



**T.C.  
YALOVA ÜNİVERSİTESİ  
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ**

**DİSİPLİNLER ARASI SU ÜRÜNLERİ ANABİLİM DALI**

**FARKLI MİKROORGANİZMALAR İLE FERMANTASYONUN  
*Codium fragile*'nin (Suringar) Hariot, 1889 BESİN KOMPOZİSYONU VE  
ANTİOKSİDAN AKTİVİTESİ ÜZERİNDE OLAN ETKİLERİ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**ELİF ŞAHİN**

**DANIŞMAN: PROF. DR. BETÜL GÜROY**

**YALOVA  
ŞUBAT 2023**





T.C.  
YALOVA ÜNİVERSİTESİ  
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

DİSİPLİNLER ARASI SU ÜRÜNLERİ ANABİLİM DALI

FARKLI MİKROORGANİZMALAR İLE FERMANTASYONUNUN  
*Codium fragile*'nin (Suringar) Hariot, 1889 BESİN KOMPOZİSYONU VE  
ANTİOKSİDAN AKTİVİTESİ ÜZERİNDE OLAN ETKİLERİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ELİF ŞAHİN  
195117007

DANIŞMAN: PROF. DR. BETÜL GÜROY

YALOVA  
ŞUBAT 2023



## ETİK BEYAN

Yalova Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım “**Farklı Mikroorganizmalar ile Fermantasyonunun *Codium fragile*'nin (Suringar) Hariot, 1889 Besin Kompozisyonu ve Antioksidan Aktivitesi Üzerinde Olan Etkileri**” başlıklı bu tez çalışmasında; tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu, tez çalışmasında yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi, kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı, bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu bildirir, aksinin tespiti halinde doğabilecek her türlü hukuki sorumluluğu kabul ettiğimi taahhüt ve beyan ederim.

ELİF ŞAHİN



## ÖNSÖZ

Yüksek lisans eğitimim boyunca yardımlarını esirgemeyen, akademik anlamda bana her zaman destek olan ve doğru yolu gösteren danışmanım Sayın **Prof. Dr. Betül GÜROY**'a, akademik kariyerimde bana her zaman destek olan Sayın **Prof. Dr. Derya GÜROY**'a, laboratuvar uygulamalarında kıymetli katkıları ve her konuda desteği için Sayın **Dr. Öğr. Üyesi Serhan MANTOĞLU**'na, analizlerde yardımcı olan Sayın **Doç. Dr. Sibel Bayıl OĞUZKAN**'a, her zaman yanımda olan ve desteğini esirgemeyen **Öğr. Gör. İzzet ŞAHİN**'e ve aileme çok teşekkür ederim.

Şubat - 2023

ELİF ŞAHİN





## İÇİNDEKİLER

|                                                                      |      |
|----------------------------------------------------------------------|------|
| ETİK BEYAN .....                                                     | i    |
| ÖNSÖZ .....                                                          | iii  |
| İÇİNDEKİLER .....                                                    | v    |
| SİMGELER ve KISALTMALAR LİSTESİ .....                                | ix   |
| ŞEKİLLER LİSTESİ .....                                               | xi   |
| TABLO LİSTESİ .....                                                  | xiii |
| ÖZET .....                                                           | xv   |
| ABSTRACT .....                                                       | xvii |
| 1. GİRİŞ .....                                                       | 1    |
| 1.1. Fermentasyonun Tarihçesi ve Aşamaları .....                     | 5    |
| 1.2. Mikroorganizmaların Fermentasyon İşleminde Önemi .....          | 8    |
| 2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR .....                                           | 10   |
| 2.1. Tezin Amacı .....                                               | 12   |
| 3. MATERYAL VE METOT .....                                           | 14   |
| 3.1. Materyal .....                                                  | 14   |
| 3.1.1. <i>Codifum fragile</i> 'nin özellikleri .....                 | 14   |
| 3.2. Mayaların Genel Özellikleri .....                               | 17   |
| 3.2.1. <i>Trichoderma harzianum</i> 'un özellikleri .....            | 20   |
| 3.2.2. <i>Saccharomyces cerevisiae</i> 'nin özellikleri .....        | 20   |
| 3.3. Bakterilerin Genel Özellikleri .....                            | 22   |
| 3.3.1. <i>Bacillus subtilis</i> 'in özellikleri .....                | 22   |
| 3.3.2. <i>Lactobacillus delbrueckii</i> 'nin özellikleri .....       | 24   |
| 3.4. Örneklemeye Mevkiinin Coğrafik ve Oşinografik Özellikleri ..... | 25   |
| 3.5. Metot .....                                                     | 25   |
| 3.5.1. Örneklerin toplanması ve analiz hazırlık aşamaları .....      | 25   |
| 3.5.1.1. Örneklerin toplanması .....                                 | 25   |
| 3.5.1.2. Analiz öncesi hazırlık aşamaları .....                      | 26   |
| 3.5.2. Fermente alg yem katkı maddesi ve hazırlama yöntemi .....     | 27   |
| 3.5.2.1. Deneme dizaynı .....                                        | 30   |
| 3.6. Besin Kompozisyonu Analizleri .....                             | 32   |
| 3.6.1. Nem analizi .....                                             | 32   |
| 3.6.2. Protein analizi .....                                         | 33   |



|                                                          |    |
|----------------------------------------------------------|----|
| 3.6.3. Yağ analizi .....                                 | 34 |
| 3.6.4. Kül analizi.....                                  | 35 |
| 3.6.5. Selüloz analizi.....                              | 36 |
| 3.6.6. Antioksidan aktivitesi .....                      | 37 |
| 3.7. Deniz Suyu Fiziko-Kimyasal Analizleri .....         | 38 |
| 3.7.1. Nitrit.....                                       | 38 |
| 3.7.2. Amonyum .....                                     | 39 |
| 3.7.3. Fosfat .....                                      | 40 |
| 3.7.4. Nitrat .....                                      | 41 |
| 3.8. İstatistiksel Analiz.....                           | 41 |
| 4. BULGULAR VE TARTIŞMA .....                            | 42 |
| 4.1. Bulgular.....                                       | 42 |
| 4.1.1. Besin kompozisyonu analiz bulguları.....          | 42 |
| 4.1.2. Deniz suyu fiziko-kimyasal analiz bulguları ..... | 50 |
| 4.2. Tartışma.....                                       | 51 |
| 5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER .....                            | 60 |
| KAYNAKÇA.....                                            | 63 |
| ÖZGEÇMİŞ .....                                           | 76 |
| TEZDEN TÜRETİLEN YAYIN VE ESERLER.....                   | 76 |



## **SİMGELER ve KISALTMALAR LİSTESİ**

### **SİMGELER**

|                                |                    |
|--------------------------------|--------------------|
| °C                             | : Santigrat        |
| CO <sub>2</sub>                | : Karbondioksit    |
| °F                             | : Fahrenheit       |
| g                              | : Gram             |
| gm <sup>-2</sup>               | : Gram/ metrekaare |
| HCl                            | : Hidroklorik asit |
| H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> | : Sülfürik asit    |
| m <sup>3</sup>                 | : Metreküp         |
| mg L <sup>-1</sup>             | : Miligram / litre |
| mL                             | : Mililitre        |
| mmol                           | : Litrede milimol  |
| N                              | : Azot             |
| NO <sub>2</sub> -N             | : Nitrit           |
| NO <sub>3</sub> -N             | : Nitrat           |
| NH <sub>4</sub> -N             | : Amonyum          |
| NaOH                           | : Sodyum Hidroksit |
| P                              | : Fosfor           |
| PO <sub>4</sub> -P             | : Fosfat           |
| %                              | : Yüzde            |

### **KISALTMALAR**

|      |                                                   |
|------|---------------------------------------------------|
| FAO  | : Gıda ve Tarım Örgütü                            |
| IMTA | : Entegre Multitrofik Su Ürünleri Yetiştiriciliği |
| kg   | : Kilogram                                        |
| km   | : Kilometre                                       |
| M.Ö  | : Milattan önce                                   |
| psu  | : Tuzluluk                                        |
| yy   | : Yüzyıl                                          |



## ŞEKİLLER LİSTESİ

|                                                                               |    |
|-------------------------------------------------------------------------------|----|
| Şekil 3. 1. <i>Codium fragile</i> .....                                       | 15 |
| Şekil 3. 2. Gemlik Körfezi Armutlu Mevkii .....                               | 25 |
| Şekil 3. 3. <i>Codium fragile</i> ve deniz suyu numunesi alımı .....          | 26 |
| Şekil 3. 4. Yaş <i>Codium fragile</i> kurutma aşaması .....                   | 27 |
| Şekil 3. 5. Fermantasyon numuneleri.....                                      | 28 |
| Şekil 3. 6. Fermantasyon düzeneği .....                                       | 28 |
| Şekil 3. 7. Örneklerin kurutulması ve un haline gelişi.....                   | 30 |
| Şekil 3. 8. <i>Codium fragile</i> tartım aşaması ve alg unu .....             | 32 |
| Şekil 3. 9. Yaş yakma ünitesi, distilasyon aşaması ve titrasyon aşaması ..... | 34 |
| Şekil 3. 10. Yağ analiz aşamaları .....                                       | 35 |
| Şekil 3. 11. Kül analiz aşamaları .....                                       | 36 |
| Şekil 3. 12. Nitrit analiz prosedürü .....                                    | 39 |
| Şekil 3. 13. Amonyum analiz prosedürü.....                                    | 40 |
| Şekil 3. 14. Fosfat analiz prosedürü .....                                    | 40 |
| Şekil 3. 15. Nitrat analiz prosedürü.....                                     | 41 |
| Şekil 3. 16. Fermentasyon uygulamasının kuru madde içeriğine etkisi.....      | 44 |
| Şekil 3. 17. Fermentasyon uygulamasının protein içeriğine etkisi .....        | 45 |
| Şekil 3. 18. Fermentasyon uygulamasının yağ içeriğine etkisi.....             | 46 |
| Şekil 3. 19. Fermentasyon uygulamasının kül içeriğine etkisi.....             | 47 |
| Şekil 3. 20. Fermentasyon uygulamasının antioksidan kapasitesine etkisi.....  | 47 |
| Şekil 3. 21. Fermentasyon uygulamasının selüloz içeriğine etkisi .....        | 48 |
| Şekil 3. 22. Fermentasyon uygulamasının oksidan kapasitesine etkisi.....      | 49 |
| Şekil 3. 23. Gruplar arası fermentasyon uygulamasının verimliliği .....       | 50 |



## TABLO LİSTESİ

|                                                                                                                                         |    |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Tablo 3.1. Spor yapan ve yapmayan mayalar .....                                                                                         | 19 |
| Tablo 4. 1. Örneklerin kuru madde (%), protein (%), yağ (%), kül (%), selüloz (%), toplam antioksidan ve toplam oksidan sonuçları ..... | 43 |
| Tablo 4. 2. Deniz suyu nitrit, amonyum, fosfor, nitrat, sıcaklık, pH ve tuzluluk değerleri.....                                         | 50 |





# FARKLI MİKROORGANİZMALAR İLE FERMANTASYONUNUN *Codium fragile*'nin (Suringar) Hariot, 1889 BESİN KOMPOZİSYONU VE ANTIÖKSİDAN AKTİVİTESİ ÜZERİNDE OLAN ETKİLERİ

## ÖZET

Alglerin antimikrobiyal, antiviral, antioksidan, antikanserojen, antimutajenik, antienflamatuar ve antikoagülan özellikleri, yem ürünlerinde olumlu etkileri arttırmak amacıyla fermentasyon işlemi ile geliştirilebilmektedir.

Bu çalışmada, Chlorophyta sınıfında denizel bir yeşil makroalg türü olan *Codium fragile*, farklı mikroorganizmalar ile verimli bir oran belirlenmesini amaçlayan bir fermentasyon sürecine tabi tutulduktan sonra, fermente edilmiş alg yem katkı maddesi üretilerek, elde edilen ürünler antioksidan kapasitesi ve biyokimyasal bileşenler bakımından fermente edilmemiş alg unu ile karşılaştırılmıştır.

*Codium fragile*, Marmara Denizi Gemlik Körfezi'nden toplanarak kurutulmuş ve alg unu elde edilmiştir. Fermentasyon işlemine tabi tutulan deneme grupları, alg unu içeren ortama farklı oranlarda (%3.75 veya %7.5) mantar ve bakteri sınıfından mikroorganizmalar ilave edilerek oluşturulmuştur. Fermentasyon işlemi, mantar türlerinin oksijensiz ortamda 72 saat fermente edilmesine müteakip 72 saat daha bakteri türlerinin ilavesi sonrası oksijenli ortamda fermentasyon işleminin devam ettirilmesi ile uygulanmıştır. Deneme gruplarındaki karışım, fermentasyon süreci bitiminde kurutma dolabında 40 °C'de kurutulduktan sonra öğütülerek "fermente alg yem katkı maddesi" haline getirilmiştir. Fermente edilmemiş kontrol grubu ile birlikte 9 farklı ürün elde edilerek analize tabi tutulmuştur.

Sonuçlara göre, Grup 1B (%7.5 *Trichoderma harzianum* + %7.5 *Bacillus subtilis*) ile elde edilen alg katkılı fermente ürün ile birlikte Grup 2B'de (%7.5 *Saccharomyces cerevisiae* + %7.5 *Lactobacillus delbrueckii*) elde edilen ürünün antioksidan kapasitesi, fermente edilmemiş kontrol grubu olarak belirlenen alg unundaki antioksidan kapasitesine göre 12 kat arttığı tespit edilmiştir. Fermentasyon işlemi, deneme gruplarındaki protein değerleri arasında %10 ile %35 oranında artış sağlamıştır.

**Anahtar Kelimeler:** Makroalg, *Codium fragile*, Maya ve bakteri fermentasyonu, Yem katkı maddesi, Alg unu.



# THE EFFECTS OF FERMENTATION WITH DIFFERENT MICROORGANISMS ON THE NUTRITIONAL COMPOSITION AND ANTIOXIDANT ACTIVITY OF *Codium fragile* (Suringar) Hariot, 1889

## ABSTRACT

Antioxidant, antimicrobial, antiviral, anticarcinogenic, antimutagenic, anti-inflammatory and anticoagulant properties of algae can be improved by fermentation process in order to increase the positive effects in feed products.

In this study, *Codium fragile*, a marine green macroalgae species in Chlorophyta class, was subjected to fermentation process with different microorganisms aiming to determine an efficient ratio, and fermented algae feed additive was produced and the products obtained were compared with unfermented algae meal in terms of antioxidant capacity and biochemical components.

*Codium fragile* was collected from the Marmara Sea, Gemlik Bay, dried and algae meal was obtained. Experimental groups subjected to fermentation process were formed by adding fungi and bacteria class microorganisms at different rates (3.75% or 7.5%) to the medium containing algae meal. The fermentation process was carried out by fermenting the fungal species in an oxygen-free condition for 72 hours, and then continuing the fermentation process in an oxygen condition after the addition of bacterial species for another 72 hours. At the end of the fermentation process, the mixture in the experimental groups was dried in the drying cabinet at 40 °C, and then ground into "algae added fermented feed additive". Together with the unfermented control group, 9 different products were obtained and analyzed.

According to the results, it was determined that the antioxidant capacity of the algae added fermented feed additives obtained from Group 1B (7.5% *Trichoderma harzianum* + 7.5% *Bacillus subtilis*) and Group 2B (7.5% *Saccharomyces cerevisiae* + 7.5% *Lactobacillus delbrueckii*) increased 12 times compared to the antioxidant capacity of the algae determined as the unfermented control group. The fermentation process resulted in an increase of 10% to 35% in protein values in the experimental groups.

**Key Words:** Macroalgae, *Codium fragile*, yeast and bacterium fermentation, feed contribution substance, algae meal.



## 1. GİRİŞ

Dünya yem ve gıda endüstrisi, karasal gıdalara alternatif olarak sürdürülebilir sucul kaynakları hammadde olarak değerlendirmektedir. Alglerin yüksek değerli bileşenlerini ortaya koymak araştırmaların ilgi odağı haline gelmiştir. Deniz alglerinin bazı karasal bitki kaynaklarından daha yüksek düzeyde besin değerine sahip olduğu bilinmekle birlikte, gıda, tıp, yem alanında kullanılmak üzere faydalı etkilere sahip olduğu bildirilmektedir.

