mayalar, ucuz temin edilebildikleri ve hücre duvarları yeterince yüksek beta glukan içeriğine sahip olabildiğinden dolayı beta glukan üretimi için ideal kaynak olarak kullanılabilir. Özellikle *Saccharomyces cerevisiae* mayasının hücre duvarından elde dilen beta glukanın sağlık açısından pek çok fayda sağladığı literatür araştırmalarında görülmüştür [3].  Mayanın kuru kütlesi başına ekstrakte edilen beta glukan kütlesi olarak tanımlanan beta glukanın verimini etkileyen iki basamak söz konusudur. Bunlar, mayanın çoğalma koşulları ve ekstraksiyon koşullarıdır. Hücre duvarının yapısı ve bileşimi; mayanın çoğalma koşullarına ciddi bir biçimde bağlıdır. Mayanın çoğaltıldığı ortamın pH’ı, sıcaklığı, karıştırma hızı, havalandırma koşulları; maya çoğalması, ürün verimi ve seçimliliği üzerinde önemli etkilere sahiptirler. Ayrıca maya hücrelerinin son çoğaltma basamağına kadar hızlı adaptasyonlarının sağlanması ve proses zamanının kısaltılması açısından ön çoğaltma basamaklarındaki mikroorganizma aktarım oranının da belirlenmesi önemlidir. Bu nedenle maya çoğalması boyunca mayanın beta glukan içeriğinin arttırılması amacıyla bu koşulların belirlenmesi kritik öneme sahiptir. Çoğalma ortamı koşulları, maya çoğalmasının yanı sıra mayanın beta glukan içeriğine de etki eder. Diğer taraftan mikroorganizmaların çevresel koşullarda oluşabilecek stres altında çoğalma ve ürün oluşumu yol izinde değişikliklerin olabildiği ve bu durumun pek çok ürünün üretimini arttırmak üzere uygulaması da söz konusudur [4]. Bu proje kapsamında maya çoğalma koşullarından i) ön çoğaltma basamağındaki mikroorganizma aktarım oranının ve ii) havalandırma koşulunun maya çoğalmasına ve beta glukan verimine etkisi incelenmiştir.  Deneylerde maya çoğalması önceki çalışmalarda belirlenen pH 4.7, sıcaklık 34.7 oC ve çalkalama hızı 150 rpm koşullarında, 500 mL’lik erlen biyoreaktörlerde gerçekleştirilmiştir. Proje kapsamında ilk olarak *Saccharomyces cerevisiae* mayası ön çoğaltma basamaklarında farklı aktarım oranlarında çoğaltılarak, aktarım oranının beta glukan verimine ve maya derişimine etkisi araştırılmıştır. Ön çoğaltma basamaklarında %1, %5, %10 ve %20 (v/v) mikroorganizma aktarım oranlarında maya çoğaltılarak 8 saatlik çoğaltma süresi sonunda mikroorganizma derişimi ve beta glukan içeriği belirlenmiştir. Maksimum maya çoğalması 5.044 g k.h./L olarak %1 [v/v] aktarım oranında elde edilmiştir. Beta glukan verimi açısından ise maksimum verim değeri 0.793 g beta glukan/g k.h. olarak %5 [v/v] aktarım oranında elde edilmiştir.  Havalandırma koşulunun maya çoğalmasına ve beta glukan verimine etkilerinin incelendiği çalışmanın ikinci aşamasında ise beta glukan verimini maksimize eden ön çoğaltma basamağındaki %5’lik aktarım oranında çalışılmıştır. Bu aşamada, son çoğaltma basamağı olan 500 mL’lik erlen biyoreaktörlerde 4 farklı havalandırma koşulunda maya çoğaltılarak maya derişimi ve beta glukan verimine havalandırmanın etkisi incelenmiştir. En yüksek maya çoğalması, 4. saatten itibaren 1 vvm hava beslemesi durumu olan kısmi havalandırmada 3.957 g k.h/L olarak elde edilmiştir. Fakat en yüksek beta glukan verimi, mikroorganizma aktarımı sonrası çoğalma ortamındaki oksijenin azot geçirilerek uzaklaştırılıp çoğalma boyunca da hava beslemesinin yapılmadığı havalandırmasız koşulda 0.699 g beta glukan/g k.h. olarak elde edilmiştir. Sonuç olarak *S. cerevisiae* mayasından en yüksek beta glukan verimine ön çoğaltma basamaklarında %5 aktarım oranında maya aktarımı ve besi ortamındaki oksijenin azotla uzaklaştırıldığı havalandırmasız koşulda çoğaltılmasıyla ulaşılmıştır. Buna göre en yüksek maya çoğalması ve beta glukan verimini elde etmek üzere maya çoğalma koşullarının farklı olduğu açıktır.  **Examination of pre-culture and aeration conditions effects on yeast growth and beta glucan productivity**  Beta glucan has high economic added value due to its positive effects on human and animal health, and is FDA approved. It also acts as an immune system enhancer, anti-inflammatory, anti-microbial, anti-viral, wound healing, cholesterol-lowering, radioactive preservative [1, 2]. Beta glucan be found on the cell walls of bacteria, yeast, algae and fungi and also some grains like as barley, oats, and wheat [3]. It's chemical structure, physical properties and health effects are changing according to the source obtained. Beta glucans are polysaccharides composed of short and medium-length chains in a structure that varies according to source. Yeasts can be used as an ideal source for production because they can be provided cheaply and their cell walls have sufficiently high beta-glucan content. In particular, beta glucan produced from the cell wall of the yeast *Saccharomyces cerevisiae* has been found to be of many health benefits [3].  