Algler, hücre yapısı, morfolojik özellikler, üreme yöntemleri ve pigment çeşitlerindeki farklılıklara bağlı olarak sınıflandırılmaktadır. Kök, gövde ve yaprak yapısı bulunmayan sucul bitkisel organizmalar, alg olarak tanımlanmaktadır. Tallus taşıyan algler, ökaryotik canlılar grubunda olup sucul ekosistemde (okyanuslar, nehirler, tatlı su gölleri, çaylar, dereler vb.) yaşamlarını fotosentez ile devam ettiren ototrof canlılardır (Yüksel, 2009; Ünver Alçay ve diğ., 2017).

Algler, yapısında bulunan pigmentleri kullanarak, ışığın etkisi ile suyu ve karbondioksiti organik maddeye dönüştürmekte ve yaşamını devam ettirmektedir. Fotosentez sürecindeki metabolik reaksiyonlar sonucu açığa çıkan oksijen, sucul ekosistemin birincil üreticileri olarak tanımlanarak çözünmüş oksijen bakımından ortamın zenginleşmesini sağlamaktadır. Algler, diğer canlılar tarafından kullanabilecek besin kaynağının birinci basamağını oluşturmaktadır (Duan, 2013).

Algler, farklı filogenetik gruplarda sınıflandırılan, ökaryotik alglere ve prokaryotik siyanobakterilere ait çeşitli organizmaları ifade etmektedir. Prokaryotik siyanobakteriler, mavi yeşil algleri ve proklorofitleri kapsamaktadır. Ökaryotik algler ile prokaryotik siyanobakteri algleri arasında çekirdek, hücre zarı ve organel özellikleri bakımından temel farklar bulunmaktadır. Algler, mikro algler ve makro algler olarak boyutlarına göre de tanımlanmaktadır. Mikro algler 3-10 µm boyutlarında tek hücreli organizmaları temsil ederken, makro alg türleri ise 70 m uzunluğa kadar büyüeyebilen ölçüde türleri tanımlamaktadır (Kim, 2011).

Dünya yüzeyinin yaklaşık %72'si sudur ve deniz bitkilerinin %90'ı alglerden oluşmaktadır (Rajauria ve diğ., 2015). Algler, yüksek tuzluluk, basınç ve sıcaklık gibi aşırı ortamlarda gelişmelerini sağlayan ve her tür deniz ortamını kolonize etmelerine izin veren mekanizmalar geliştirmiştir (Tebbani ve diğ., 2014). Bu mekanizmaları

sayesinde algler, diğer organizmalarda bulunmayan biyoaktif etkiler sunan çeşitli ikincil metabolitler üretebilmektedir. Alglerde bulunan bazı değerli bileşikler arasında, sülfatlanmış polisakkaritler, fikobiliprotein, karotenoidler ve çoklu doymamış yağ asitleri (PUFA), pigmentler, mineraller (demir, kalsiyum, iyot, potasyum, selenyum) ve vitaminler (A, C ve B<sub>12</sub>) yer almaktadır (Tanna ve Mishra, 2018). Tüm bu bileşikler, yiyecek ve içecek endüstrilerinin yanı sıra hayvan yemi, tarım, kozmetik ve ilaç endüstrilerinde uygulamalara sahiptir. Dünya’da doğadan toplanan veya yetiştirilen alglerin yaklaşık %50’si gıda endüstrisinde kullanılırken, toplam üretimin %40’ı kozmetik ve ilaç endüstrisinde, %10’u ise diğer üretim alanlarında değerlendirilmektedir. (Chapman ve Chapman, 1980; Güner ve Aysel, 1999).

Makro algler (deniz yosunu) arasında, gelgit bölgesinde yaygın olarak bulunan çok hücreli, makroskopik alg türleri bulunmaktadır. Ana pigmentlerine göre kırmızı (Rhodophyceae) kahverengi (Phaeophyceae), ve yeşil algler (Chlorophyceae) olarak üç ana sınıf altında sınıflandırılmaktadır. Kahverengi alglerde fukoksantin, birincil pigment iken kırmızı alglerde fikoeritrin ve fikosiyanin pigmentleri ekonomik açıdan da öneme sahiptir. Yeşil algler, klorofil-a ve klorofil-b açısından zengindir.

Deniz kıyılarında yaşayan 10.000 türden yalnızca ~200’ü endüstride dünya çapında kullanılmakta olup ve 10 türün yoğun olarak yetiştirilmektedir (Kim, 2011). Deniz algleri arasında, *Kappaphycus alvarezii*, *Eucheuma* spp. ve *Gracilaria* spp. agar agar üretiminde sektöründe kullanılmaktadır. *Undaria pinnatifida*, *Saccharina japonica* *Porphyra* spp. ve *Sargassum fusiforme*, insan gıdası kullanımı için hasat edilmektedir (Buschmann ve diğ. 2017).

Deniz makro alglerinin kimyasal bileşimi, büyük ölçüde türe ve yetiştirme koşullarına bağlı olup %10-25 arasında kuru madde içerirler ve bunun ana bileşeni %60’a varan değişen oranlarda karbonhidrat molekülleri oluşturabilmektedir (Chen ve diğ., 2015). Tüm makro algler selüloz içerirken, diğer karbonhidratlar ise gruplar arasında farklılık göstermektedir. Laminarin, mannitol, aljinat, glukan ve fukoidan kahverengi alglerdeki ana karbonhidratlardır (Nagamine ve diğ., 2015). Kırmızı alglerde karagenan, agar ve lignin ekonomik değeri olan karbonhidrat molekülleridir. Yeşil alglerde mannan, ulvan ve nişasta bol miktarda bulunmaktadır (Chen ve diğ., 2015).

Karadeniz, Marmara Denizi, Ege ve Akdeniz’e olan uzun kıyı şeridi payı ile Türkiye’de deniz algleri ile ilgili araştırmalar artsa da deniz alglerinin insan tüketimi için gıda

olarak kullanımı hala nispeten nadirdir. Deniz alglerinin yaygın kullanımı bol bulunabilirliğine, faydalı etkilerine ve ekonomik değerine bağlı olduğu gibi, yetiştiricilik yolu ile üretiminde besin bileşiklerinin varlığı sayesinde endüstrileşebilme özelliğine de bağlıdır.

Endüstriyel, tarımsal ve evsel atıklardaki amonyum, nitrat ve fosfatla ile aşırı yüklenen deniz suyu, diğer türlerin yaşam kalitesini düşürme potansiyeline sahip olsa da, algler bu bileşikleri besin olarak kullanmaktadır. Bu durumda habitatın sürdürülebilirliğine katkıda bulunması açısından, kontrollü alg yetiştiriciliği kıyı ekosisteminde önemli bir çözüm seçeneğidir.

Kıyı bölgelerinde sanayileşme ve kentleşmenin önemli ölçüde artması karşısında deniz ortamları kirliliğe maruz kalmaktadır (Taşçı ve Güroy, 2022). Arıtılmamış atık sulardan ve endüstriyel atıkların boşaltılmasından kaynaklanan deniz kirliliği, deniz ekosistemi için en yaygın ve en zararlı kirlilik biçimlerinden biridir (Espinosa ve diğ., 2007).

Deniz algleri, kontaminasyon biyomonitörleri olarak da kullanıldıkları için (Al-Homaidan, 2007; Kamala Kannan ve diğ., 2008), sudaki iyonize elementleri biriktirme yetenekleri nedeniyle kirliliği yansıtmaktadır. Makro alg türleri, dünyada hem denizlerde hem de tatlı sularda ağır metal düzeylerini ölçmek için genellikle indikatör organizmalar olarak tercih edilmektedir (Mohamed ve Khaled, 2005; Fytianos ve diğ., 1999). Yeşil algler, yüzeylerindeki yüksek negatiflik nedeniyle suda birçok ağır metal iyonunu çekebilmekte ve depolayabilmektedir. Bu da su kirliliğinin belirlenmesinde ve giderilmesinde alg kullanımını önemli kılan bir faktör olarak çalışmaktadır (Alp ve diğ., 2012). *Codium* cinsine ait türler, biyolojik izlemede kullanılabilecek yetiştiriciliğe açık potansiyel türlerdir.

Dünyada 43 ülkede deniz yosunu üretildiği bilinmektedir. 2015 yılında elde edilen veriler incelendiğinde 28 milyon ton su bitkisi üretimi gerçekleşmiş olup bunun %94' lük kısmı yetiştiricilik yoluyla sağlanmıştır. 2018 yılında ise dünya 32,4 milyon tonluk alg üretimi gerçekleştirmiştir (FAO, 2020).

Makro algler farklı endüstrilerde hammadde olarak kullanılmakta ve ağırlıklı olarak gıda ürünü kullanımı mevcuttur (MacArtain ve diğ., 2007). Makro algler, denizel gıda kaynakları arasında yeni ve alternatif gıda kaynağı olarak ön plana çıkmaktadır (Berik ve Çankırılıgil, 2019). Deniz alglerinin bazı karasal bitki kaynaklarından daha yüksek

düzeyde besin değerine sahip olduğu bilinmekle birlikte, gıda, tıp, yem alanında kullanılmak üzere faydalı etkilere sahip olduğu bildirilmektedir (Poblete-Castro ve diğ., 2020).

Gıda üretimi ve çevresel faaliyetler ile birlikte sağlık, beslenme ve ekonomi alanlarında sürdürülebilir kalkınmadaki küresel dönüşüm, alg üretimi ve kullanımı da dahil olmak üzere denizel kaynakların verimli kullanılabilirliği ile mümkün görülmektedir.

Algler, kara bitkileri ile karşılaştırıldığında, fotosentez süreçlerindeki kolaylıklar ile daha hızlı ve tüm yıl boyunca büyüeyebilen özellikleri sayesinde birim alan başına daha yüksek verimde hasat edilebilmektedir. Alg üretimi suda yapılan bir tarımsal faaliyet olmakla birlikte, karasal tarıma kıyasla, gübre, böcek ilacı veya içilebilir su kullanımı gerektirmemesi ve ekilebilir araziler ile rekabet etmemesi gibi birçok çevresel faydası vardır (Leyton ve diğ., 2019). Bu nedenle alg üretiminde, ormansızlaşma tercih edilerek tarım arazisi oluşturmaya gerek olmadığı için çevre dostu bir tarım söz konusudur (Syrpas ve Venskutonis, 2020).

Algler, canlı yem üretiminde su ürünleri yetiştiriciliğinde, hayvan yemi endüstrisinde ve gıda endüstrisinde besin maddelerini geliştirmek ve güçlendirmek için kullanılmaktadır. Tıp alanında ise hastalık önleme ve sağlığı geliştirme özelliklerine sahip biyoaktif bileşikler elde etmek için de kullanılmaktadır. Alglerde yaygın olarak bulunan sülfatlanmış polisakaritler, yağ asitleri, polipeptitler, karotenoidler ve polifenoller gibi biyoaktif bileşiklerin ekstraksiyonu, alglerin karmaşık polisakkarit yapılarından oluşan hücre duvarı tarafından engellenmektedir (Leyton ve diğ., 2019). Hücre duvarının kimyasal, enzimatik yöntemlerle parçalanması sonucu biyoaktif bileşikler serbest kalabilmektedir.

Alglerden biyoaktif bileşikleri çıkarmak için kullanılan geleneksel teknikler arasında asit-baz hidrolizi, yüksek sıcaklık veya solvent ekstraksiyonu yer almaktadır (Safi ve diğ., 2014). Bu teknolojilerin kullanımı etkili olmasına rağmen, atık ürünler üretilmekte ve maliyet artışı ortaya çıkmaktadır. Bununla birlikte bazı ısıya duyarlı biyoaktif bileşikler (polifenoller, karotenoidler, vb.), ekstraksiyon sırasında bozulabilmektedir (Kadam ve diğ., 2013).

Fermentasyon ve enzimatik işleme gibi teknolojiler, toksik kalıntılar üretmeden veya biyoaktif bileşiklerin aktivitesini değiştirebilen çözücüler kullanmadan, amaçlanan bileşikleri elde edebilmeye olanak sağlamaktadır (Larios-Cruz ve diğ., 2019).

Fermentasyonda, katma değerli ürünler elde etmek için mikroorganizmalar kullanılmaktadır. Hammaddeden polimerlerin hidrolizini teşvik etmek, biyoaktif molekülleri sentezlemek, toksik veya besinsel olmayan faktörleri bozmak için, mikroorganizmalar fermentasyon işleminde önemli rolleri üstlenmektedir (Verardo ve diğ., 2020; Septembre-Malaterre ve diğ., 2018). Fermentasyon sürecinde, mikroorganizmalar ürünün besin değerini artıran birincil veya ikincil metabolitleri büyük miktarlarda üretebilmektedir. Ayrıca mikroorganizmalar, polimerleri hedef alan enzimleri ve asitleri salgılayarak ve kullanılabilir küçük birimlere bölerek, fermente ürünün sindirilebilirliğini ve biyoyararlanımını iyileştirebilmektedir (Ryu ve Kim, 2013).

Fermentasyon türleri, farklı alg türlerinin fermentasyonu için kullanılan mikroorganizmalar, fermentasyon koşulları ve elde edilen biyoaktif bileşiklerin biyoaktif etkileri farklı araştırmalarda tartışılmaktadır. Dünyadaki hammadde potansiyelinin sınırsız olmaması, sürdürülebilir yeni maddelerin sentezlenmesi ve transformasyonu için mikroorganizmalarda var olan büyük kapasitenin kullanılması gerektiği anlaşılmıştır.

### **1.1. Fermentasyonun Tarihçesi ve Aşamaları**

Mikroorganizmalarda meydana gelen biyolojik olaylar ve oluşan ürünler binlerce yıldan beri kullanılmaktadır. İnsanlığın ilkel topluluklar halinde yaşadığı zamanlarda ağaç ve toprak kaplarda, tulumlarda, meyve kabuklarıyla yapılan ilk tekniklerdir. Günümüzde ise mikrobiyolojik tekniklerin gelişmesi ile devam etmektedir. En eski teknolojilerden ve gıda işleme yöntemlerinden biri olan fermentasyon, Latince “kaynamak” anlamına gelen “fevere” kelimesinden gelmektedir.

Fermentasyon, gıda ürünün raf ömrünü uzatarak muhafaza edilmesine olanak tanıyan bir çeşit gıda işleme teknolojisidir. Fermente gıdalar, doğrudan veya dolaylı olarak mikroorganizmalar sayesinde, bozulabilir hammaddeleri koruyup raf ömrü boyunca daha dayanıklı ürünler haline gelerek besleyici olmayan bileşenlerden de uzaklaştırılmış aromatik özelliklerine sahip ürünleridir.

Gıda fermentasyonunda yer alan en yaygın mikroorganizma grupları bakteri, maya ve küflerdir. Mikrobiyal enzimler de gıda fermentasyonunda önemli bir rol oynamaktadır.

Fermentasyon süreci; nem, sıcaklık, çözünmüş O<sub>2</sub> konsantrasyonu ve çözünmüş CO<sub>2</sub> dahil olmak üzere çok sayıda faktörden etkilenmektedir. Bu faktörlerin varyasyonu, fermentasyon oranını, ürünün organoleptik özelliklerini, besin kalitesini ve diğer fizikokimyasal özellikleri etkileyebilir (Erkmen ve Bozoğlu, 2016).

Louis Pasteur, fermentasyonu "Havasız yaşam" olarak tanımlamıştır. Günümüzde fermentasyon, organik bileşiklerin oksijen varlığında (aerobik) veya yokluğunda (anaerobik) mikroorganizmalar tarafından parçalanması olarak tanımlanır. Fermentasyon sürecindeki parçalanma, enerji üretimi (ATP molekülleri) ile sonuçlanmasıyla değerli ticari ürünler üretebilmeye veya önemli kimyasal dönüşümleri kolaylaştırmaya olanak tanımaktadır. Bu kimyasal dönüşümlerin güvenlik ve ekonomik faydaları nedeniyle enerji üretimi, malzeme, ilaç, kimya ve gıda endüstrilerinde fermentasyon süreçlerinin uygulamaları yer almaktadır. Fermentasyon sırasında, organik substrat, karbonhidratlar ve diğer bileşikler, bir elektron donörü olarak hareket eder ve bu süreçten türetilen organik molekül, bir veya daha fazla son ürünün müteakip oluşumu ile bir elektron alıcısı olarak görev alır.

Fermentasyonun son ürünleri mikroorganizmaya bağlıdır ve çeşitli fermentasyon yolları, birincil ürünlerinden sonra adlandırılır. Fermentasyon yollarının birincil ürünleri arasında asitler, alkoller ve gazlar yer almaktadır. Fermente edilecek ürüne katılan aktif mikroorganizmanın konsantrasyonu, fermente olabilen şekerlerin veya diğer fermente olabilen organik maddelerin konsantrasyonunu belirlemektedir.

Aktif mikroorganizmaların yaşı ve sağlığı, fermentasyon ortamının sıvı karışımındaki pH, sıcaklık, basınç, tuzluluk gibi çevresel koşullar dahil olmak üzere birçok değişken de fermentasyonu etkileyebilmektedir. Genel olarak endüstriyel mikrobiyal fermentasyon, temel amaçlarına göre dört kategoriye ayrılır.

1. Biyokütle üretimi
2. Birincil metabolitlerin üretimi (etanol, laktik asit, vb.)
3. Sekonder metabolitlerin üretimi (enzimlerin, vitaminlerin sentezi vb.)
4. Alt tabakanın katma değerli ürünlere dönüştürülmesi

Fermentasyon süreci oksijen, karbondioksit, fermentasyon sıcaklığı, fermentasyon pH'ı, mayanın aşılama oranı, mayşenin şeker konsantrasyonu, alkol konsantrasyonu, besin maddeleri, mayşenin hareketi, maya suşu gibi faktörlerden etkilenmektedir (Pamir, 1985).

Fermentasyonda etil alkol üretimi sırasında yan ürünlerin daha az olması arzu edilirken, etil alkolün en yüksek seviyede oluşması beklenmektedir. Oksijen maya üretimi için önemlidir. Ortamda yeterli hava yoksa maya tomurcuklanarak çoğalamaz. Etil alkol üretilirken, mayanın hücrel materyal yapmak yerine alkol üretmesi arzu edilir. Bu nedenle fermentasyon sırasında çok az hava gerekir. Fermentasyonun ilk aşamasında, mayanın büyümesini sağlamak için ortama kısaca hava eklenir. Ardından hava kapatılır ve ana fermentasyon başlar. Ön fermentasyon sırasında maya aktif hale gelir ve enzimlerle zenginleşir. Maya aktive edildikten ve enzimlerle zenginleştirildikten sonra havası alınır ve ana fermentasyon başlar. Fermentasyon sırasında çevreye O<sub>2</sub> salınımı fermentasyonu yavaşlatır ve hücre çoğalmasını artırır (Pamir, 1985).

Ortamda çok fazla veya çok az CO<sub>2</sub> bulunması maya gelişimini ve fermentasyon oranlarını etkiler. Yarattığı basınç, CO<sub>2</sub>'nin maya için toksik olmasından daha önemlidir. Ortamda CO<sub>2</sub> tarafından üretilen 0,4 atmosfere (atm) kadar olan basınçların maya aktivitesi üzerinde hiçbir etkisi yoktur. Ancak atmosferik basınç 1 atm'ye ulaştığında maya gelişimi etkilenmeye başlar. 20 atmosferde maya büyümesi durur. 10 atmosfer Alkol fermentasyon hızı basınç noktasına kadar artabilir. Bu, bu ortamda O<sub>2</sub> bulunmamasından kaynaklanır (Pamir, 1985).

Alkolic fermentasyon için ideal sıcaklık 30°C'dir, ancak fermentasyonun tipine ve türüne (alt fermentasyon, üst fermentasyon) bağlıdır. Genel olarak, 30°C'nin üzerindeki alkollü içkiler için fermentasyon 36°C'ye kadar hızlanır, ancak maya gelişimi durur. 40°C'de maya, mayalanma yeteneğini kaybeder. Maya gelişimi için 25-30°C, etil alkol üretimi için 30-37°C idealdir.

Fermentasyon sıvısının pH'ı önemlidir ve maya genellikle hafif asidik bir ortamda (pH 4.5-5.0) işlev görür. pH çok düşük veya çok yüksek ise alkol fermentasyonu olumsuz etkilenecektir. Ortamdaki alkol konsantrasyonu o kadar yüksek ve maya aktivitesi o kadar yavaştır. Alkol konsantrasyonu %8-10 civarında olmalıdır. Alkolün engelleyici

özellikleri, alkolün ozmotik basıncının şekerden daha yüksek olmasıyla oluşturduğu ozmotik basınçla ilişkilidir.

Maya türünün seçimi kritiktir ve doğru maya seçimi alkollü fermentasyon hızını etkileyen en önemli faktörlerden biridir. Fermentasyon, işlem sırasında kullanılan su seviyesine göre sıvı(batık) veya katı hal fermentasyonu olarak sınıflandırılabilir. “Katı hal” fermentasyonunda, substratın mikroorganizma büyümesine ve metabolizmasına izin verecek ölçüde yeterli nem içermesi gerekmektedir. Bu tür fermentasyonda, sınırlı nem içeriğine bağlı olan mantarlar ve gram pozitif bakteriler için daha iyi çalışmaktadır (Berenjian, 2019).

Batık (sıvı) fermentasyon, serbest akışlı sıvı substratlarda büyüyen mikroorganizmalardan oluşur. Bu yöntem, *Saccharomyces cerevisiae* ve *Bacillus* sp. gibi yüksek nem içeriği gerektiren mikroorganizmalar için uygundur. Daldırılmış fermentasyon prosesleri, çalışma modlarına göre kesikli, beslemeli kesikli veya sürekli olarak sınıflandırılabilir (Berenjian, 2019).

## **1.2. Mikroorganizmaların Fermentasyon İşleminde Önemi**

Mikroorganizmalar, doğada bitkilerde ve toprakta birçok besin elementinin faydalı ve kullanılabilir duruma getiren canlıların başında gelmektedir. Protein, nişasta gibi kompleks moleküllerin, hücre zarına geçebilecek kadar hidrolitik parçalanarak hücre içerisinde enzimler tarafından katalize edilerek sentezlenir. Hücre zarından geçebilecek boyuta parçalanmış olan organik moleküllerin hücre içerisine girişi difüzyon ile olmayıp, hücre içi enzimlerin yardımıyla enerji harcanarak gerçekleşen bir absorpsiyon olayıdır. Organik moleküllerin hücre içerisinde parçalanması sindirici hidrolazlar tarafından gerçekleştirilmektedir. Hücre içi sindirici hidrolazlar ile parçalanan maddeler kullanılabilir hale gelir. Hücre, bu besinleri çoğalma ve gelişme faaliyetleri için gerekli bileşenlerin sentezinde (biyosentez) kullanırken aynı zamanda da solunum ve fermentasyon gibi enerji üreten reaksiyonlarda değerlendirmektedir. Solunum ve fermentasyon olayları sonucu açığa çıkan enerji, hücre metabolizmasında kullanılmaktadır.

Biyosentez, kromozomların DNA'sında şifrelenmiş genetik mesajlar sayesinde hücre içine alınan basit moleküllerin kullanılarak, hücre içerisinde aminoasitlerden proteinlerin sentezi ve yağ asitlerinden lipidlerin sentezi gibi daha kompleks

biyomoleküllerin oluşturulması süreçleridir. Sentez olayları sonunda; protoplazmik proteinler, mikroorganizma hücre zarları, hücre duvarları, kromozom materyalleri, enzim proteinler ve diğer bileşenler ortaya çıkmaktadır. Biyosentez hücrenin başlıca fonksiyonlarından olup, enerji üreten reaksiyonlarla birlikte oluşmaktadır. Bakteriyel metabolizma, hayvansal hücrelere kıyasla daha hızlı çalışmaktadır. Bakteri hücresi, çok küçük olmalarına bağlı generasyon sürelerinin kısa ve nisbi yüzey alanlarının yüksek oluşundan dolayı, kısa zamanda besin ögesini metabolize ederek, ağırlığını arttırabilmekte ve 24 saatte milyonlarca sayıya ulaşabilmektedir.

Mikrobiyal hücrelerde meydana gelen tüm değişiklikler, organik katalizörler olan enzimler tarafından gerçekleştirilir. Bir enzim molekülü, bir milyon substrat molekülünü katalize edebilir. Mikroorganizmalar tarafından elde edilen gıda ürünlerinin oluşum temeli, fermentasyon işlemlerine dayanmaktadır ve karbonhidratların kullanımı ön plana çıkmaktadır. Mikroorganizmalar, kompleks karbonhidratları doğrudan metabolize edemezler, ancak büyük oranda glukozu çevrilmesinde görev alarak metabolizmalarında kullanırlar. Bu aşamada glukoz, etil alkol fermentasyonu ile maya hücresi tarafından CO<sub>2</sub>'e ve etil alkole dönüşmektedir. Anaerobik ortamdaki hücreye gerekli enerji, serbest oksijen olmadan sağlanmaktadır. Glukozdan başlayıp, laktik asit oluşumunda son bulan reaksiyonlar dizisi “glükolizis” olarak adlandırılır. Bu olay fermentasyon olarak adlandırılmaktadır.

## 2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Tez çalışmasının konusunu oluşturan *Codium fragile* türü üzerine Türkiye kıyı sularında ve farklı ülkelerde çeşitli çalışmalar yürütülmüş olup, bu alg türünün fermentasyonu üzerine sınırlı çalışma mevcuttur. Alg fermentasyonu çalışmalarının çoğunda, batık (sıvı) fermentasyon kullanıldığı ve farklı alg türleri üzerine fermentasyon araştırmaları yürütüldüğü görülmüştür.

Salgado ve diğ. (2021) tarafından kahverengi deniz alglerinden *Macrocystis pyrifera*, Şili’de Chiloe Adaları’nda yetiştirilerek hasat edilmiş ve 48 saat boyunca 60 °C’de kurutulup un haline getirildikten sonra bir deniz mantarı türü olan *Paradendryphiella salina* ile sıvı (batık) fermentasyon işlemine tabi tutularak besin değeri incelenmiştir. Fermentasyondan sonra ortaya çıkan hidrolize olmuş alg ile *Paradendryphiella salina*’nın besin maddelerini özütlemek için kullandığı miselyum karışımı ürüne, mikoprotein adı verilmiştir. Elde edilen mikoprotein, fermentasyona tabi tutulmadan kurutulan alg biyokütlesinin besin bileşimine göre, farklılık göstermiştir. Fermente *Macrocystis pyrifera*’nın toplam protein içeriğinin %141 ve toplam amino asitlerin ise %73.5 oranında arttığı bildirilmektedir. *Macrocystis pyrifera*’nın fermentasyonu ile toplam karbonhidratın %38 oranında azaldığı belirlenmiştir. *Macrocystis pyrifera*’nın selüloz konsantrasyonu, fermente edilmemiş deniz yosunundan 2.9 kat daha düşük bulunmuştur. Fermentasyon işlemi ile ürünün, fenolik bileşen değeri %180.9 artmış olup %86.3 artışla en yüksek toplam antioksidan aktivite tespit edilmiştir. Çalışmada elde edilen ürünün yararlı/fonksiyonel gıda ve yem olabileceği önerilmektedir.

Rafiquzzaman ve diğ. (2015), kahverengi deniz alglerinden *Saccharina japonica* türünü *Aspergillus oryzae* türü mantar kökenli maya kullanılarak fermentasyon ile geliştirmeyi amaçlamıştır. *Aspergillus oryzae* ile fermentasyon ortamının %2’si oranında *Saccharina japonica* tozu kullanılarak 7 gün düzenli aralıklarla izlenmiştir. Toplam şeker, toplam fenolik ve flavonoid içeriği gibi maksimum oranda ve istenen özelliklerde 5 günlük bir fermentasyon süresinde ulaşılmıştır. Optimum fermentasyon süresi altında, fermente edilmiş ekstraktlar, DPPH radikal süpürme, ABTS süpürme analizleri belirlenerek antioksidan aktivitenin arttığı gözlenmiştir. Biyoaktif moleküllerin çevre dostu bir şekilde arttırılması ve deniz yosunu bazlı fonksiyonel gıdaların geliştirilmesinde *Saccharina japonica* türünün *Aspergillus oryzae* türü ile fermente edilebileceği bildirilmektedir.

Brain-Isasi ve diğ. (2021), kıyı sularında biriken yeşil makroalg biyokütlesinin olumsuz ekolojik ve ekonomik etkilerini göz önünde bulundurarak *Ulva*'nın besin profilini biyolojik olarak mikrobiyal biyokütle proteinine dönüştürmek ve yem üretimi için kullanılmak üzere mikrobiyal fermentasyon uygulaması gerçekleştirmiştir. Bu araştırmada, selülitik ve filamentli bir mantar türü olan *Trichoderma reesei* Rut-C30 kullanılarak *Ulva rigida* biyokütlesinin sakarifikasyonu ve fermentasyonu izlenmiştir. *Trichoderma reesei* Rut-C30 tek karbon kaynağı olarak *Ulva rigida* üzerinde 72 saat içinde büyütülmüş olup elde edilen fermentasyon ürününe mantar biyokütle proteini adı verilmiştir. Fermente edilen *Ulva rigida*'nın, tüm esansiyel amino asitleri içerdiği, metionin içeriğinin ise, ham alg ile karşılaştırıldığında 4 kat arttığı vurgulanmıştır. Fermente *Ulva*'nın in vitro sindirilebilirliği analiz edilerek, ham alg ile karşılaştırıldığında %71'den %94'e yükseldiği bildirilmektedir. Ham alg unu %9.10 protein içeriğine sahip iken fermente ürünün proteini %11.43'e yükselmiştir. Toplam selüloz içeriği ham *Ulva* ununda %40.32 iken fermentasyon sonunda %3.08'e düşmüştür. Çalışma, *Ulva rigida*'nın, yem üretmeye uygun yüksek kaliteli proteinler sağlamak için batık (sıvı) fermentasyon altında 72 saat içinde karasal bir mantar türü tarafından tek bir adımda şekerlenebileceğini ve fermente edilebileceğini göstermektedir.

Landeta-Salgado ve diğ. (2021) tarafından, düşük çevresel etkiye sahip yeni protein kaynaklarının üretimi amacıyla, *Paradendryphiella salina* (deniz mantarı) ile yeşil deniz alglerinde *Ulva* spp. fermentasyon işlemine tabi tutulmuştur. 1 kg kuru alg ile 561.3 g mikoprotein verimi, %48.2 protein konsantrasyonu ve %21 amino asit konsantrasyonu elde edilerek fermentasyon sonunda üretilen mikoprotein besinsel bileşiminin arttırıldığı bildirilmektedir.

Wadi ve diğ. (2019) tarafından Endonezya'da biyoetanol üretimi için hammadde olarak kullanılan yüksek selüloz içeriğine sahip kırmızı deniz alglerinden *Gracilaria verrucosa* ve *Eucheuma cottonii* eş zamanlı olarak fermentasyona tabi tutulmuştur. *Gracilaria verrucosa* ve *Eucheuma cottonii* türleri, *Lostridium acetobutylicum* bakterisi kullanılarak 10 günlük fermentasyondan sonra sırasıyla %5.7 ve %6.1 etanol seviyelerine sahip biyoetanole dönüştürülebileceği gözlenmiştir. *Gracilaria verucosa* selülozünün %3.33 dönüşüm değeri ile 96.4 saflığa sahip etanol üretilmiştir.

## 2.1. Tezin Amacı

Nutrasötikler tek başına gıda ya da ilaç özelliğinde olmasa da, gıdaların besinsel ve fizyolojik özelliklerini güçlendirmek amacıyla katkı maddesi olarak eklenmektedir. Nutrasötik bileşiklerin düzenli kullanımı, uzun vadeli ve sürdürülebilir sağlık koşulları sağlayabilmektedir. Nutrasötik potansiyele sahip önemli metabolitlerin üretiminde algler, sürdürülebilir biyokütle olarak kabul edilmektedir. Algler, farmasötik özelliklere sahip çeşitli besin bileşenleri ve metabolitlerin zengin bir kaynağı olarak kabul edilmektedir (Güroy ve diğ., 2019).

Farmasötik ürünlerin yan etkileri söz konusu olduğu için nutrasötiklere yönelik farkındalık ve ihtiyaç ortaya çıkmıştır (Das ve diğ., 2012). Geleneksel olarak, nutrasötikler besin olarak adlandırılır, ancak sağlık yararları da vardır ve bu nedenle gıda ve ilaç arasındaki gri alanı temsil ederler. Bazı bitki kaynaklı metabolitlerin ve fitokimyasalların insan sağlığına faydalı olduğu ve kanser, artrit, diyabet gibi kronik hastalıkların semptomlarını azaltabileceği gösterilmiştir (Shahidi, 2009). Farmasötik ürünlerle karşılaştırıldığında etkileri hafif olsa da güvenli kabul edilirler ve günlük beslenme yoluyla takviye olarak alınması, uzun vadeli fizyolojik sağlık yararları sağlamaktadır.