There are two steps that affect the yield of beta glucan, which is defined as the beta glucan mass extracted per dry mass of the yeast. These are the yeast growth and extraction conditions. Structure and composition of cell wall is strongly dependent on the growth conditions of the yeast. Growth medium pH, temperature, mixing and aeration conditions have significant effects on product yield and selectivity. It is also important to determine the inoculum ratio of microorganism in the pre-culture steps, in terms of ensuring rapid adaptation of the yeast cells to the last replication step and shortening the process time. For this reason, it is critical to determine these conditions in order to increase the beta glucan content of the yeast during yeast growth. Growth medium conditions also affect the beta glucan content of yeast, as well as yeast growth. On the other hand, there is also the possibility that the microorganisms may undergo changes in the path of growth and product formation under stress that may occur under environmental conditions, and that this practice may be applied to increase the production of many products [4]. Within this project, i) inoculum ratio of the microorganism in the pre-culture step and ii) the effect of the aeration condition on yeast growth and beta glucan yield were investigated.  In the experiments yeast growth was carried out in 500 mL conical flask bioreactors, at pH 4.7, temperature 34.7 ° C and shaking speed 150 rpm, determined in previous studies. Within the scope of the project, firstly *Saccharomyces cerevisiae* yeast was grown at different inoculum ratios during the pre-culture steps and the effect of inoculum ratio on beta glucan yield and yeast concentration was investigated. Yeast was growth during the pre-culture steps at the 1%, 5%, 10% and 20% (v/v) microorganism inoculum ratios then microorganism concentration and beta glucan content were determined at the end of the 8 hours growth period. The maximum yeast growth was obtained at inoculum ratio of 1% [v/v] as 5.044 g d.w./L. In terms of beta glucan production, the maximum yield value is obtained as 0.793 g beta glucan/g d.w. with the inoculum ratio of 5% [v/v].  In the second phase of the study, which investigated the effects of aeration condition on yeast growth and beta-glucan yield, was conducted at the 5% inoculum ratio in the pre-culture step, which maximizes beta glucan yield, was studied. At this stage, the effect of aeration on the yeast concentration and beta-glucan yield was investigated by growth the yeast in 4 different aeration conditions in 500 mL erlen bioreactors which are the last growth step. The highest yeast proliferation was obtained as 3.957 g k.h / L in partial aeration with 1 vvm air supply condition from the 4th hour of the yeast growth. However, the highest beta glucan yield was obtained at the nonaerated condition which was provided by removing the oxygen in the growth medium by nitrogen after the microorganism transfer and air was not supplied during the growth. As a result, the highest beta glucan yield from *S. cerevisiae* yeast was achieved by yeast growth with the 5% inoculation ratio in the pre-culture steps and non-aerated condition which was removed the oxygen in the growth medium with nitrogen. It is obviously concluded that the yeast growth conditions are different in order to obtain the highest yeast growth and beta glucan yield.   1. **Amaç ve Kapsam**   Ticari öneme sahip bir beslenme desteği ürün olan beta glukan, tahıllar (başlıca arpa, yulaf, buğday), mayalar, mantarlar ve bakterilerden elde edilebilen, insan ve hayvan sağlığı üzerindeki olumlu etkileri nedeniyle son yıllarda yoğun ilgi çeken bir üründür. Özellikle diğer kaynaklara göre daha fazla beta glukan içeriğine sahip olmasının yanı sıra sağlık üzerine etkileri açısından daha zengin olması sebebiyle, ekmek mayası olarak da bilinen *S. cerevisiae* mayasından üretimi hem ekonomik hem de kullanışlıdır. Mayanın hücre duvarı materyali olan beta glukanın, birim kuru maya kütlesi başına ekstrakte edilen beta glukan kütlesi olarak tanımlanan verimi arttırmak üzere hem maya çoğalma koşulları hem de maya hücre duvarından beta glukanın ekstraksiyon koşulları etkilidir.  Beta glukan verimini maksimize etmek üzere mayanın çoğalma koşullarından sıcaklık, pH ve çalkalama hızı, çalışma grubunda daha önce yürütülen çalışmalar kapsamında belirlenmiş olup bu proje kapsamında ise mayanın ön çoğaltma basamaklarındaki mikroorganizma aktarım oranının belirlenmesinin ardından en uygun havalandırma koşulunun belirlenerek beta glukan verimin arttırılması amaçlanmıştır. Literatürde beta glukan verimini arttırmaya yönelik çalışmaların odağı çoğunlukla ekstraksiyon adımında kullanılacak en uygun yöntemin ve ilgili ekstraksiyon koşullarının belirlenmesini oluşturmaktadır. Ayrıca beta glukanın sağlık üzerine etki mekanizmalarının aydınlatılmaya çalışıldığı tıp alanındaki çalışmalar da literatürde geniş bir yer tutmaktadır. Mikroorganizmalara uygulanan genetik modifikasyonlarla beta glukan verimini arttırmaya dair çalışmalar da hatırı sayılır düzeydedir. Mühendislik bakış açısından iki aşamalı bu proseste ürün verimini arttırmak üzere prosesin ilk aşaması olan maya çoğaltma prosesinin kısıtlayıcı basamak olduğu ve maksimum beta glukan içeriğine sahip maya çoğaltmanın gerekliliğinden hareketle bu proje kapsamındaki çalışmalar planlanmıştır. Başlangıçtaki ana fikir, ne kadar çok mikroorganizma çoğaltılırsa o kadar çok beta glukan içerecektir şeklinde olsa da daha sonra verim tanımından hareketle birim maya kütlesi başına elde edilen beta glukan kütlesini maksimize etmenin maya derişimini maksimize etmekle sağlanamayabileceği fikri oluşmuştur. Bu nedenledir ki proje kapsamında hem maya derişimi hem de beta glukan verimi paralel olarak değerlendirilmiştir.  Çeşitli evrimsel adaptasyonlara sahip olan mikroorganizmalar bu sayede hayat döngülerini sürdürebilir ve çevresel strese karşı dayanabilmektedirler. Bu stres koşulları sıcaklık, ozmotik basınç, oksijen derişimi, kimyasal maddeler gibi pek çok fiziksel ve kimyasal etmen olabilmektedir. Mikroorganizma çoğalması sırasında havalandırma ile besi ortamında çözünen oksijen mikroorganizmaların besin maddelerini kullanabilmeleri ve metabolik faaliyetlerini devam ettirebilmeleri için gerekli olan temel substrattır. Fakültatif bir mikroorganizma olan *Saccharomyces cerevisiae* mayasının da çoğalma evresinde farklı havalandırma koşulları ile mikroorganizma üzerinde stres koşulu yaratılarak maya hücre duvarı materyallerinden olan beta glukan miktarının arttırılması amaçlanmıştır.     1. **Materyal ve Yöntem**   Çalışmalarda liyofilize halde ‘‘Agricultural Research Service Culture Collection, USA’’ den temin edilen *Saccharomyces cerevisiae* NRRL Y-567 mikroorganizması kullanılmıştır. Liyofilize halde derin dondurucuda (-20ºC) saklanan mikroorganizmalar canlandırma ortamında çoğaltılmıştır. Daha sonra canlandırma ortamından alınan mikroorganizmalar ekmek mayasının genç kalması ve yapısındaki enzimlerin aktivitesini kaybetmemesi amacıyla periyodik olarak (7-10 gün) Tablo 1’deki bileşimde hazırlanan katı besi ortamına aktarılmıştır. Katı besi ortamına aktarıldıktan sonra +4ºC’de buzdolabında muhafaza edilmiştir. Deneysel çalışmalar yapılmadan hemen önce de mikroorganizma taze katı besi ortamına aktarılmıştır. Mikroorganizmaların gelişme, üreme ve fizyolojik yaşamlarını sürdürebilmeleri için besin olarak karbonlu ve azotlu organik maddeler, belirli oranlarda potasyum, sodyum, fosfor, kükürt, magnezyum, kalsiyum içeren organik ya da inorganik maddelere ihtiyaçları vardır. *S. cerevisiae* mikroorganizmasının çoğaldığı katı ve sıvı besi ortamlarının bileşimleri ve hazırlanışı aşağıda anlatılmıştır.  ***Katı besi ortamı hazırlanışı ve katı besi ortamına aktarım şu şekildedir;***   * Tablo 1’de belirtilen miktarlarda katı besi ortamı bileşenlerinin hassas terazide tartımları alınmıştır. * Tartımlar alındıktan sonra iki ayrı çözelti halinde; glikoz çözeltisi (glikoz ve saf su) ve tuz çözeltisi (glikoz dışındaki maddeler ve saf su) olarak homojen hale gelinceye kadar manyetik karıştırıcıda ısıtılmadan karıştırılmıştır. İki ayrı çözelti hazırlanmasının amacı; sterilizasyon işlemi sırasında glikozun mineral tuzları ile etkileşimini ve bunun sonucunda glikozun bozunmasını önlemektir. * Hazırlanan çözeltiler homojen hale getirildikten sonra otoklavda 2 atm basınç ve 121ºC koşullarında doygun buhar ile 20 dakika boyunca sterillenmiştir. * Sterilizasyon sonrası herhangi bir bulaşmaya engel olmak için glikoz ve tuz çözeltileri, Class II laminer akışlı steril kabine alınmış ve homojen olacak şekilde karıştırılarak önceden sterillenmiş, ağızları mikrobiyolojik filtre ile kapatılan deney tüplerine 10-15 mL hacimlerde olacak şekilde paylaştırılmış, eğik agar oluşturacak şekilde UV ışık altında katı hale gelmesi için beklenmiştir (Şekil 1). * Katı besi ortamı içeren eğik agarlar, mikrobiyolojik filtreleri alüminyum folyo ile sarılarak +4ºC’de buzdolabında bir gece bekletilmiştir. * Mikroorganizma, eğik agarlar üzerine steril kabinde alev yanında öze yardımıyla aktarılmış ve 32˚C’de 20 saat inkübatörde çoğaltılmıştır (Şekil 2).   ***Sıvı besi ortamında ön çoğaltmada mikroorganizma aktarım oranının maya derişimi ve beta glukan verimine etkisini incelemek üzere gerçekleştirilen çalışmada izlenen adımlar aşağıda özetlenmiştir.***   * Ön çoğaltma basamağında farklı mikroorganizma aktarım oranlarında maya çoğalması için 200 mL’lik kaynak sıvı besi ortamı hazırlanarak taze katı besi ortamından öze yardımıyla steril koşullarda katıdan sıvıya mikroorganizma aktarılmıştır. pH 4.8’ e ayarlanmış ve 34.7oC ve 150 rpm’ de 20 saat hava çalkalamalı inkübatörde çoğaltılmıştır. * 2 L’lik ortak besi ortamı 500 mL’ lik çoğalma hacmi içerecek şekilde 4 erlen biyoreaktöre bölünerek Tablo 2’de verilen aktarım oranlarına karşılık gelen hacimlerde 200 mL’lik kaynak mikroorganizmadan sıvıdan sıvıya aktarım yapılmıştır. pH 4.8’ e ayarlanmış ve 34.7oC’ de 150 rpm’de 8 saat hava çalkalamalı inkübatörde maya çoğaltılmıştır (Şekil 3). * Her bir erlen biyoreaktörde çoğalan mayanın derişimi UV spektrofotometrede 580 nm dalga boyunda analizlenmiştir.   ***Maya hücrelerinin besi ortamından ayrılarak beta glukanın alkali-asidik metodla ekstraksiyonu için şu adımlar gerçekleştirilmiştir.***   * 8 saatlik maya çoğalması sonunda besi ortamından maya hücrelerini ayırmak üzere çoğalma ortamı 50 mL’lik falkon tüplerine koyulmuştur. Bu tüpler 5860 rpm’ de, 4 oC’de 15 dakika santrifüj edilmiştir (Şekil 4). Supernatant uzaklaştırılmıştır. * Maya hücrelerinin bulunduğu katı kısmın üzerine 2 mL 2 M NaOH ilave edilerek vortekslenmiş ve 15 dakika ultrasonik banyoda sonikasyon yapılarak maya hücre duvarları parçalanmıştır. * Hücre duvarı parçalanan maya hücreleri 90 oC’deki su banyosunda 1 saat bekletilmiştir. Bir saat sonunda soğuk suya tutularak, 5860 rpm’de 15 dakika santrifüj edilmiştir. Bu işlemde mannoproteinler ayrılmıştır. * Tüpler soğutulduktan sonra çökelek kısımları 1’er mL’lik saf suyla 2 kez yıkanmıştır. Her yıkamadan sonra vortekslenerek 5860 rpm’de 5’er dk santrifüj yedilmiştir. Bu işlemde, suya geçen atıklar uzaklaştırılmıştır. * Çökelek kısımlarına 2’şer mL %3’lük CH3COOH çözeltisi eklenmiştir ve vortekslenmiştir. Burada CH3COOH, hücre duvarının kalıntılarını uzaklaştırır. Daha sonra 85oC’deki su banyosunda 1 saat bekletilmiştir. Böylece, hücre duvarı kalıntılarının tamamen supernatant kısmına geçmesi sağlanmıştır. * Tüpler soğutulmuş ve 5860 rpm’ de 15 dakika santrifüj edilmiştir. Ardından çökelek kısımları saf suyla yıkanarak vortekslenmiş ve 5 dakika 5860 rpm’de santrifüj edilmiştir. Bu işlem iki kere tekrarlanmıştır ve böylece suya geçen tüm hücre duvarı kalıntıları uzaklaştırılmıştır. * Çökelek kısımları ilk önce 0.8’er mL etanolle yıkanarak 5860 rpm’de 5 dakika santrifüj edilmiştir. Etanol ile protein atıkları uzaklaştırılmıştır. Daha sonra 0.8’er mL aseton ile yıkanmıştır ve tekrar 5860 rpm’de 5 dakika santrifüj edilmiştir. Aseton, su çekici özellik gösterir ve örnekteki suyu kurutmak için kullanılmıştır. * Supernatant pipet yardımıyla atılmıştır ve elde edilen β-glukan tartılmıştır.   ***Farklı havalandırma koşullarının maya çoğalmasına ve beta-glukan verimine etkisini incelemek üzere yapılan çalışmalarda izlenen adımlar aşağıda özetlenmiştir.***   * Tablo 3’te verilen 4 farklı havalandırma koşulunda maya çoğalması, 500 mL’lik çoğalma ortamı içeren erlen biyoreaktörlerde gerçekleştirilmiştir. Hacimce %5 (25 mL) mikrorganizma aktarımı yapılıp pH 4.8 ve 34.7˚C’de 150 rpm’de hava çalkalamalı inkübatörde 8 saat boyunca çoğaltılmıştır. * ***Bu çalışmada 4 farklı havalandırma koşulu şu şekilde sağlanmıştır.***  1. 1. Erlen biyoreaktörde; aktarım yapılmadan önce besi ortamındaki çözünmüş oksijen, azot ile süpürülmüş ve 8 saat boyunca hava ile teması kesilmiş, çoğalma boyunca hava beslemesi yapılmamıştır. 2. 2. Erlen biyoreaktörde; mikroorganizma aktarımı yapıldıktan sonra biyoreaktör mikrobiyolojik filtre ile kapatılmış, çoğalma boyunca hava beslemesi yapılmamıştır. 3. 3. Erlen biyoreaktörde; çoğalmanın ilk 4 saati boyunca hava beslemesi yapılmamış, 4. saatten itibaren 1 vvm akış hızında hava beslemesi sağlanmıştır. 4. 4. Erlen biyoreaktörde; mikroorganizma aktarımı yapıldıktan sonra 8 saatlik çoğalması boyunca 1 vvm akış hızında hava beslemesi yapılmıştır (Şekil 5).  * 8. saatlik mikroorganizma çoğalmasının sonunda, her bir erlen biyoreaktörden 50 mL’lik örnekler falkon tüplerine alınmış ve 5860 rpm’de +4ºC’de 15 dakika boyunca soğutmalı santrifüjde santrifüjlenmiştir. * Tüplerdeki sıvı kısım atılmış ve maya hücrelerini içeren çökelek kısmı beta glukan ekstraksiyonu için ayrılmıştır. * 4 Farklı havalandırma koşulunda maya çoğalması sonucu elde edilen maya derişimleri UV spektrofotometrede analizlenmiş ve maya hücreleri besi ortamlarından ayrılarak yukarıda açıklandığı şekilde beta glukan ekstraksiyonu yapılmış ve elde edilen beta glukanların tartımları alınmıştır.   **Tablo 1.**  Katı ve sıvı besi ortamları bileşimleri   |  |  |  | | --- | --- | --- | | **Madde** | **Katı Besi Ortamı**  **(g/L)** | **Sıvı Besi Ortamı**  **(g/L)** | | Glikoz | 20 | 20 | | Maya Özütü | 6 | 6 | | K2HPO4 | 3 | 3 | | (NH4)SO4 | 3.35 | 3.35 | | NaH2PO4 | 3.76 | 3.76 | | MgSO4.7H2O | 0.52 | 0.52 | | CaCl2.4H2O | 0.017 | 0.017 | | Agar | 20 | ---- |   C:\Users\Fatoş\Desktop\beta glukan\rapor ve sunum SON\havva hocanın düzelttiği\DSC_0009.jpg  **Şekil 1.**  Katı besi ortamı  C:\Users\Fatoş\Desktop\beta glukan\rapor ve sunum SON\havva hocanın düzelttiği\DSC_0011.jpg  **Şekil 2.** Katı besi ortamında mikroorganizma çoğalması  **Tablo 2.** Aktarım oranı ve aktarılan maya hacmi   |  |  | | --- | --- | | Aktarım Oranı (v/v) | Aktarılan maya hacmi (mL) | | %1 | 5 | | %5 | 25 | | %10 | 50 | | %20 | 100 |   C:\Users\Fatoş\Desktop\beta glukan\rapor ve sunum SON\fotoğraflar\287.jpg  **Şekil 3.