Deniz algleri, farklı biyoaktivitelerden sorumlu olan çoklu doymamış yağ asitleri (PUFA), metabolitler, proteinler, sülfatlanmış polisakaritler, vitaminler ve mineraller açısından zengin bir kaynaktır; bu nedenle umut verici bir fonksiyonel gıda (nutrasötik) olarak kabul edilirler (Tanna ve Mishra, 2018). Nutrasötiklerin yem ve gıda alanında kullanımının arttırılması için, pahalı üretim giderlerinin üstesinden gelinmesine yönelik bilgilerin üretilmesi gerekli olup yaşam kalitesini iyileştirmeye yönelik uzun vadeli etkileri üzerine araştırmaların artması beklenmektedir.

Son yıllarda yapılan bilimsel araştırmalar sayesinde, yosun olarak tanımlanan deniz algleri hakkında olumsuz çağrışımlar dağılmakta ve insanlar tarafından sadece sağlıklı değil aynı zamanda lezzetli bir gıda olarak kabul edilmeye başlamıştır (Edwards ve diğ. 2012). Deniz algleri sadece gıda olarak değil, aynı zamanda antimikrobiyal, antiviral, antioksidan, antikanserojen, antimutajenik, antienflamatuar ve antikoagülan etkiler gibi farmasötik aktiviteleri ile sağlık alanında öneme sahiptir (Madhusudan ve diğ., 2011).

Tarım sektöründe biyo-uyarıcı (biostimulant) olarak kullanılmakta olan algler, kozmetik, endüstriyel kimyasalların ekstraksiyonu, diş macunu, fırın ürünleri ve sakızlar gibi çeşitli endüstriyel uygulamalara da sahiptirler (Jiao ve diğ., 2011). Algler yem ve gıda endüstrileri için bağışıklığı güçlendiren ve sağığı geliştirici faydalar sunan bileşenleri ile bir kaynak olarak kabul edilmektedir (Güroy ve diğ., 2022).

Bu tezde, *Codium fragile* türü yeşil bir makroalg ile ökaryotik mantar türlerinden *Trichoderma harzianum* Rifai, (1969) ve *Saccharomyces cerevisiae* ile prokaryotik bakteri türlerinden *Bacillus subtilis* (Ehrenberg 1835) Cohn, 1872 ve *Lactobacillus delbrueckii* (Leichmann 1896) iki aşamalı fermantasyon süreçleri uygulanarak, çeşitli aşamalar sonunda kurutmaya tabi tutulmuş ve “fermente alg yem katkı maddesi” elde edilmiştir. Fermente alg yem katkı maddesi; balık, karides, yengeç gibi sucul hayvanların yemlerine ilave edilerek, çevre dostu etkiler ile beslenmeyi zenginleştirici özelliklere sahiptir. Yemlerde alg katkılı fermente yem katkı maddesi kullanımı ile kültür hayvanlarının bağışıklığını geliştirmek suretiyle patojenik bakterilerin gelişimi engellenerek hastalıkların azaltılması ile büyüme teşvik edilir ve sindirilmeyen yem yoluyla oluşan kayıplar azaltılabilir.

Bu tezin amacı, biyoaktif özelliklere sahip katma değerli bileşikler elde ederek nutrasötik olarak işlev gösterebilecek, fermantasyonu ile güçlendirilmiş alg içrikli yem katkı maddesi sağlamaktır. Bu çalışmada *Codium fragile* (Suringar) Hariot Marmara Denizi 40.5094620 ve 28,8294330 koordinatlarından toplanarak kurutulmuştur ve antioksidan kapasitesi ile biyokimyasal içeriğı tespit edilmiştir.

### 3. MATERYAL VE METOT

#### 3.1. Materyal

##### 3.1.1. *Codium fragile* 'nin özellikleri

*Codium farile* (Şekil 3.1.), *Ulvophyceae* sınıfına ait, yerel ismi ile kırılğan çatal alg olarak isimlendirilen bir *Chlorophyta* (yeşil makro alg) türüdür.

*Codium fragile*, 10 ila 40 cm arasında değişen ve dallanan silindirik bölümlerden oluşan koyu yeşil bir alg türüdür. 1-2 m derinlikte kayalardan sarkan boru şekilli salkımlar formunda yetişmektedir (Mavili, 2011).

Morfolojik olarak dallı ve süngerimsi bir yapıya sahiptir. Dalların alt ve uç kısımları silindirik yapısal özellik göstermektedir. Ayırt edici özelliğine bakıldığında dikkat çeken nokta üreme yapılarının oluştuğu (uç) kısımlarının sivrilerek sonlanmasıdır. Akdeniz’de *Codium fragile* subsp. *tomentosoides* (van Goor) P.C.Silva olarak kayda geçen bu tür, Provan ve ark. tarafından plastid genini temel alan biyomoleküler çalışmalar sonucunda türün *Codium fragile* subsp. *fragile* olduğu belirtilmiştir.

Denizlerin; sublittoral bölgelerinde yayılım göstermektedir. Türkiye’de ışığın yoğun olduğu kıyısız zonun kayalık bölgelerinde ve azot, fosfat yönünden zengin sularda, yoğun olarak görülmektedir (Cirik ve Cirik, 1999). Sıcaklık ve tuzluluk değişimlerine toleransı yüksek bir makroalg türüdür (Ak ve diğ., 2016). Marmara Denizi’nde yayılım gösteren *Codium* geniş alanlarda yoğun popülasyonlar oluşturabilirler.

Tüketim şekli olarak taze ve kurutulmuş olmalarının yanı sıra ekstraktları da biyostimülant olarak kullanılmaktadır (Castellanos-Barriga ve diğ., 2017). *Codium* türlerinin taze biyokütlesinin %80-90’i sudan oluşur.

Bu çalışmada kullanılan *Codium fragile* 'nın sistematikteki yeri aşağıda verilmiştir.

|       |                                                 |
|-------|-------------------------------------------------|
| Alem  | : Bitkiler                                      |
| Bölüm | : Chlorophyta                                   |
| Sınıf | : Ulvophyceae                                   |
| Takım | : Bryopsidales                                  |
| Aile  | : Codiaceae                                     |
| Cins  | : <i>Codium</i>                                 |
| Tür   | : <i>Codium fragile</i> (Suringar) Hariot, 1889 |



Şekil 3. 1. *Codium fragile*

*Codium fragile*, Ulvophyceae sınıfında yeşil bir deniz alg türüdür. *Codium* cinsi kutup bölgeleri hariç dünya denizlerinde yaygın olarak yayılış gösteren taksonomik olarak 143 tür içermekte olup çoğunlukla ılıman ve subtropikal bölgelerde bulunmaktadır (Guiry ve Guiry, 2016). Japonya'ya özgü bir tür olarak kabul edilen *Codium fragile*, Kuzey Pasifik taksonudur (Burrows 1991; Provan ve diğ., 2008). II. Dünya Savaşı sürecinde muhtemelen askeri nakliyeden kaynaklanan bir yayılım ile Dünya'da yayılımı arttığı bildirilmiştir (Silva, 1955; Verlaque, 1994). *Codium fragile*, Kuzeybatı Atlantik'te, 1957'de tespit edilmiştir (Bouck ve Morgan, 1957). 1960'ların başında kabuklu deniz ürünleri üzerinde görülmekle birlikte sıcak-ılıman ve Pasifik kökenli olması nedeniyle ılık sığ sularda yaygın hale geldiği tespit edilmiştir (Coffin ve Stickney, 1966).

New York kıyılarında, *Codium* cinsinde gamet üretiminin 8 cm veya daha uzun yapraklarda 12°C ile 15°C arasında gerçekleştiği (Churchill ve Moeller, 1972) bildirilmiştir. Kuzeybatı Atlantik ve Güneydoğu Pasifik kökenli *C. fragile* popülasyonlarında partenogenetik gametlerin veya parçalanmanın meydana geldiğini tespit edilmiştir. Kış döneminde parçalanma ilk olarak, dikotomilerin tabanlarına yakın yaprakların uzunlukları boyunca şişmeler olarak belirdiği ve daha sonra, bu şişmiş alanlarda daralmalar ortaya çıkarak yaprakların, ebeveyn talluslardan ayrılarak küçük parçalara bölündüğü görülmüştür ((Fralick ve Mathieson, 1973).

Benton ve diğ. 2015 tarafından *Codium fragile*'nin ekolojisi, büyümesi ve üremesi incelenmiş olup yaprak boyunun mevsimsel olarak değişken olduğu yaz mevsimi ile

sonbahar başlangıcına kadar yaprak uzunluklarında belirgin bir artış olduğu görülmüştür. Kış mevsimini geçiren *Codium*'un ilkbahar yapraklarının bir önceki sonbahar değerlerine kıyasla boy bakımından oldukça kısa ve bazı yaprakların sadece 0.5–1cm olduğu bildirilmiştir.

*Codium*'un hareketli anizogam gametlerle çoğaldığı (Borden ve Stein, 1969) ve büyümesinin mevsimsel olarak değişmekle birlikte, en yüksek yaz aylarında ve en düşük kış döneminde görüldüğü kuzey-batı Atlantik'te büyüme mevsiminin 6-9 ay sürdüğü (Fralick ve Mathieson, 1973) belirtilmektedir. 10 °C sıcaklık ve ‰ 22 üzerindeki tuzlulukta büyümenin gerçekleştiği, optimum büyümenin de >16 °C ile >‰ 27 tuzlukta sağlandığı fotosentetik çalışma modelleri ile doğrulanmıştır (Fralick ve Mathieson, 1973).

*Codium fragile* yüksek düzeyde ağır metaller biriktirme kapasitesinde bir tür olup antropojenik deşarjlarından kaynaklanan kirleticilerin etkisinin yanı sıra endüstriyel tesisler, gübre fabrikaları, tarımın yapıldığı bölgelerde kullanılan pestisitler ve sanayi atıklarından etkilenmektedir. Ayrıca deniz taşımacılığı sürecinde sintine ve balast suların deniz sularına karışması ile biriken ve suda asılı olan atıklar, dalgalar gibi su hareketleri ile organizmalara ulaşmaktadır.

Örnekleme alanları, mevsimler, alglerin özellikleri, yaşı, fizikokimyasal parametreler ve diğer etkileşimler ile *Codium fragile* türünün biyokimyasal kompozisyonu değişebilmektedir. Biyoaktif molekül kaynaklarından olan algler, yetiştiriciliğe açık türleri de bulunduğu için doğal sürdürülebilir kaynaklar arasındadır.

Antimikrobiyal etkili bileşikler canlıların savunma mekanizmalarında görev almakta olup mikro algler ve makro alglerden elde edilebilmektedir. Ayrıca antioksidatif bileşiklerinin yanı sıra antibiyotik, antiviral, antikanser, antifungal, antibakteriyel, antiinflamatuvar gibi bazı farmakolojik etkileri de tespit edilmiştir. Albayacı ve diğ. (2019) tarafından *Codium fragile*'nin metanol ekstraktı suşlarla yapmış olduğu çalışmada 1.562 mg/mL konsantrasyonlarda aktivite gösterdiğini bulmuştur. Ayrıca antibakteriyel etkili olduğu suş, *Pseudomonas aeruginosa* (0.024 mg/mL) olarak belirtmiştir.

Bu tez araştırmasında, Marmara Denizi'nde belirlenen istasyondan *Codium fragile* denizden toplanarak yıkandıktan sonra kurutulmuş olup çeşitli mikroorganizmalar ile fermente edilerek antioksidan kapasitesinin ortaya çıkarılması hedeflenmiştir.

### 3.2. Mayaların Genel Özellikleri

Jörgensen'e göre maya klasik olarak tomurcuklanma yoluyla çoğalabilen ve şekeri alkol ve CO<sub>2</sub>'e dönüştürebilen tek hücreli mikroorganizmadır. Mayaların yaşam çevriminde esas olarak toprak, tatlı ve sulu meyveler bulunur. Mayanın nakledildiği yerde yerleşmesi ve şekeri fermente etmesi, fiziksel ve kimyasal koşullara bağlıdır. Fermantasyon süresince ortamdaki bileşim ve miktar değişiklikleri mayaların alkole karşı dayanıklılıkları belirlemektedir.

Mayalar morfolojik olarak oval, yuvarlak, silindir, limon veya şişe şeklinde görülmektedir. Maya hücrelerinin büyüklüğü 8-10 mikrondur. Bununla beraber hücre büyüklüğü beslenme ve kültürün yaşına bağlı olarak değişiklikler göstermektedir.

Maya hücresi, hücre duvarı, sitoplazma ve çekirdek kısımlarından oluşmaktadır. Sitoplazmik membran, besin maddelerinin hücre içine seçiminde ve metabolizma ürünlerinin hücre dışına naklinde önemli bir rol oynamaktadır (McWilliam, 1970). Maya sporlanma ve tomurcuklanma ile çoğalmaktadır. Hücre suyunun ozmotik basıncının yüksek olması mayanın canlı kalabilmesi için çok önemlidir.

Yapılan araştırmalarda bir hücre duvarı üzerinde en fazla 20'ye kadar yara izine rastlanmıştır. Bazı araştırmacılara göre bu yara izlerinden maya yaşını tayin etmek olanaklıdır. Her meydana gelen yavru hücre ana hücreden ayrılabilirdiği gibi, ortam sakin kaldığı sürece ve özellikle fermantasyonun ilk dönemlerinde, birbirlerine yapışık kalırlar. Fakat fermentasyon başlayıp karbondioksit gazı çıkmaya başlayınca, gazın çarpması, itmesi sonucu olarak hücreler dağılır ve artık bu dönemde toplu hücre birlikleri görülmez; tek ya da en çok ikişer olarak sıvıya dağılmış olurlar. Bununla beraber bu durum maya türüne göre de değişir. Üst fermantasyon mayası, alt fermantasyon mayasına göre daha uzun ve daha dallı zincirler yapar. Mayanın çoğalma hızı ilk dönemde yavaş (bekleme aşaması), fakat belirli bir süre sonra hızlanır (üs cinsinden çoğalma aşaması). Ancak çoğalma bu tempo ile devam etmez. Çoğalma belli bir düzeyi bulunca tekrar yavaşlar ve sonunda durur (duraklama aşaması). En sonunda ölüm oranı yükseleceğinden çoğalma oranı düşmeye başlar (ölüm aşaması). Yeni meydana gelen bir hücrenin tam oluşumuna kadar 20-30 dakika ilâ 2 saat arasında bir süre geçer ve 24 saat içinde bir hücreden 4000 kadar yeni hücre meydana gelebilir. Maya, belirli bir miktar çoğalarak fermantasyona başladığında meydana gelen metabolizma ürünü olan etil alkol, çoğalma üzerine olumsuz etki yapmaya başlar ve

metabolizma ürünü konsantrasyonu arttıkça, çoğalma durma noktasına gelir (Pamir, 1985).

Doğal kaynaklardan izole edilen mayaların besin maddelerince zengin besiyerlerinde, örneğin malt agarı, maya otolizat -glikoz agarı ve izolasyon için besiyeri olarak kullanılan diğer besiyerlerinde oluşan birkaç günlük kolonilerde fazla miktarlarda askus ve askosporların bulunduğu görülür. Diğer taraftan endüstriyel fermantasyonda kullanılan birçok kültür maya türü, özellikle ekmek ve bira mayaları, zengin besin maddesi içeren besiyerlerinde zorlukla spor oluşturmazlar. Tomurcuklanma, bölünme ve sporulasyon ile çoğalma şekilleri dışında mayalarda eşeyli çoğalma da görülmüştür. Bu şekil çoğalmada iki yakın hücrede çıkıntılar (gamet) meydana gelip bunlar birbirlerine temas ettikten sonra bir kanal meydana gelir. Böylece sitoplazma ve çekirdekler karışıp birbiri içinde erirler ve iki hücre tek bir hücre halini alır ki, bu hücreye "zigot" denir. (Pamir, 1985).