** Sıvı besi ortamında maya çoğalması  C:\Users\Fatoş\Desktop\beta glukan\rapor ve sunum SON\fotoğraflar\356.jpg  **Şekil 4.** Santrifüjlenen maya hücreleri  **Tablo 3.** Maya çoğaltılan 4 farklı havalandırma koşulu   |  |  | | --- | --- | | No | Havalandırma Koşulu | | I | Azot geçirilmiş, hava beslemesiz | | II | Hava beslemesiz | | III | 4. saatt’ten itibaren 1 vvm hava beslemeli | | IV | Baştan itibaren 1 vvm hava beslemeli |   C:\Users\Fatoş\Desktop\beta glukan\rapor ve sunum SON\fotoğraflar\351çşçş.jpg  **I**  **II**  **III**  **IV**  **Şekil 5.** 4 Farklı havalandırma koşulunda maya çoğalması  **I)** Azot geçirilmiş hava beslemesiz **II)** Hava beslemesiz **III)** 4. saatten itibaren 1 vvm hava beslemeli, **IV)** Baştan itibaren 1 vvm hava beslemeli   1. **Analiz ve Bulgular** 2. **Ön çoğaltmada aktarım oranının mikroorganizma çoğalması ve beta glukan verimine etkisi**   Son ölçek büyütme basamağı olan 500 mL’lik erlen biyoreaktörlere farklı aktarım oranlarında (%1, %5, %10 ve %20) laminer akışlı kabinde steril koşullarda aktarıldıktan sonra inkübatörde pH 4.8, 34.7oC ve 150 rpm koşullarında mikroorganizma çoğaltılmıştır. Biyotepkime başında (t=0 h) ve sonunda (t=8 h) her bir erlen biyoreaktörden 0.5 mL örnek alınarak UV spektrofotometrede 580 nm’de absorbansları ölçülmüştür. Daha önce hazırlanan kalibrasyon doğrusu yardımıyla (Şekil 10) maya derişimleri hesaplanmıştır. Tablo 4’te biyotepkime başındaki ve sonundaki maya derişimleri verilmiştir. Farklı aktarım oranlarının maya derişimindeki değişim (ΔCx) üzerine etkisi Şekil 6’ da verilmiştir. Tablo 4 ve Şekil 6’dan da görüleceği üzere 8 saatlik maya çoğalması sonunda elde edilen maya derişimlerinin ve maya derişimindeki değişimin, %5, %10 ve %20 aktarım oranları için birbirine yakın olduğu ve en yüksek değerlerinin %1’lik aktarım oranında elde edildiği görülmüştür.  **Tablo 4.** Biyotepkime başındaki ve sonundaki mikroorganizma derişimlerinin aktarım oranı ile değişimi   |  |  |  |  | | --- | --- | --- | --- | | Aktarım oranı  (v/v) | Cx0  (g k.h./L) | Cx8  (g k.h./L) | ΔCx  (g k.h./L) | | %1 | 0.0529 | 5.0964 | **5.044** | | %5 | 0.2268 | 4.4159 | 4.189 | | %10 | 0.4688 | 4.4083 | 3.939 | | %20 | 0.8015 | 4.3629 | 3.561 |   **Şekil 6.** Aktarım oranı ile çoğalan maya derişiminin değişimi  Ancak aktarım oranının en uygun değerini belirlemek üzere tek gösterge çoğalma süresi sonundaki mikroorganizma derişimi (Cx8) ya da mikroorganizma derişimindeki değişim (ΔCx) olmadığından, her bir aktarım oranı ile çoğaltılan maya hücrelerinin duvarından beta glukan ekstraksiyonu gerçekleştirilmiştir. Tablo 5’de her bir aktarım oranında 500 mL’lik erlen biyoraektörlerde çoğaltılan maya hücrelerinin kuru kütlesi (g k.h.), ekstrakte edilen beta glukan kütlesi (g) ve kuru maya kütlesi başına ekstrakte edilen beta glukan kütlesi olarak tanımlanan beta glukan verimi değerleri verilmiştir. Şekil 7’de ise ön çoğaltma adımlarında 4 farklı aktarım oranında çoğaltılan mayalardan ekstrakte edilen beta glukan verimi değerlerinin aktarım oranı ile değişimi sunulmuştur.  **Tablo 5.** Aktarım oranının beta glukan verimine etkisi   |  |  |  |  | | --- | --- | --- | --- | | Aktarım Oranı  (v/v) | mmikroorganizma (g k.h.) | mbeta glukan  (g) | η  (g beta glukan/g k.h.) | | %1 | 2.548 | 0.48 | 0.188 | | %5 | 2.208 | 1.75 | **0.793** | | %10 | 2.204 | 1.03 | 0.467 | | %20 | 2.181 | 0.71 | 0.325 |   **Şekil 7.** Aktarım oranının beta-glukan verimine etkisi   1. **Havalandırma koşulunun mikroorganizma çoğalması ve beta-glukan verimine etkisi**   *S. cerevisiae* mayasının farklı çoğalma koşullarında beta glukan içeriğinin değiştiğinden hareketle çoğalma ortamının farklı havalandırılması durumunda, mayanın beta glukan içeriğinin nasıl değiştiğini incelemek amacıyla 4 farklı havalandırma koşulunda mikroorganizma çoğalması gerçekleştirilmiştir. Bu deney seti deney sonuçlarına güvenilirliğinin arttırılması için üç tekrarlı olarak farklı günlerde yapılmıştır. Mikroorganizma aktarımından hemen sonra ve deney bitiminde alınan örneklerin UV spektrofotometrede absorbans değerleri ölçülmüştür. Kalibrasyon grafiği kullanılarak deney başlangıcındaki ve deney bitimindeki mikroorganizma derişimleri hesaplanmış ve Tablo 6’da verilmiştir. Dört farklı havalandırma koşulunda üç tekrarlı olarak gerçekleştirilen, mikroorganizma çoğalması sonucunda her bir erlen biyoreaktörde, mikroorganizma derişimindeki değişimin havalandırma koşuluyla değişimi Şekil 8’de verilmiştir.  **Tablo 6.