**Maya faaliyetine etki eden faktörler arasında şunlar yer alır.**

1. **Su;** Ortamda su varsa maya faaliyeti devam ettirir.
2. **O<sub>2</sub>;** Mayaların aerob olanları hariç, genel olarak mayalar fermentatif metabolizma biçiminde davranırlar. Alkol fermentasyonunda havasız ortamda fermentasyona itilmekte, ekmekçilikte havalı şartlar olduğundan oksidatif olarak faaliyet gösterip çoğalırlar.
3. **Sıcaklık;** Mayalar ideal çalışma sıcaklıkları 28-30°C' dedir. Bazı hallerde soğukta (5-6°C) çalışan alt tabaka mayaları vardır. Düşük sıcaklıklarda ölmeyip faaliyetleri inhibe olur.
4. **Ortamın şeker konsantrasyonu;** Fermentasyon ortamında şeker ve tuz konsantrasyonu fazla olursa maya hücresi suyunu kaybedip tehlikeye girebilir. %30 şeker konsantrasyonunda maya faaliyeti çok azalır. %60'a çıkınca tamamen durur. Bazı mayalar (osmofilik) yüksek konsantrasyona alışkıdır. Buna rağmen yüksek konsantrasyonda faaliyet durur. Salamuralarda da tuz konsantrasyonu fazla olmamalıdır. %15-%16 tuzda fermentasyon durur ve yüksek konsantrasyona dayanıklı mayalarda vardır.
5. **Metabolizma ürünleri:** Maya faaliyeti sonucu oluşan maddeler de maya faaliyetine etki eder. Örneğin %10 alkol konsantrasyonundan sonra maya

faaliyeti engellendiği gibi fermentasyon da durur. Endüstride kullanılan bazı maya suşları %17-18 alkole kadar faaliyetlerine devam edebilmektedirler.

6. **CO<sub>2</sub>:** Kültür mayaları üzerinde çok az etkilidirler, ortamda CO<sub>2</sub> basıncı 8 atmosfere çıkarsa maya faaliyeti durur.
7. **Asitler:** Mayalar organik asitlere dayanıklıdır. Ancak anorganik asitlere dayanıklı değildir. Bunun mayaya etki etmemesi için ortama bazı organik tuzlar ilave edilmelidir.

Tablo 3.1. Spor yapan ve yapmayan mayalar

| <b>Spor yapan mayalar</b>  | <b>Spor yapmayan mayalar grubu</b>         |
|----------------------------|--------------------------------------------|
| Sınıf : Ascomycetes        | Sınıf : Deuteromycetes (Fungi Inıperfecti) |
| Aile : Endomycetaceae      | Aile : Cryptococcaceae                     |
| Cins : Endomycopsis        | Cins : Brettanomyces                       |
| Aile : Saccharomycetaceae  | Cins : Candida                             |
| Cins : Schizosaceharomyces | Cins : Torulopsis                          |
| Cins : Saccharomycodes     | Cins : Trigonopsis                         |
| Cins : Saccharomyces       | Cins : Kloeckera                           |
| Cins : Pichia              | Cins : Cryplococcus                        |
| Cins : Hassenula           | Cins : Pityrosporum                        |
| Cins : Schwanniomyces      | Cins : Rhodotorula                         |
| Cins : Debaryomyces        | Cins : Trichosporon                        |
| Cins : Byssoclamys         |                                            |
| Aile : Sporobolomycetaceae |                                            |
| Cins : Bullera             |                                            |
| Cins : Sporobolomyces      |                                            |

### 3.2.1. *Trichoderma harzianum* 'un özellikleri

*Trichoderma harzianum* bir mantar türüdür. *Trichoderma* Dünya'nın her tarafında geniş bir şekilde yayılmış olup, hemen hemen tüm toprak ve doğal habitatlarda bulunmaktadır. Bu fungus çeşitli bitkilerin kök yüzeylerinden, çürüyen kabuktan, sklerotlardan veya fungusların diğer üreme organlarının üzerinden izole edilebilmektedir (Papavizas, 1985). Günümüze kadar 90'nın üzerinde *Trichoderma* türü belirlenip teşhis edilmiştir (Druzhinina ve Kubicek, 2005; Samuels, 2006). Bu genusun tarım açısından önemi, bazı *Trichoderma* türleri *Fusarium*, *Pythium*, *Rhizoctonia* ve *Sclerotinia* gibi bitki patojenlerine karşı iyi bir antagonistik yeteneğe sahip olmasından ileri gelir. Antagonistik etki *Trichoderma*'lar tarafından antifungal metabolitlerin üretimi, besin ve yer için yarışma ve mikoparazitlik gibi farklı mekanizmalar tarafından olur (Kredics ve dig., 2003). *Trichoderma* suşu aseksüel sporlar üreten bir türdür. *Trichoderma*'nın farklı suşları, birçok patojenik mantarı kontrol eder. *Trichoderma harzianum* çok hızlı üreyebilen filamentli yapıya sahip, saprofit karakterli bir fungustur.

Sistematikteki yeri aşağıda sunulmaktadır.

Alem : Mantarlar

Bölüm : Ascomycota

Sınıf : Sordariomycetes

Takım : Hypocreales

Aile : Hypocreaceae

Cins : *Trichoderma*

Tür : *Trichoderma harzianum* Rifai, (1969)

### 3.2.2. *Saccharomyces cerevisiae*'nin özellikleri

*Saccharomyces cerevisiae* tomurcuklanma ile üreyebilen tek hücreli bir mantar türüdür. Maya olarak isimlendirilmekle birlikte ekmek yapımında ekmek mayası olarak tanınmaktadır. "Saccharomyces" Hücreler elipsoit, silindirik, küresel veya elongat şekildedir. Morfolojik olarak *Saccharomyces cerevisiae* hücreleri 5–10 µm çapında yuvarlak ila ovaldir (Feldmann, 2010). *Saccharomyces cerevisiae* hücresinin

%6-27'sini hücre duvarından ibaret olup içindeki maddelerin miktarları ve çeşitleri türden türe değişebilmektedir. Kitin *Saccharomyces cerevisiae*'de bulunmadığı halde *Pichia* cinsine bağlı maya türlerinde görülmektedir.

*Saccharomyces cerevisiae* hücre zarında bulunan maddeler genellikle protein, yağ ve fosfatlardır. Mayaların yaşlanmış devrelerinde daha fazla sayıda ve büyüklükte olmak üzere hücre plazmasında, bileşiminde tuzlar, asitler, şeker, protein ve daha birçok madde bulunan hücre suyu ile dolu "vakuol" adı verilen boşluklar görülmeye başlar.

Ascomycota bölümündeki mantarlarda üretilen spor taşıyan üreme hücreleri olan askus, çoğu türde mitotik hücre bölünmesiyle üretilen sekiz askospor içerir. Bununla birlikte, bazı cinslerde veya türlerde bir, iki, dört veya dördün katları şeklinde ortaya çıkabilir. Organizmayı alıp, taze besi yerine transfer ederek yapılan kültür uzun süre subkültür halinde bırakıldığı zaman zar yapabilir. Maya, parafinleri ve laktozu parçalayamaz.

Üzüm kabuğundan izole edilmiş olup moleküler ve hücre biyolojisinde model organizmalardan biridir. İnsan biyolojisinde önemli olan birçok protein, ilk olarak mayadaki homologları incelenerek keşfedilmiştir. *Saccharomyces cerevisiae*, meşe ağaçlarının kabuğunda da yıl boyunca bulunabilmektedir. Havada uçmadığı için hareket etmek için bir vektöre ihtiyaç duyar. (Stefanini ve diğ., 2012).

*Saccharomyces cerevisiae* bir maya türü olarak tek hücreli mantar mikroorganizma olarak alkol ve alkollü içkiler, besin mayası, yem ve ekmek üretiminde olmak üzere birçok endüstride kullanılmaktadır. Fermantasyonda en yaygın kullanılan organizma türüdür.

Sistematikteki yeri aşağıda sunulmaktadır.

Alem : Mantarlar

Bölüm : Ascomycota

Sınıf : Saccharomycetes

Takım : Saccharomycetales

Aile : Saccharomycetaceae

Cins : *Saccharomyces*

Tür : *Saccharomyces cerevisiae*

### 3.3. Bakterilerin Genel Özellikleri

Bakteriler tek hücreli mikroorganizmalardır. Bakteri hücresi "prokaryotik" yapıdadır ve hücreler "ökaryotik" hücrelerden çekirdeğin yapısı ve çekirdek bölünmesi ile ayrılırlar. Prokaryotik hücrelerde çekirdeği çevreleyen membran yoktur. Çekirdek bölgesi, doğrudan sitoplazma ile sınırlanmıştır, mitokondri ve kloroplast yoktur.

Bakteriler morfolojik olarak, çomak ve kıvrık, kon ve çomak (vibrio ve spirillum) olabildiği gibi bazıları ipliksi veya küf-benzeri görünüştedir. Bazılarında flagellum denilen hareket organları bulunur. Bakteriler hücrenin enlemesine bölünmesiyle çoğalmaktadır. Parazit veya saprofit özellik gösterebilmektedir. Beslenme yönünden heterotrof iken, bazıları ototrof olarak beslenir. Bakteriler, organik maddeleri fermentasyon yoluyla canlıların kullanabilecekleri maddelere dönüştürdüğü için ekonomik önem kazanmışlardır. Fermentasyon işleminde önemli olan, bakterilerin bu metabolizma faaliyetleridir (Pamir, 1985).

Akman (1964)'a göre, bakteriler en çok doğada toprakta bulunur. Bununla birlikte havada, sularda ve rutubetli yerlerde fazlasıyla bulunmaktadır. Bakteriler aynı zamanda canlı organizmalar üzerinde ve metabolizmasında bulunurlar. Ayrıca insanların ve hayvanların solunum yollarında ve bağırsak florasını bulunan en önemli mikroorganizmalardır.

#### 3.3.1. *Bacillus subtilis*'in özellikleri

Saman basili veya ot basili olarak da bilinen *Bacillus subtilis*, geniş getiren hayvanların, insanların ve deniz süngerlerinin toprak ve gastrointestinal kanalında bulunan gram pozitif, katalaz pozitif bir bakteridir. Fakültatif bir anaerob olduğuna dair kanıtlar olsa da *Bacillus subtilis* tarihsel olarak zorunlu aerob olarak sınıflandırılmıştır.

*Bacillus subtilis*, bakteri ve bakteri kromozom replikasyonu ve hücre farklılaşmasını incelemek için en iyi çalışılan gram pozitif bakteriler arasında model organizma olarak kabul edilir. Model organizma olarak *Bacillus subtilis*, gram pozitif spor oluşturan bakterilerin temel özelliklerini ve özelliklerini keşfetmeye yönelik laboratuvar çalışmalarında yaygın olarak kullanılmaktadır. Dayanıklı endospor oluşumunun altında yatan temel ilkeler ve mekanizmalar, *Bacillus subtilis*'teki spor oluşumu çalışmalarından ortaya çıkarılmıştır (Earl ve diğ., 2008). Enzim üretiminde

biyoteknoloji şirketleri tarafından endüstriyel ölçekte kullanılmaktadır (Errington ve Aart, 2020). Yüzey bağlama özellikleri sayesinde, toryum ve plütonyum gibi radyonüklid atıkların güvenli bertarafında rol oynamaktadır. Mükemmel fermentasyon özelliklerinden dolayı, yüksek ürün verimleri (litrede 20 ila 25 gram) ile amilaz ve proteazlar gibi çeşitli enzimler üretmek için kullanılır (Van Dijl ve Hecker, 2013). *B. subtilis* hücreleri tipik olarak çubuk şeklindedir ve yaklaşık 4–10 mikrometre ( $\mu\text{m}$ ) uzunluğunda ve 0.25–1.0  $\mu\text{m}$  çapındadır ve sabit fazda hücre hacmi yaklaşık 4.6 fL'dir (Yu ve diğ., 2014).

*Bacillus* cinsine ait türler amilolitik ve proteolitik enzimlerin, organik asitlerin, B<sub>12</sub> vitamininin üretiminde kullanılmaktadır. Aşırı sıcaklık ve kuruma gibi çevresel koşullarda hayatta kalmak için endospor oluşturabilmektedir (Madigan ve Martinko, 2005). *Bacillus subtilis* fakültatif bir anaerobdur ve 1998 yılına kadar zorunlu bir aerob olarak kabul edilmiştir (Nakano ve Zuber, 1998). *Bacillus subtilis*, sıvılarda hızlı hareket etme yeteneği veren kamçıya sahiptir.

Sistematikteki yeri

Alem : Bakteriler

Bölüm : Bacillota

Sınıf : Bacilli

Takım : Bacillales

Aile : Bacillaceae

Cins : *Bacillus*

Tür : *Bacillus subtilis* (Ehrenberg 1835) Cohn, 1872

Zorunlu bir aerob, büyümek için oksijene ihtiyaç duyan bir organizmadır (Prescott, 1996). Hücresel solunum yoluyla, bu organizmalar enerji elde etmek için şekerler veya yağlar gibi maddeleri metabolize etmek için oksijen kullanırlar. Bu tür solunumda oksijen, elektron taşıma zinciri için terminal elektron alıcısı olarak hizmet eder. Aerobik solunum, fermentasyon veya anaerobik solunumdan daha fazla enerji verme avantajına sahiptir ancak zorunlu aeroblar yüksek düzeyde oksidatif enerjiye maruz kalırlar. Organizmalar arasında hemen hemen tüm hayvanlar, çoğu mantar ve birkaç bakteri zorunlu aerobdur (Hogg, 2005). Zorunlu aerobik bakteri örnekleri arasında

*Pseudomonas aeruginosa* (Gram-negatif), *Bacillus* (Gram-pozitif) yer almaktadır (Ryan ve Ray, 2004). Mayalar dışında çoğu mantar zorunlu aerobtur. Ayrıca, hemen hemen tüm algler zorunlu aeroblardır (Prescott, 1996).

### 3.3.2. *Lactobacillus delbrueckii*'nin özellikleri

*Lactobacillus*, mikroaerofilik, gram pozitif ve fakültatif anaerobik bakterilerin cinsidir (Beijerinck, 1901). *Lactobacillus* şekerleri ve laktozu laktik aside dönüştürdükleri için laktik asit bakterileri denir.

Sistematikteki yeri

Âlem : Bacteriler

Şube : Firmicutes

Sınıf : Bacilli

Takım : Lactobacillales

Aile : Lactobacillaceae

Cins : *Lactobacillus*

Tür : *Lactobacillus delbrueckii* (Leichmann 1896) Beijerinck, 1901

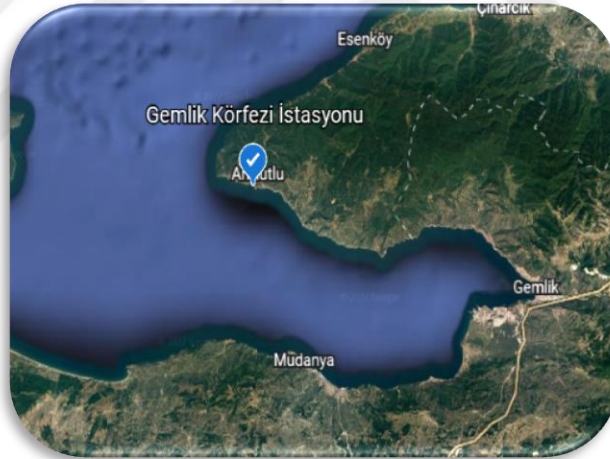
Dünya çapında gıdaların fermentasyonu için en önemli mikroorganizmalar laktik asit bakterileridir. Probiyotik olarak laktik asit bakterileri, kolesterolün düşürülmesi, bağışıklık artırılması, kanser önleme ve diyarenin hafifletilmesini içeren sağlıkla ilgili tanıtım etkileri için yoğun uluslararası araştırmanın odak noktası haline gelmiştir (De Vrese ve Schrezenmeir, 2008).

Probiyotik mikroorganizmaların en önemli grubunu laktik asit bakterileri oluşturmaktadır. Bunların içerisinde *Bifidobacterium* ve *Lactobacillus* türleri en yaygın olarak kullanılanlardır. Ayrıca probiyotik ürünlerin hazırlanmasında bazı bakteri cinsleri ile maya ve küf türlerinden de yararlanılmaktadır (Uymaz, 2010; Iranmanesh ve diğ., 2014; Amutha ve Kokila, 2015). *Lactobacillus spp.* *Lactobacillus* türü bakteriler, *Lactobacillaceae* familyasına aittir. *Lactobacillus spp.*'ler anaerobik, Gram (+) bakterilerdir ve spor oluşturmazlar. *Lactobacillus* türüne ait probiyotik kültürler arasında *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus lactis* ve

*Lactobacillus reuteri* türlerine ait suşlar gelmektedir. Bu mikroorganizmalar laktoz intoleransının hafifletilmesi, immün sistemin kuvvetlendirilmesi, kanserin önlenmesi ve kolesterol seviyelerinin düşürülmesi gibi probiyotik özelliklere sahiplerdir (Naidu et al., 1999; Soomro et al., 2002).

### 3.4. Örneklem Mevkiinin Coğrafik ve Oşinografik Özellikleri

Gemlik Körfezi istasyonu; Marmara Denizi'nin güneydoğusunda yer alan Gemlik Körfezi'nin uzunluğu 36 km ve en derin noktası 113 metredir (Babayev, 2015). Gemlik Körfezi hem Ege Denizi'ne, hem de Karadeniz'e bağlanmaktadır (Sunlu ve Özdemir, 1999). Karadeniz'den gelen yüzey akıntısı ve kıyı yapısının etkisi ile ters akıntılara sahiptir (Artüz, 2002). Marmara denizinden gelen akıntı nedeniyle hidrodinamik ve biyokimyasal yönden etki altındadır. Düşük tuzluluk oranına sahip Karadeniz suları yüzeyden geçerek Ege denizine, dipten geçen yüksek tuzluluk oranına sahip Akdeniz suları ise Karadeniz'e ulaşır (Peker, 2007). (Şekil 3.2.)



Şekil 3. 2. Gemlik Körfezi Armutlu Mevkii

### 3.5. Metot

#### 3.5.1. Örneklerin toplanması ve analiz öncesi hazırlık aşamaları

##### 3.5.1.1. Örneklerin toplanması

Araştırmada ana materyal olarak bilimsel adı *Codium fragile* olan kırılğan çatal alg olarak bilinen makro alg türü kullanılmıştır. Armutlu mevkiinden *Codium fragile* örneği ve deniz suyu numunesi alınmıştır. İstasyondan alınan numuneler, Yalova Üniversitesi Armutlu Meslek Yüksekokulu Deniz Bilimleri Gıda Analiz

Laboratuvarı'na uygun koşullarda getirilmiş ve *Codium fragile* tazeliğini koruyarak çalışmalara başlanmıştır. İstasyondan, pH, sıcaklık ve tuzluluk ölçümleri yapılmış ve veriler değerlendirilmek üzere kaydedilmiştir. Ayrıca amonyum, nitrit, nitrat ve fosfat tayini için su numunesi alınarak laboratuvara sevki sağlanmıştır. (Şekil 3.3.)



Şekil 3. 3. *Codium fragile* ve deniz suyu numunesi alımı

#### 3.5.1.2. Analiz öncesi hazırlık aşamaları

İstasyondan alınan alg örnekleri önceliklere temiz su ile yıkanmıştır. Algler üzerinde taşıdıkları sucul organizmalar, kum tanecikleri ve epifit bitkiler gibi istenmeyen canlılardan temizlenmiştir. Temizlenen algler üzerindeki kalan su kurutma kâğıdı ile ortamdan uzaklaştırılmıştır. Belirlenen istasyonlardaki yaş *Codium fragile* örnekleri hassas terazide tartılarak ağırlıkları belirlenmiştir. Ağırlıkları bilinen yaş makro alg örnekleri kurutma işlemi için sabit hava ve sıcaklık değerlerini koruyabilen bir etüvde ağırlığı değişkenlik göstermeyen duruma varana kadar 40 °C'de 24 saat boyunca kurutma işlemi uygulanmıştır. Kurutulmuş *Codium fragile* örnekleri hassas terazide tartım işlemi yapılarak sabit ağırlıkları belirlenmiştir. Analizlerde kullanılmak üzere kurutulmuş *Codium fragile* örnekleri karıştırıcı yardımı ile un haline getirilmiştir. Daha sonra analizlerde ve fermentasyonda kullanılmak üzere -18°C saklama koşullarında muhafaza edilmiştir. (Şekil 3.4.)



Şekil 3. 4. Yaş *Codium fragile* kurutma aşaması

### 3.5.2. Fermente alg yemi katkı maddesi ve hazırlama yöntemi

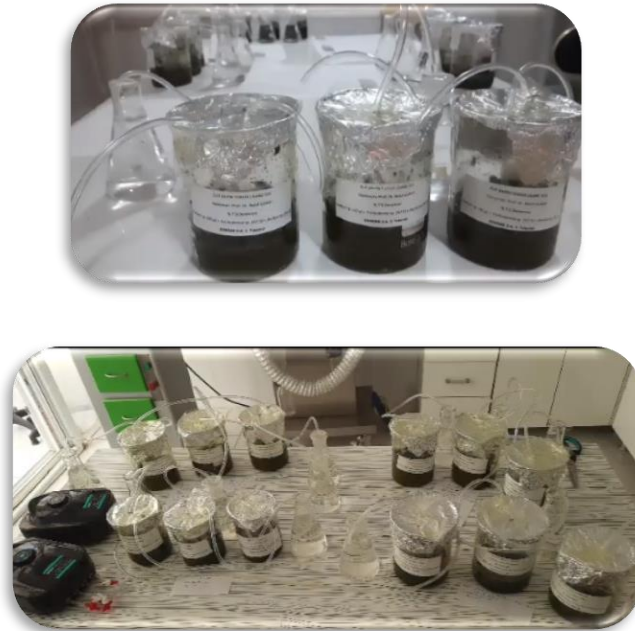
1. Bir birim *Codium* alg unu alınarak üzerine 12 birim temiz su eklenmiştir.
2. Alg unu ve su karışımı 5 saat bekletilerek her yarım saatte bir karıştırılmıştır.
3. Karışım 5 saat sonunda süzölmüştür ve **Kalıntı I** olarak adlandırılmıştır.
4. Kalıntı I üzerine, 5 birim alg unu ve 8 birim su eklenmiştir.
5. Kalıntı I, 30 dakika bekletildikten sonra süzölerek, süzöntü **Kalıntı II** olarak adlandırılmıştır.
6. Kalıntı II üzerine, 5 cm taze *Codium fragile* alg parçası eklenmiş ve rondo ile püre haline getirilmiştir.

7. Kalıntı II püresi üzerine, ilave edilen alg ununun %3.75 ve % 7.5'i oranında *Trichoderma harzianum* Rifai, (1969) ve *Saccharomyces cerevisiae* maya türleri eklenerek 72 saat süren anaerobik koşullarda fermente edilmiş olup **Fermentasyon I** sürecine maruz bırakılmıştır (Şekil 3.5.) (Şekil 3.6).

8. Fermentasyon I süresi bitiminde, prokaryotik bakteri türlerinden *Bacillus subtilis* (Ehrenberg, 1835) Cohn, 1872 ve *Lactobacillus delbrueckii* (Leichmann, 1896) türleri eklenerek 72 saat süren aerobik fermentasyon ortamı oluşturularak **Fermentasyon II** sürecine maruz bırakılmıştır.



Şekil 3. 5. Fermentasyon numuneleri



Şekil 3. 6. Fermentasyon düzeneği

Denemede, 3 tekerrürlü fermentasyon üniteleri kurulmuştur. Fermentasyon üniteleri; Grup 1 A, Grup 1 B, Grup 2A ve Grup 2B olarak isimlendirilmiştir.

Kontrol Grubu: *Codium fragile* 40 °C’de kurutularak un haline getirilmiştir.

Grup 1A : *Trichoderma harzianum* Rifai, (1969) ve *Bacillus subtilis* %3.75 oranında katılmıştır.

Grup 1B : *Trichoderma harzianum* Rifai, (1969) ve *Bacillus subtilis* %7.5 oranında katılmıştır.

Grup 2A : *Saccharomyces cerevisiae* ve *Lactobacillus delbrueckii* %3.75 oranında katılmıştır.

Grup 2B : *Saccharomyces cerevisiae* ve *Lactobacillus delbrueckii* %7.5 oranında katılmıştır.

Alg katkılı yem katkı maddesi: Deneme gruplarında 30 °C’de 7 gün fermentasyona maruz kalan *Codium fragile*, fermentasyon süreci sonunda 80 °C’de 1 saat kurutulmuştur ve öğütülerek un haline getirilmiştir. Tüm gruplar analiz edilene kadar -18 °C’ muhafaza edilmiştir.



Şekil 3. 7. Örneklerin kurutulması ve un haline gelişi

#### 3.5.2.1. Deneme dizaynı

**Grup 1A**'da, alg ununun %3.75'i oranında *Trichoderma harzianum* ilave edilerek, Fermentasyon I aşamasında 72 saat mayalanması sağlanmıştır. 72 saat sonunda alg ununun %3.75'i oranında *Bacillus subtilis* ilave edilerek havalandırma ile oda sıcaklığında Fermentasyon II aşamasında ise 72 saat daha fermente edilmiştir. “*Codium fragile* + *Trichoderma harzianum* + *Bacillus subtilis*” karışımı elde edilerek kurutmaya tabi tutulmuştur ve öğütülerek un haline getirilmiş ve “fermente alg katkılı yem hammaddesi” elde edilmiştir. (Şekil 3.7.)

**Grup 1B**'de, alg ununun %7.5'i oranında *Trichoderma harzianum* ilave edilerek, Fermentasyon I aşamasında 72 saat mayalanması sağlanmıştır. 72 saat sonunda alg ununun %7.5'i oranında *Bacillus subtilis* ilave edilerek havalandırma ile oda sıcaklığında Fermentasyon II aşamasında ise 72 saat daha fermente edilmiştir. “*Codium fragile* + *Trichoderma harzianum* + *Bacillus subtilis*” karışımı elde edilerek

kurutmaya tabi tutulmuştur ve öğütülerek un haline getirilmiş ve “fermente alg katkılı yem hammaddesi” elde edilmiştir. (Şekil 3.7.)

**Grup 2A**'da, alg ununun %3.75'i oranında *Saccharomyces cerevisiae* ilave edilerek, Fermentasyon I aşamasında 72 saat mayalanması sağlanmıştır. 72 saat sonunda alg ununun %3.75'i oranında *Lactobacillus delbrueckii* ilave edilerek havalandırma ile oda sıcaklığında Fermentasyon II aşamasında ise 72 saat daha fermente edilmiştir. “*Codium fragile* + *Saccharomyces cerevisiae* + *Lactobacillus delbrueckii*” karışımı elde edilerek kurutmaya tabi tutulmuştur ve öğütülerek un haline getirilmiş ve “fermente alg katkılı yem hammaddesi” elde edilmiştir. (Şekil 3.7.)

**Grup 2B**'de, alg ununun %7.5'i oranında *Saccharomyces cerevisiae* ilave edilerek, Fermentasyon I aşamasında 72 saat mayalanması sağlanmıştır. 72 saat sonunda alg ununun %7,5'i oranında *Lactobacillus delbrueckii* ilave edilerek havalandırma ile oda sıcaklığında Fermentasyon II aşamasında ise 72 saat daha fermente edilmiştir. “*Codium fragile* + *Saccharomyces cerevisiae* + *Lactobacillus delbrueckii*” karışımı elde edilerek kurutmaya tabi tutulmuştur ve öğütülerek un haline getirilmiş ve “fermente alg katkılı yem hammaddesi” elde edilmiştir. (Şekil 3.7.)

Fermentasyon bitiminde elde edilen tüm deneme gruplarından elde edilen kalıntılar, ayrı ayrı olmak üzere, 60 gözenekli elekten geçirilerek süzölmüştür. Süzülen kalıntı, 80 °C'de kurutma koşulları fırında 60 dakika kurutulduktan sonra öğütülmüş ve her deneme grubuna ait alg katkılı yem katkı maddesi elde edilmiştir. Deneme gruplarından elde edilen alg katkılı yem katkı maddesi örnekleri tartılarak ambalajlanmıştır (Şekil 3.8.).

Uygulanan biyolojik fermentasyon yöntemi ile, besinlerin metabolik süreci için alglerin parçalanmasında mikroorganizmalarının kullanılması, alglerin makromoleküllerinin küçük moleküllere, suda çözünen maddelere dönüştüreceği beklenmiştir.

Fermentasyon I aşamasında, *Codium fragile* hücre duvarındaki selülozun, *Trichoderma harzianum* ile ayrıştırılması ve hücre duvarı tahrip olarak besin maddelerinin serbest kalması hedeflenmiştir.

Fermentasyon II aşamasında, bakteri tarafından biyoaktif maddelerin üretilmesi beklenmiştir. Aktif maddelerin patojen bakterilerin gelişimini inhibe etmesi ve

hücresel ve hümorale bağışıklık fonksiyonunu arttırması yolu ile bağışıklığın geliştirilmesi beklenmektedir. Mikroorganizmalar tarafından salgılanan amilaz, proteaz, lipaz, selüloz enzimleri, sindirim enzimleri ve besin maddesinin bozulmasını teşvik etmede rol oynadığı için balık yemlerinin emilimini ve kullanımını daha kapsamlı hale getirmesi amaçlanmaktadır.



Şekil 3. 8. *Codium fragile* tartım aşaması ve alg unu

### 3.6. Besin Kompozisyonu Analizleri

#### 3.6.1. Nem analizi

Nem analizi için istasyonlardan alınan *Codium fragile* ve fermantasyondan sonraki aşamada alınan örnekler alüminyum kaplara alınarak tartımları yapılmıştır. 40 °C’deki fan destekli etüvde 24 saat boyunca numuneler sabit ağırlığa gelene kadar kurutma işlemi uygulanmıştır. Sabit ağırlığa ulaşan *Codium fragile* örnekleri hassas terazide

kuru ağırlıkları ölçülmüştür. Yaş ve kuru ağırlıkları farkları alınmıştır. Nem değeri hesaplanırken aşağıdaki formül kullanılmıştır.

$$\text{Nem değeri (\%)} = (\text{İlk tartım} - \text{Son tartım}) / \text{Örnek ağırlığı} \times 100$$

### 3.6.2. Protein analizi

Ham protein tayini için Kjeldahl yöntemi kullanılarak ölçülmüştür. Numunelerden 3 tekerrürlü olarak analiz yapılmıştır. Kjeldahl metodunda belirtilen üç aşama uygulanmıştır, yaş yakma, distilasyon ve titrasyon. *Codium fragile* örnekleri kurutma işleminden sonra un haline getirilmiştir. Hassas terazide 0.5 g *Codium fragile* örnekleri tartılarak, 1 adet Kjeldahl tableti ile 15 mL H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> Kjeldahl tüpleri içerisine konmuştur.

Aynı zamanda numune tüpleriyle birlikte kör örnek hazırlanmış, numune içermeyen tüplere aynı miktarlarda tablet ve sülfürik asit ilavesi yapılmıştır. İlk aşama olarak kjeldahl tüpleri 275°C’de 60 dakika ardından da 380°C’de 150 dakika yakılmıştır. Yaş yakma işleminden sonra tüpler kapalı havalandırma dolabına alınarak soğumaya bırakılmıştır. İkinci aşama distilasyona geçilmiştir ünitesinin girişine Kjeldahl tüpü, çıkışına 25 mL doymuş borik asit çözeltisi bulunan erlene numune toplanması için yerleştirilmiştir. Distilasyon ünitesinde saf su ve nötralize edilmiş %40’lık Sodyum Hidroksit (NaOH) çözeltisi ile seyreltilir. Üçüncü aşamada titrasyona geçilir distilasyon işlemi bitmiş erlen 0.1 mol HCl ile titrasyonu yapılır. Titrasyon işlemi erlenin rengi pembe renk oluşuncaya kadar devam eder ve hidroklorik asit (HCl) sarfiyatı belirlenerek not edilmiştir. Aşağıdaki formül kullanılarak ham protein oranı hesaplanmıştır. (Şekil 3.9.)

$$\text{Ham Protein} = [\text{titrasyonda harcanan} - \text{kör örnek}] \times 0,1 \times 14,007 \times 6,25 / \text{örnek ağırlığı} \times 100)$$

eşitliğine göre hesaplanacaktır.

Eşitlikte yer alan;

0,1 = HCl mol olarak değerini,

14,007 = Nitrojenin molekül kütlesi

6,25 = örneğin nitrojen ve protein içeriği arasındaki ilişkiyi belirleyen sabit katsayıdır.