** Deney başındaki ve 4 farklı havalandırma koşulunda çoğaltılan mayaların deney sonundaki mikroorganizma derişimleri ile mikroorganizma derişimindeki değişimleri   |  |  |  |  |  | | --- | --- | --- | --- | --- | | **Havalandırma**  **Koşulu** | **Cx0**  **(g k.h./L)** | **Cx8**  **(g k.h./L)** | **ΔCx**  **(g k.h./L)** | **ΔCx, ort**  **(g k.h./L)** | | **I** | 0.786  0.399  0.417 | 4.771  3.153  4.368 | 3.985  2.754  3.951 | 3.563 | | **II** | 0.537  0.356  0.638 | 4.983  3.325  3.871 | 4.446  2.969  3.233 | 3.549 | | **III** | 0.514  0.393  0.454 | **5.384**  **3.589**  **4.258** | **4.870**  **3.196**  **3.804** | **3.957** | | **IV** | 0.560  0.319  0.436 | 5.248  3.693  4.043 | 4.688  3.374  3.607 | 3.890 |   **Şekil 8.** 4 farklı havalandırma koşulunda çoğaltılan mayaların mikroorganizma derişimindeki değişimin (ΔCx) havalandırma koşuluyla değişimi  Dört farklı havalandırma koşulunda **( I.** Azot geçirilmiş hava beslemesiz **II.** Hava beslemesiz **III.**  4. saatten itibaren 1 vvm hava beslemeli, **IV.** Baştan itibaren 1 vvm hava beslemeli) 500 mL’lik erlen biyoreaktörde maya çoğalması sonucu elde edilen çoğalma ortamından +4oC’de 5860 rpm’de santrifüjle ayrılan katıdaki maya hücrelerinden “Materyal ve Yöntem”de sunulan prosedüre göre alkali-asidik ekstraksiyon ile beta glukan elde edilmiştir. Üç tekrarlı olarak 4 farklı havalandırma koşulunda gerçekleştirilen çalışmalarda elde edilen kuru maya kütlesi, beta glukan kütlesi ve kuru maya kütlesi başına ekstrakte edilen beta glukan kütlesi olarak tanımlanan beta glukan verimi değerleri Tablo 7’de sunulmuştur. Havalandırma koşulunun beta glukan verimine etkisini değerlendirebilmek üzere sonuçların aritmetik ortalaması Tablo 8’de yer almaktadır. Farklı havalandırma koşullarında elde edilen beta glukan verimleri değerleri birbirine oldukça yakın olmakla birlikte en yüksek beta glukan verimi, son ölçek büyütme basamağı olan 500 mL’lik erlen biyoreaktöre mikroorganizma aktarımı sonrası besi ortamındaki oksijenin azot geçirilmek suretiyle uzaklaştırıldığı ve çoğalma boyunca da hava beslemesi yapılmayan koşulda (**Havalandırma Koşulu: I )** elde edilmiştir (Şekil 9). Bu sonuç en yüksek maya çoğalmasının elde edildiği havalandırma koşulu ile en yüksek beta glukan veriminin elde edildiği havalandırma koşulunun açıkça farklı olduğunu göstermektedir. Maya çoğalmasını maksimize etmek üzere III. Havalandırma koşulunda (4. st’ten itibaren hava beslemesi) işletim gerekirken, beta glukan verimini maksimize etmek üzere I. Havalandırma koşulunda işletimin yapılması gerektiği görülmektedir.  **Tablo 7.** 4 Farklı havalandırma koşulunda gerçekleştirilen deneylerde elde edilen beta glukan verimleri   |  |  |  |  | | --- | --- | --- | --- | | **Havalandırma**  **Koşulu** | **mmikroorganizma (g k.h.)** | **mbeta glukan**  **(g)** | **η**  **(g beta-glukan/g k.h.)** | | **I** | 4.771 | 0.786 | 0.661 | | 3.153 | 0.399 | 0.589 | | 4.368 | 0.417 | 0.847 | | **II** | 4.983 | 0.537 | 0.651 | | 3.325 | 0.356 | 0.579 | | 3.871 | 0.638 | 0.815 | | **III** | 5.384 | 0.514 | 0.687 | | 3.589 | 0.393 | 0.452 | | 4.258 | 0.454 | 0.845 | | **IV** | 5.248 | 0.560 | 0.683 | | 3.693 | 0.319 | 0.512 | | 4.043 | 0.436 | 0.803 |   **Tablo 8.** 4 Farklı havalandırma koşulunda gerçekleştirilen üç tekrarlı deneyde elde edilen ortalama beta glukan verimleri   |  |  |  |  | | --- | --- | --- | --- | | **Havalandırma Koşulu** | **mmikroorganizma (g k.h.)** | **mbeta glukan**  **(g)** | **η**  **(g beta-glukan/g k.h.)** | | **I** | 2.049 | 1.452 | **0.699** | | **II** | 2.030 | 1.388 | 0.682 | | **III** | 2.205 | 1.486 | 0.661 | | **IV** | 2.164 | 1.453 | 0.666 |   **Şekil 9.** Havalandırma koşulunun beta glukan verimine etkisi   1. **Sonuç ve Öneriler**   Proje kapsamında yapılan çalışmaların birinci aşamasında *Saccharomyces cerevisiae* mayası ön çoğaltma basamaklarında 4 farklı aktarım oranında (%1, %5, %10 ve %20) çoğaltılmış ve besi ortamından santrifüjle ayrılan maya hücrelerine alkali-asidik ekstraksiyon uygulanarak maya hücre duvarından beta glukan elde edilmiştir. Ön çoğaltma basamaklarında hacimce %1’lik aktarım oranında maya çoğaltıldığında son ölçek büyütme adımında elde edilen maya derişiminin en yüksek olmasına karşın (5.0964 g k.h./L), ön çoğaltma basamaklarında %5’lik aktarım oranında maya çoğalması sonucu elde edilen beta glukan veriminin en yüksek olduğu (0.793 g beta glukan/g k.h.) belirlenmiştir. Son ölçek büyütme basamağı olan 500 mL’lik erlen biyoreaktörlere aktarılan maya hacimleri, %1 aktarım oranında 5 mL, %5 aktarım oranında 25 mL, %10 aktarım oranında 50 mL ve %20 aktarım oranında 100 mL’dir. En iyi maya çoğalmasının %1 aktarım oranında olması, aktarılan maya hacminin diğer aktarım oranlarına göre daha az olması ve bu sonucun mayaların çoğalma için daha fazla besin kullanabilmesinden kaynaklandığı şeklinde açıklanabilir.  