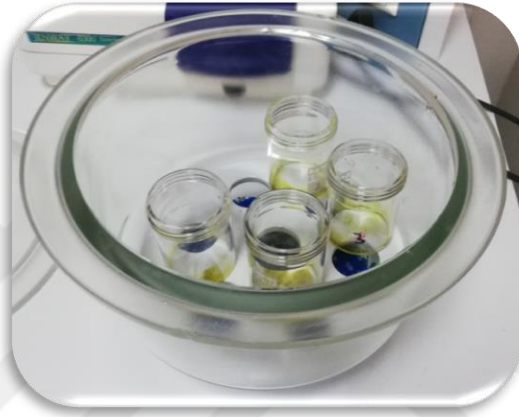


Şekil 3. 9. Yaş yakma ünitesi, distilasyon aşaması ve titrasyon aşaması

### 3.6.3. Yağ analizi

Denemede kullanılan numunelerin yağ içeriği soksalet ekstrasyon yöntemiyle otomatik yağ tayin cihazı kullanılarak tespit edilmiştir. Numuneler 3 g tartılarak soksalet kartuşuna yerleştirilecek ve 60 mL petrol eteri ile yaklaşık 120 dakika boyunca ekstraksiyon ve sifonlama işlemine uygulanmıştır. Yağ baloncukunda toplanan eter, buharlaşma yoluyla uzaklaştırılmıştır. (Şekil 3.10.)

% Ham yağ = Yağ balonunda biriken yağ miktarı (g) / Örnek ağırlığı (g) x 100 olarak hesaplanır.



Şekil 3. 10. Yağ analiz aşamaları

#### 3.6.4. Kül analizi

Numunelerin kül analizi için yüksek sıcaklıklara dayanıklı bir kroze kullanılır. İlk önce krozenin ağırlığı ölçülür ve içine yaklaşık 0.5 g grup de kullanılan numune tartılarak konur. Bir sonraki aşamada ise 525°C’de 8 saat kül fırınında yakma işlemi uygulanır. Yakma işlemi bittikten sonra soğumaya bırakılır ve hassas terazide tartımları yapılır (Şekil 3.11.)

$$\% \text{ Ham kül içeriği} = \text{Porselen kaptaki ağırlık değişimi (g)} / \text{Örnek ağırlığı (g)} \times 100$$



Şekil 3. 11. Kül analizi aşamaları

### 3.6.5. Selüloz analizi

Öğütülmüş ve kurutulmuş numune, numune içerisindeki yağın uzaklaştırılması amacıyla asetonda bekletilerek süzülür. Ham selüloz ve karbonhidratları çözmek için arka arkaya belirli konsantrasyonlardaki sülfürik asit ve sodyum hidroksit ile kaynatılır. Süzme işleminden sonra kalması muhtemel yağın asetonla yıkanarak süzülür, kalıntı kurutulur, tartılır ve yakılır. Yakma sonucunda görülen ağırlık farkından yararlanılarak ham selüloz miktarının hesaplanması prensibine dayanır.

Uygun partikül büyüklüğüne sahip örnekten tavsiye edilen  $1g \pm 0.2$  mg hassasiyetle, kurutulmuş cam kruzelerin içerisine tartılır (a). Üzerine filtrasyonu kolaylaştırmak amacıyla 1 g Celite tartılır. Yağ içeriği %10'dan fazla olan örneklerde analizden önce yağın alınması gerekmektedir. Yağ oranı %1'in altında olan numunelerde yağın alınmasına gerek yoktur. Analize başlamadan önce soğutucu düzeneğin musluğunun açık olmasına dikkat edilerek Fibertec 2010 Hot Extractor cihazı ve Fibertec 1021 Cold Extractor cihazı açık konumuna getirilir.

#### Soğuk ekstraksiyon 1. aşama

Kruzeler Fibertec 1021 Cold Extractor cihazına yerleştirilir ve üzerine 25 ml aseton konularak 10 dakika bekletilir. Bu süre sonunda filtre edilerek süzülür. Bu işlem 3 kez tekrarlanır.

#### Sıcak ekstraksiyon 1. aşama

Kruzeler Fibertec 2010 Hot Extractor cihazına yerleştirilir, üzerine daha önceden ısıtılmış %1,25'lik  $H_2SO_4$  çözeltisinden 150 ml konulur ve üzerine köpürmeyi engellemek amacıyla 2-4 damla 1-Octanol damlatılır. Cihazın ısıtma düğmesi açılarak

kaynamaya bırakılır. Kaynamaya başladıktan sonra cihazın zaman ayarlama düğmesine basılarak 30 dakika kaynamaya bırakılır. Bu sürenin sonunda ısıtma düğmesi kapatılır ve vakum uygulanarak çözeltinin filtrasyonu sağlanır. Daha sonra her seferinde yaklaşık 30 ml deiyonize saf su ile yıkanarak filtre edilir. En son filtrasyonda kruze içerisinde su kalmamasına özen gösterilir.

### **Sıcak ekstraksiyon 2. aşama**

1. aşamadan sonra üzerine daha önceden ısıtılmış %1,25'lik NaOH çözeltisinden 150 ml konulur ve üzerine köpürmeyi engellemek amacıyla 2-4 damla 1-Octanol damlatılır. Cihazın ısıtma düğmesi açılarak kaynamaya bırakılır. Kaynamaya başladıktan sonra cihazın zaman ayarlama düğmesine basılarak 30 dakika kaynamaya bırakılır. Bu sürenin sonunda ısıtma düğmesi kapatılır ve vakum uygulanarak çözeltinin filtrasyonu sağlanır. Daha sonra her seferinde yaklaşık 30 ml deiyonize saf su ile yıkanarak filtre edilir. En son filtrasyonda kruze içerisinde su kalmamasına özen gösterilir. Daha sonra kruzeler Fibertec 2010 Hot Extractor cihazından çıkarılır.

### **Soğuk ekstraksiyon 2. aşama**

Kruzeler Fibertec 1021 Cold Extractor cihazına yerleştirilir ve üzerine 25 ml aseton konularak beklemeden filtre edilir. Bu işlem 3 kez tekrarlanır. Kruzeler Fibertec 1021 Cold Extractor cihazından çıkarılır.

### **Kurutma ve Yakma Aşaması**

Kruzeler Fibertec 1021 Cold Extractor cihazından çıkarıldıktan sonra  $105\pm^{\circ}\text{C}$ 'de 5 saat,  $130\pm^{\circ}\text{C}$ 'de 2 saat etüvde kurutulur. Bu süre sonunda Kruzeler desikatöre alınır, oda sıcaklığına gelmesi beklenir ve tartımı yapılır (b).

Tartımı yapılan kruzeler kül fırınına yerleştirilir ve  $525\pm 25^{\circ}\text{C}$ 'de en az 3 saat yakmaya bırakılır. Bu süre sonunda desikatöre alınır, oda sıcaklığına gelene kadar beklenir ve tartımı yapılır (c).

W1: Kruze + kalıntı, g

W2: Kruze + kül kalıntısı, g- W3: Numune miktarı,

### **3.6.6. Antioksidan aktivitesi**

*C. fragile* örneklerinin serbest radikal temizleme kapasitesi, serbest radikal 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) kullanılarak belirlenecektir (Hatano vd., 1988; Yu vd., 2005).

Çalışma kapsamında *C. fragile* örnekleri %50 / %25 / %12,5 oranında seyreltilmiş (40:40, 60:20, 70:10 oranında seyreltme) ve bunların her birine 120 uL DPPH çözeltisi ilave edilecektir. Sonuçlar, 517 nm optik yoğunlukta absorbans değerinde bir düşüş göstermiş ve eğer bileşik renk olarak daha açık hale gelirse, numunenin radikal temizleyici olduğunu gösterir. Sonuçlar DPPH Radikal Temizleme Aktivitesi % ve IC50 değerinin hesaplanmasıyla değerlendirilecektir.

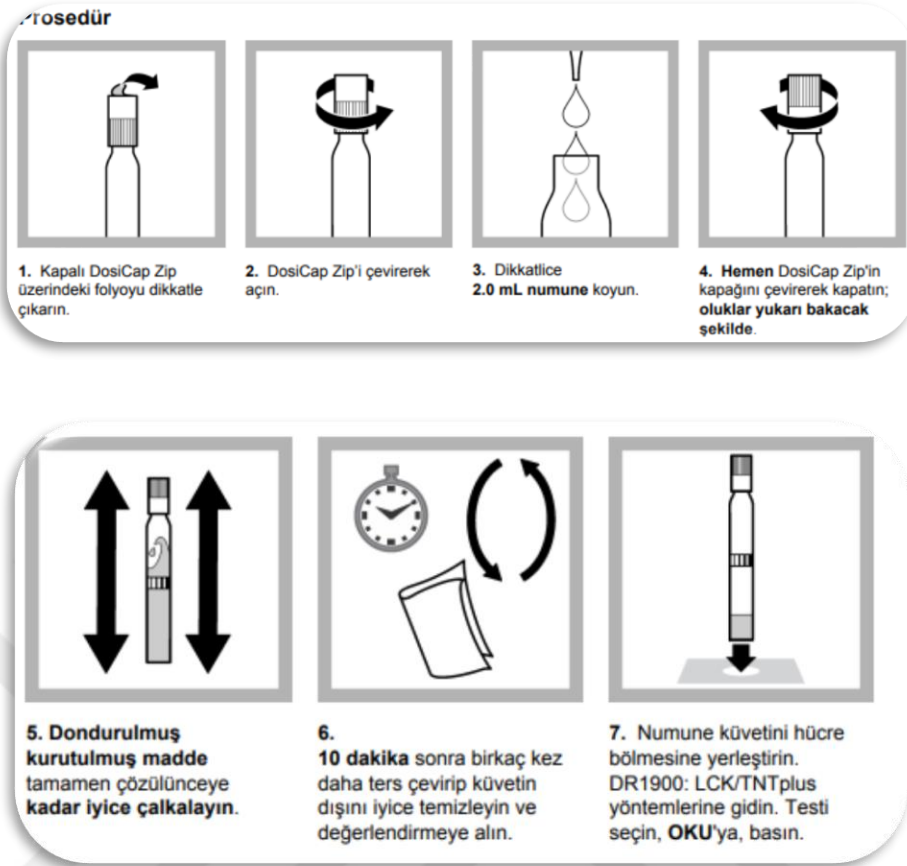
DPPH Radikal Süpürme Aktivitesi% =  $\frac{\text{Kontrolün Absorbansı} - \text{Numunenin Absorbansı}}{\text{Kontrolün Absorbansı}} \times 100$

**Toplam oksidan seviyesi**, hidrojen peroksit kullanılarak kalibre edilmiştir. Bir oksidan varlığında demir (Fe) iyonu oksitler şelat kompleksi, ferrik iyon halindedir. Oksidasyon reaksiyonunun yoğunluğu reaksiyon ortamında oksidanların varlığına bağlı olarak artar. Ferrik iyon, asidik ortamda renkli bir kompleks oluşturur Renk yoğunluğu spektrofotometrik olarak ölçülür. Absorbans değeri, numunedeki oksidan değerini gösterir. Elde edilen sonuçlar TOS değerini belirlemek için mmol H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> Eşd. Bu çalışmada Rel Assay Diagnostics-TOS Assay Kit kullanılacaktır.

### 3.7. Deniz Suyu Fiziko-Kimyasal Analizleri

#### 3.7.1. Nitrit

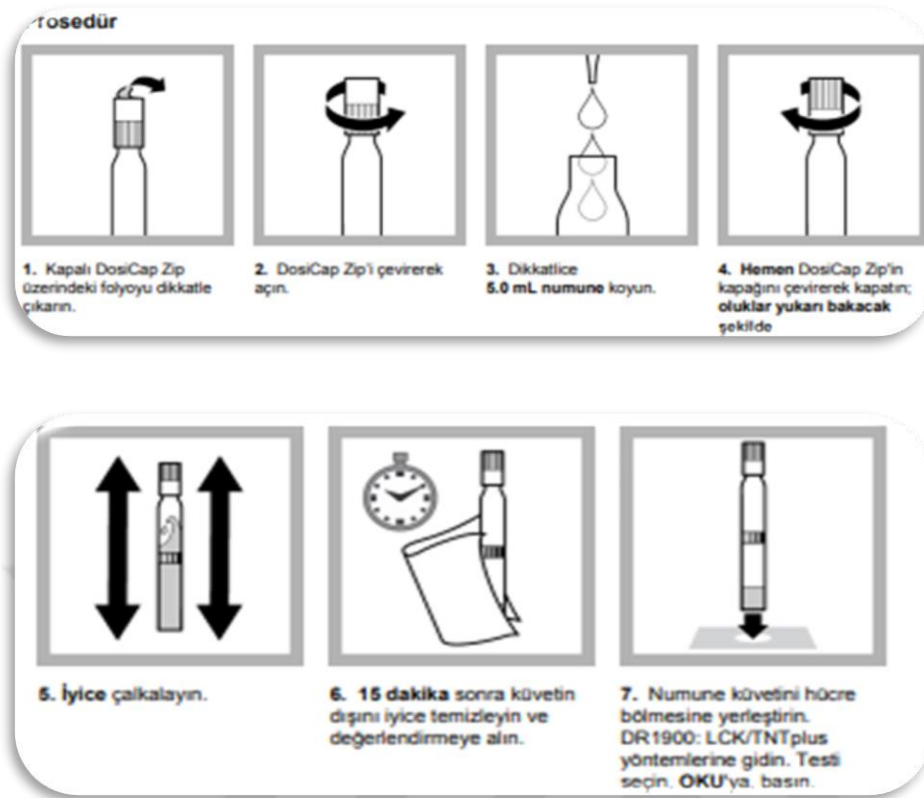
Hach lange cihazı ile Nitrit küvet testi, 0,015-0,6 mg L<sup>-1</sup> NO<sub>2</sub>-N kullanılmıştır. Laboratuvara getirilen su numunesi için cihazın analiz metodunda belirtilen prosedür aşamaları uygulanmıştır. İlgili firmadan temin edilen test kitleri ideal saklama ortam sıcaklığı: 15–25 °C olan uygun ortamda muhafaza edilmiştir. Ayrıca su numunesi ve reaktiflerin sıcaklığı 15–25 °C olacak şekilde laboratuvara getirilmiş ve muhafaza edilmiştir. Analiz prosedürüne göre ölçümü yapılacak olan su numunesinin pH'ı 3–10 arasında olması istenmektedir. Bu sebepten dolayı su numunesinin önceden pH ölçümü yapılmıştır uygun değerde olduğu tespit edilmiştir. (Şekil 3.12.)



Şekil 3. 12. Nitrit analiz prosedürü

### 3.7.2. Amonyum

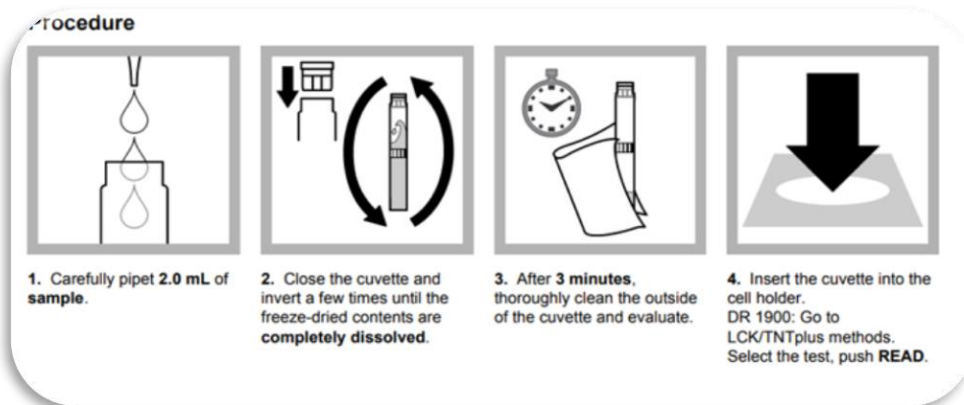
Hach lange cihazı ile amonyum küvet testi,  $0,015-2,0 \text{ mg L}^{-1} \text{ NH}_4\text{-N}$  kullanılmıştır. Laboratuvara getirilen su numunesi için cihazın analiz metodunda belirtilen prosedür aşamaları uygulanmıştır Test kitleri için uygulanan saklama koşulları  $15-25 \text{ }^\circ\text{C}$  dir. Şekil 3.13. de ki aşama uygulanarak ölçümü sağlanmıştır. Ayrıca su numunesi ve reaktiflerin sıcaklığı  $15-25 \text{ }^\circ\text{C}$  olacak şekilde laboratuvara getirilmiş ve muhafaza edilmiştir. Analiz prosedürüne göre ölçümü yapılacak olan su numunesinin pH'ı 3–10 arasında olması istenmektedir. Bu sebepten dolayı su numunesinin önceden pH ölçümü yapılarak kontrolü sağlanmıştır.