İkinci aşamada gerçekleştirilen çalışmalarda ise ilk aşamada beta glukan verimini maksimize eden ön çoğaltma basamağındaki aktarım oranında (%5) çalışılarak, son çoğaltma basamağında 4 farklı havalandırma koşulunda maya çoğaltılmıştır. Sekiz saatlik maya çoğalması sonucunda erlen biyoreaktörlerde en yüksek maya derişimine III. Havalandırma Koşulunda ulaşıldığı belirlenmiştir. Bu koşul son ölçek büyütme basamağı olan 500 mL’lik erlen biyoreaktöre mikroorganizma aktarımından 4. saate kadar herhangi bir hava beslesinin yapılmadığı ancak 4. saatten itibaren 1 vvm akış hızında hava beslendiği durumdur. Yani kısmi havalanadırma ile maksimum maya çoğalması sağlanmıştır. Ancak asıl amaç beta glukan verimini maksimize etmek olduğundan beta glukan veriminin maksimum elde edildiği koşul I. Havalandırma Koşulu olarak belirlenmiştir. Bu ise son ölçek büyütme basamağında mikroorganizma aktarımını takiben azotla besi ortamındaki oksijenin uzaklaştırıldığı ve çoğalma boyunca hava beslemesinin yapılmadığı diğer ifadeyle havalandırmasız koşuldur. Bu durum ön çoğaltma basamaklarında mayanın havalı koşullarda çoğaltılmasının ardından son ölçek büyütme adımında havasız koşullarda çoğalmaya maruz bırakılmasıyla yaratılan stresin maya hücre duvarında beta glukan içeriğini arttırdığı şeklinde değerlendirilmiştir.  Sonuç olarak, yüksek verimde beta glukan elde etmek üzere *S. cerevisiae* mayasının ön çoğaltma basamaklerında %5 aktarım oranında ve son ölçek büyütme basamağında havalandırmasız koşulda çoğaltılması gerektiği belirlenmiştir.  Bu proje kapsamında elde edilen sonuçlara göre mikroorganizmanın çoğalma koşullarında yaratılacak strese karşı hücrelerin cevabı mikroorganizmaların kullanıldığı üretim proseslerinin verimini arttırmaya yol açabilir. Sonraki çalışmalarda farklı stres koşulları altında maya çoğalması sonucu beta glukan veriminin nasıl değişeceğinin incelenmesi önerilmektedir.   1. **Geleceğe İlişkin Öngörülen Katkılar**   Antibiyotiklerin kullanımının hem insan hem de hayvan sağlığını koruma amacıyla kullanımının giderek yaygınlaşması nedeniyle ortaya çıkan hem sağlık hem de ekonomik darboğazların aşılabilmesi amacıyla bağışıklık sistemini güçlendirmeye yönelik ürünlerin kullanımı günümüzde olduğu kadar gelecekte de önemli olacaktır. Beta glukan da bağışıklık sistemini destekleyici beslenme desteği olarak kullanılan ürünler arasında önemli bir yer tutmaktadır. Bu açıdan proje kapsamında yapılan çalışmalarla elde edilen sonuçlar gelecekte mayadan beta glukan üretimine yönelik izlenmesi gereken verim arttırıcı çalışmalara ışık tutacak niteliktedir. Maya çoğalması basamağına yönelik farklı işletim tasarımlarının beta glukan verimini arttırıcı sonuçlar ortaya koyması bakımından sonraki çalışmaların bu işletme koşullarının proje kapsamında ele alınmayan işletme koşullarının da incelenmesi için yapılması, beta glukan verimini arttırarak, maliyeti düşürecek olması beklenmektedir.   1. **Sağlanan Altyapı Olanakları ile Varsa Gerçekleştirilen Projeler**   **17H0443006** numaralı **Hızlandırılmış Proje** kapsamında sağlanan ***Soğutmalı Santrifüj*** ile özellikle yem endüstrinin ihtiyaç duyduğu beta glukan içeriğinin analizi çalışmaları yapılması planlanmaktadır. Konuyla ilgili Manisa Salihli Organize Sanayii Bölgesi’nde faaliyet gösteren FARMAVET INTERNATIONAL firmasının talebi üzerine yem katkı maddesi olarak kullanılan maya beta glukanının analizi çalışmasının gerçekleştirilmesi planlanmaktadır. Ancak analizler, akredite olmayan laboratuvarımızda gerçekleştirildiğinde analiz sonuçlarının firma tarafından kabulünün mümkün olup olmayacağı değerlendirilmektedir. Ayrıca üniversitemiz Veterinerlik Fakültesinde Hayvan Besleme konusunda çalışmalar yürüten Prof.Dr. Sakine YALÇIN ile yapılan ön görüşme neticesinde ortak çalışma yapılması planlanmıştır.   1. **Sağlanan Altyapı Olanaklarının Varsa Bilim/Hizmet ve Eğitim Alanlarındaki Katkıları**   **17H0443006** numaralı **Hızlandırılmış Proje** kapsamında gerçekleştirilen çalışmalar (besi ortamı hazırlığı ve sterilizasyonu, mikroorganizma aktarımı, maya derişimi analizi vb.) başlıca Kimya Mühendisliği Bölümü Proses Kontrol Laboratuvarında bulunan makine-teçhizat ile cam ve kimyasal malzemeler kullanılarak gerçekleştirilmiştir.Bu proje kapsamında sağlanan ***Soğutmalı Santrifüj*** ile maya hücrelerinin besi ortamından ayrılması ve maya hücre duvarından beta glukanın ekstraksiyonu gerçekleştirilmiştir.  Proje kapsamında bu cihazın laboratuvar altyapısına kazandırılması sayesinde soğutmalı santrifüje dayalı çalışmalar yürütecek olan son sınıf lisans öğrencilerinin Araştırma Teknikleri dersi kapsamında, lisansüstü öğrencilerin tez çalışmalarında ve yeni projelerde aktif olarak kullanılacaktır. Dahası bu cihazın özellikle biyoteknolojik çalışmaların “olmazsa olmazı” oluşu nedeniyle ihtiyaç duyan tüm akademik personel ve öğrencilerin kullanımına da sunulması kamu kaynaklarının tasarruflu kullanımına fayda sağlayacaktır.   1. **Kaynaklar**   **[1]** Liu X., Wang Q., Cui S.V. and Liu H., 2006. A new isolation method of β-D-glucans from spent yeast *Saccharomyces cerevisiae*, Food Hydrocolloids, 22, 239–247.  **[2]** Mason R., 2011. What is Beta Glucan? Safe Goods Publishing, USA.  **[3]** Bacic A., Fincher G., Stone B., 2009. Chemistry, Biochemistry and Biology of 1-3 Beta Glucans and Related Polysaccharides, Academic Press., USA.  **[4]** Uscanga A.B., François J. M., 2003. A study of the yeast cell wall composition and structure in response to growth conditions and mode of cultivation, Letters in Applied Microbiology, 37, 268-274.  **[5]** Ertunç S., Sabuncu N., 2015. Beta (β)- glukan içeriğinin arttırılması için *S.cerevisiae* üretilen bir biyoreaktörde çoğalma koşullarının incelenmesi ve pH kontrolü, 13L434005 Nolu Ankara Üniversitesi BAP Sonuç Raporu.  **[6]** Coşkun T., 2005. Fonksiyonel Besinlerin Sağlığımız Üzerine Etkileri, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi, 48, 69-84.  **[7]** Kim K. S., Yun H. S., 2006. Production of soluble β-glucan from the cell wall of *Saccharomyces cerevisiae*, Enzyme and Microbial Technology, 39, 496-500.  **[8]** Liu X., Wang Q., Cui S.V. and Liu H., 2006. A new isolation method of β-D-glucans from spent yeast *Saccharomyces cerevisiae*, Food Hydrocolloids, 22, 239–247.  **[9]** Freimund S., Sauter M., Kappeli O. and Dutler H., 2003. A new non-degrading isolation process for 1.3- β-D-glucan of high purity from baker’s yeast *Saccharomyces cerevisiae,* Carbohydrate Polymers, 54, 159–171.  **[10]** Schimel J., Balser T.C., Wallenstein M., 2007. Microbial stress-response physiology and its implications for ecosystem function, Ecological Society of America, 88(6), 1386-1394.  **[11]** Chul C., Wackerbauer K., Kang S. A., 2007. Influence of aeration during propagation of pitching yeast on fermentation and beer flavor, J. Microbiology and Biotechnology, 17(2), 297-304.  **[12]** Demirtaş M.U., Kolhatkar A., Kilbane J.J., 2003. Effect of Aeration and Agitation on Growth Rate of *Thermus thermophilus* in Batch Mode, Journal of Bioscience and Bioengineering, 95(2), 113-l 17.  **[13]** Mager W.H., Siderius M., 2002. Novel insights into the osmotic stress response of yeast, FEMS Yeast Research, 2, 251-257.  **[14]** Gibson B.R., Lawrence S.J., Leclaire J.P.R., Powell C.D., Smart K.A., 2007. Yeast responses to stresses associated with industrial brewery handling, FEMS Microbiol. Review, 31, 535–569.  **[15]** Shokri H., Asadi F. and Khosravi A., 2009. Isolation of β-glucan from the cell wall of *Saccharomyces cerevisiae*, Natural Product Research, 22(5), 414–421.  **[16]** Yılmaz C., 2010. *Saccharomyces cerevisiae*’den glukan eldesi, Yüksek Lisans Tezi, Kocaeli Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kocaeli.   1. **Ekler** 2. **Mali Bilanço ve Açıklamaları**  |  |  |  |  |  |  | | --- | --- | --- | --- | --- | --- | | **Bütçe Kodu** | **Ödenek Adı** | **İşin Adı. Tanımı.**  **Niteliği** | **Başlangıç**  **Ödeneği (TL)** | **Harcanan**  **Ödenek (TL)** | **Kalan** | | **03.7** | **Menkul Mal. Gayri Maddi Hak Alım. Bakım ve Onarım Gid.** | **1 Adet Soğutmalı Santrifüj** | **20.000.00** | **19.706.00** | **294.00** |  1. **Makine ve Teçhizatın Konumu ve İlerideki Kullanımına Dair Açıklamalar**   **17H0443006** kod numaralı **Hızlandırılmış Proje** kapsamında temin edilen ***1 adet Soğutmalı Santrifüj (HERMLE Z 326 K)*** Kimya Mühendisliği Bölümü Proses Kontrol Laboratuvarı’nda bulunmakta ve kullanılmaktadır. Cihaz hem aynı laboratuvarda yürütülecek lisans ve lisansüstü düzeydeki biyoteknoloji konulu çalışmalarda kullanılmaya devam edecek hem de kullanımının mümkün olabileceği diğer bölümlerdeki araştırmacıların imkanına randevulaşılarak sunulabilecektir.   1. **Teknik ve Bilimsel Ayrıntılar**  **c1.** **Mayalarda Ölçek Büyütme ve Ön Çoğaltma Prosedürü** Mayalarda periyodik olarak katıdan katıya aktarım, ölçek büyütme ve ön çoğaltma prosedürü Şekil 9’da şematize edilerek gösterilmiştir.    Maya çoğaltılmış katı besi ortamından, boş taze katı besi ortamına bir öze yardımı ile zikzaklar çizilerek maya aktarılır ve inkübatörde uygun sıcaklıkta çoğaltılır.    V hacmindeki sıvı yerine, katı besi ortamından bir öze ile alınan maya aktarılır. Hava çalkalamalı inkübatörde uygun sıcaklık ve çalkalama koşullarında çoğaltılır.  Çoğaltılan mayadan Vm hacminde alınarak Vr hacmindeki biyoreaktöre aktarım yapılır. Hava çalkalamalı inkübatörde uygun sıcaklık ve çalkalama koşullarında çoğaltılır.  **Aktarım oranı: %Vm/Vr (v/v)**  **Şekil 9.** Ölçek büyütme ve maya aktarımının şematik gösterimi   **c2.** **Maya Derişiminin Belirlenmesi için Kullanılan Kalibrasyon Grafiği**  **Şekil 10**. Mikroorganizma derişimi için kalibrasyon doğrusu   1. **Sunumlar (bildiriler ve teknik raporlar)**   Proje kapsamında elde edilen sonuçlar Yüksek Lisans öğrencisi Fatoş KOÇAK’ın 2018-19 Güz Dönemi içinde yapacağı Tez Savunması seminerinde sunulacaktır.   1. **Yayınlar (hakemli bilimsel dergiler) ve tezler**   Proje kapsamında elde edilen sonuçlar Yüksek Lisans öğrencisi Fatoş KOÇAK’ın Yüksek Lisnas Tez’inde yer alacak ve Tez Savunması’nın ardından kabul edilen tezinde yaptığı diğer çalışmaları da içerecek şekilde SCI indeksli dergilerden birinde yayınlanacaktır. |