Şekil 3. 13. Amonyum analiz prosedürü

### 3.7.3. Fosfat

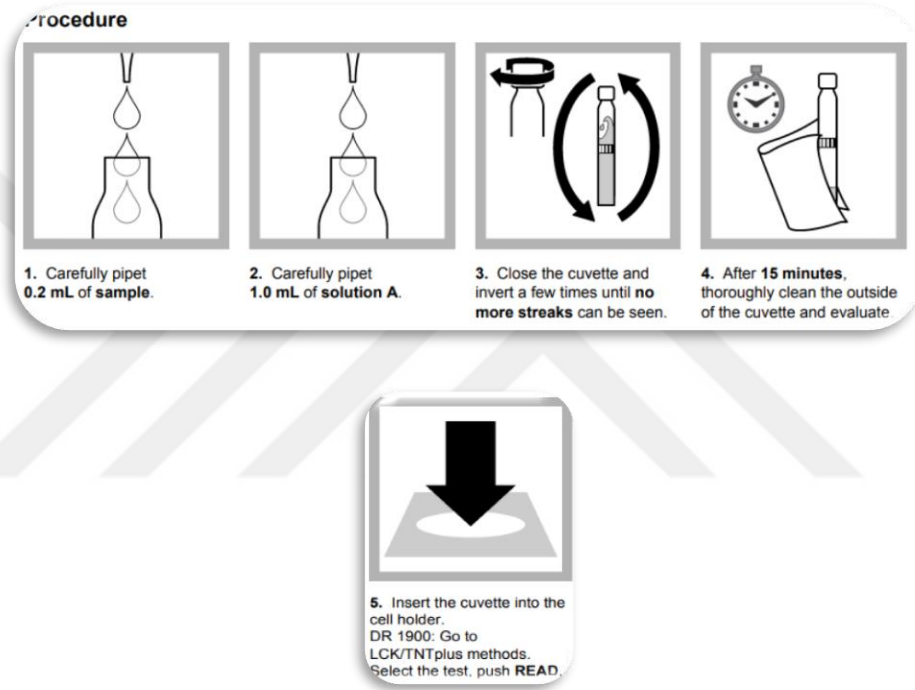
Hach lange cihazı ile fosfat küvet testi, 0,05-1,5 mg L<sup>-1</sup> PO<sub>4</sub>-P kullanılmış ve Şekil 3.14.' da belirtilen aşamalar takip edilmiştir. Kitlerin saklama ortam sıcaklığı: 15–25 °C olan ortamda saklanmıştır. Ayrıca su numunesi ve reaktiflerin sıcaklığı 15–25 °C olacak şekilde sevki ve muhafazası sağlanmıştır. Ölçüm esnasında su numunesinin pH'ı 3–10 arasında olmasına özen gösterilmiştir.



Şekil 3. 14. Fosfat analiz prosedürü

#### 3.7.4. Nitrat

Hach lange cihazı ile nitrat küvet testi, 0,23-13,50 mg L<sup>-1</sup> NO<sub>3</sub>-N kullanılmıştır. Su numunelerinden cihazın analiz Şekil 3.15.' de ki yöntem aşamaları kullanılmıştır. Test kitlerinin saklama ortam sıcaklığı: 15–25 °C (59–77 °F) olan uygun ortamda tutulmuştur. Ayrıca su numunesi ve reaktiflerin sıcaklığı 15–25 °C (59–77 °F) olarak laboratuvara getirilmiştir. Analiz prosedürüne göre ölçümü yapılacak olan su numunesinin pH'ı 3–10 arasında olması istenmektedir. Bu sebepten dolayı su numunesinin önceden pH ölçümü yapılarak değerlerine bakılmıştır.



Şekil 3. 15. Nitrat analiz prosedürü

#### 3.8. İstatistiksel Analiz

Araştırmada kullanılan *Codium fragile* örneklerinin protein, yağ, nem, kül, antioksidant, oksidant ve selüloz analizleri Statgraphics 16.0 (Manugistics Incorporated, Rockville MD, USA) istatistik programı kullanılmıştır. İlk önceden varyans analizine (ANOVA), sonra ise Tukey'in Multiple Range Testine tabi tutulmuştur (Zar, 2001). Yapılan tüm testlerde, önem düzeyi P<0.05 olarak (%95) olarak alınmıştır.

## 4. BULGULAR VE TARTIŞMA

### 4.1. Bulgular

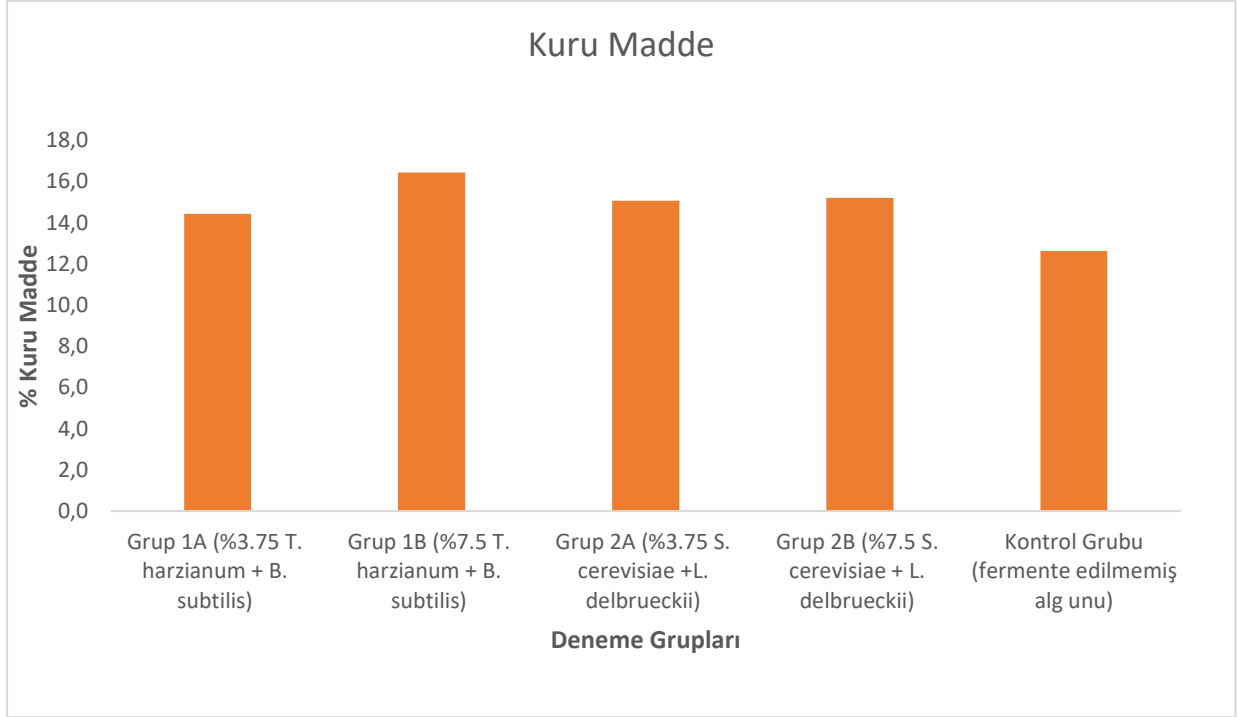
#### 4.1.1. Besin kompozisyonu analiz bulguları

Bu bölümde makro alglerin besin içerikleri için elde edilen araştırma bulguları sunulmuştur. Araştırmada *Codium fragile* yeşil makro algın kurutulup un haline getirilmiş hali ile fermentasyondan sonraki nem, protein, yağ, kül, selüloz ve antioksidan analiz sonuçları Tablo 4.1.'de verilmektedir.



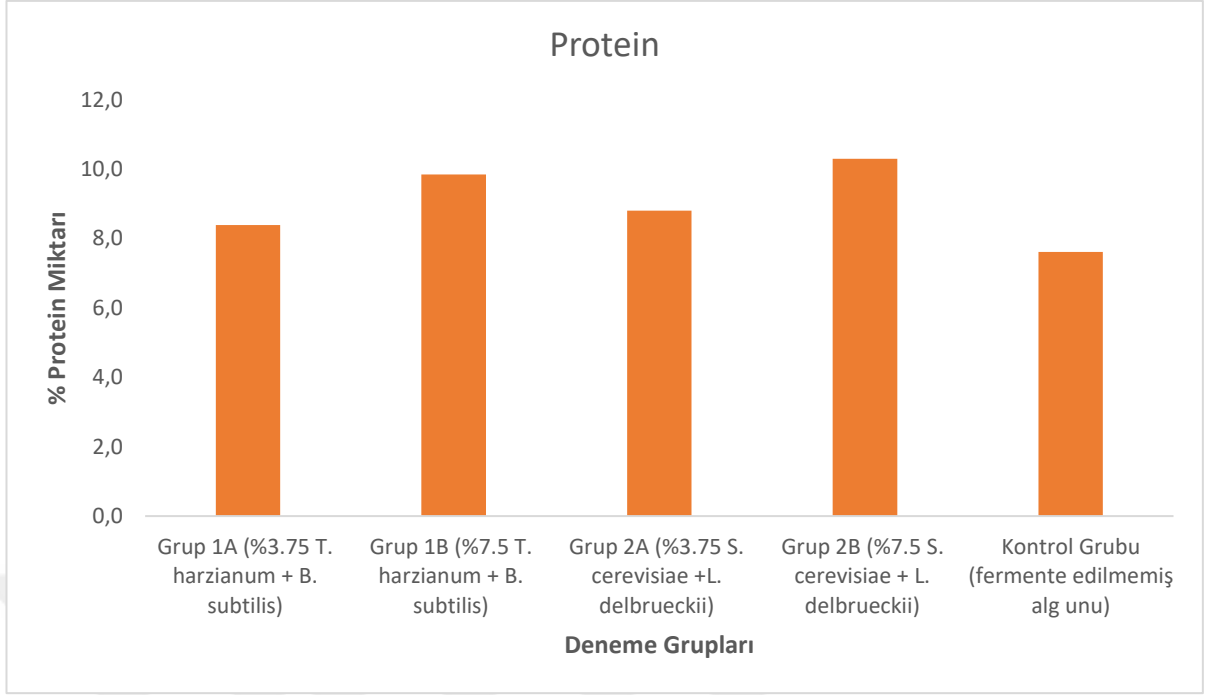
Tablo 4. 1. Örneklerin kuru madde (%), protein (%), yağ (%), kül (%), selüloz (%), toplam antioksidan ve toplam oksidan sonuçları

| Deneme Grupları                                               | Kuru Madde (%)          | Protein (%)             | Yağ (%)                 | Kül (%)                  | Selüloz (%)             | TOS<br>0.1 mg/mL        | TAS<br>0.1 mg/mL        |
|---------------------------------------------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|--------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|
| Grup 1A (%3.75 <i>T. harzianum</i> + <i>B. subtilis</i> )     | 14.43±0.33 <sup>b</sup> | 8.39±0.14 <sup>ab</sup> | 1.01±0.04 <sup>ab</sup> | 43.69±1.54 <sup>ab</sup> | 5.97±0.26 <sup>ab</sup> | 9.08±0.43 <sup>ab</sup> | 0.75±0.05 <sup>b</sup>  |
| Grup 1B (%7.5 <i>T. harzianum</i> + <i>B. subtilis</i> )      | 16.45±0.45 <sup>b</sup> | 9.84±0.05 <sup>c</sup>  | 1.36±0.00 <sup>c</sup>  | 47.01±0.89 <sup>b</sup>  | 7.35±0.18 <sup>c</sup>  | 8.31±1.01 <sup>ab</sup> | 1.81±0.22 <sup>c</sup>  |
| Grup 2A (%3.75 <i>S. cerevisiae</i> + <i>L. delbrueckii</i> ) | 15.07±0.82 <sup>b</sup> | 8.81±0.23 <sup>b</sup>  | 0.94±0.09 <sup>a</sup>  | 42.10±0.68 <sup>a</sup>  | 7.02±0.20 <sup>bc</sup> | 9.88±0.69 <sup>b</sup>  | 0.63±0.03 <sup>ab</sup> |
| Grup 2B (%7.5 <i>S. cerevisiae</i> + <i>L. delbrueckii</i> )  | 15.21±0.36 <sup>b</sup> | 10.30±0.38 <sup>c</sup> | 1.20±0.18 <sup>c</sup>  | 45.72±1.40 <sup>b</sup>  | 7.13±0.31 <sup>bc</sup> | 4.96±1.96 <sup>a</sup>  | 1.89±0.15 <sup>c</sup>  |
| Kontrol Grubu (fermente edilmemiş alg unu)                    | 12.63±0.14 <sup>a</sup> | 7.62±0.13 <sup>a</sup>  | 1.33±0.02 <sup>c</sup>  | 45.03±0.37 <sup>ab</sup> | 5.28±0.02 <sup>a</sup>  | 8.09±0.00 <sup>ab</sup> | 0.15±0.00 <sup>a</sup>  |



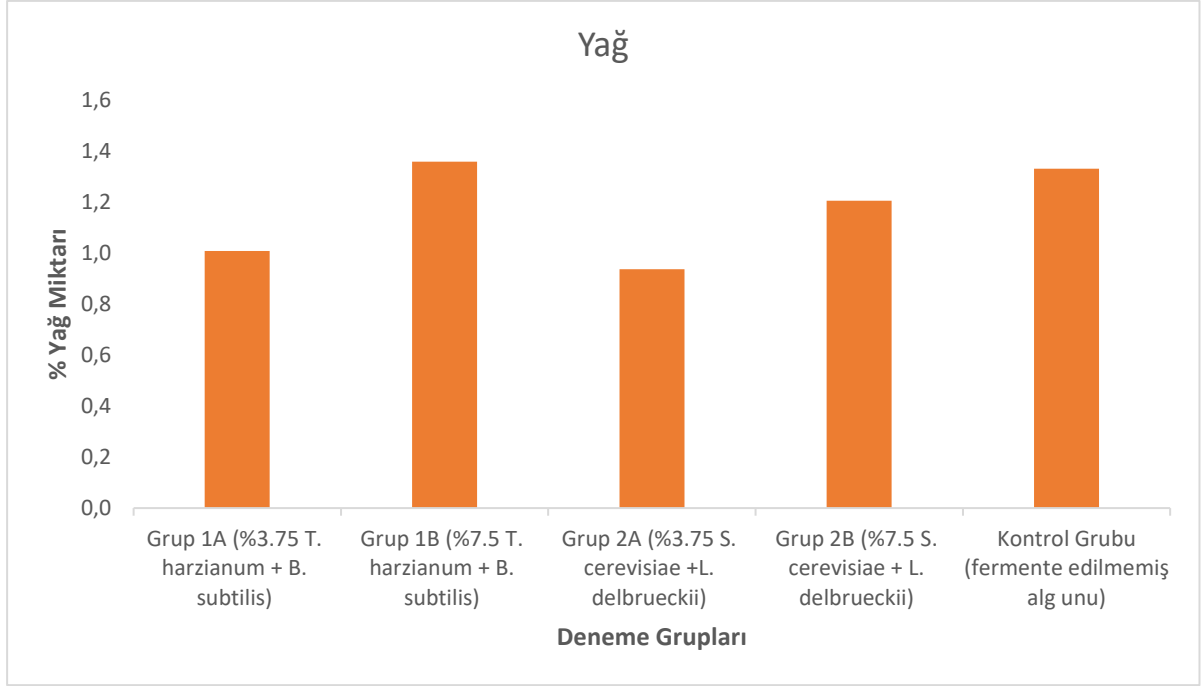
Şekil 3. 16. Fermentasyon uygulamasının kuru madde içeriğine etkisi

Kuru madde miktarları, fermentasyona maruz bırakılmadan kurutulan *Codium fragile* ununda (kontrol grubu) %12.63 iken, fermentasyon işlemine tabi tutulan deneme gruplarında (Grup 1A, Grup 1B, Grup 2A ve Grup 2B) arasında %14.43 ile 16.45 oranlarında değişim göstermiş olup tüm deneme gruplarındaki kuru madde miktarı kontrol grubuna göre daha yüksek ve istatistiksel olarak anlamlı ( $p < 0.05$ ) bulunmuştur (Şekil 3.16.). Deneme grupları arasında kuru madde miktarı, Grup 1B ve Grup 2B’de istatistiksel fark olmamasına ( $p > 0.05$ ) rağmen deneme gruplarına göre yüksek bulunmuştur.



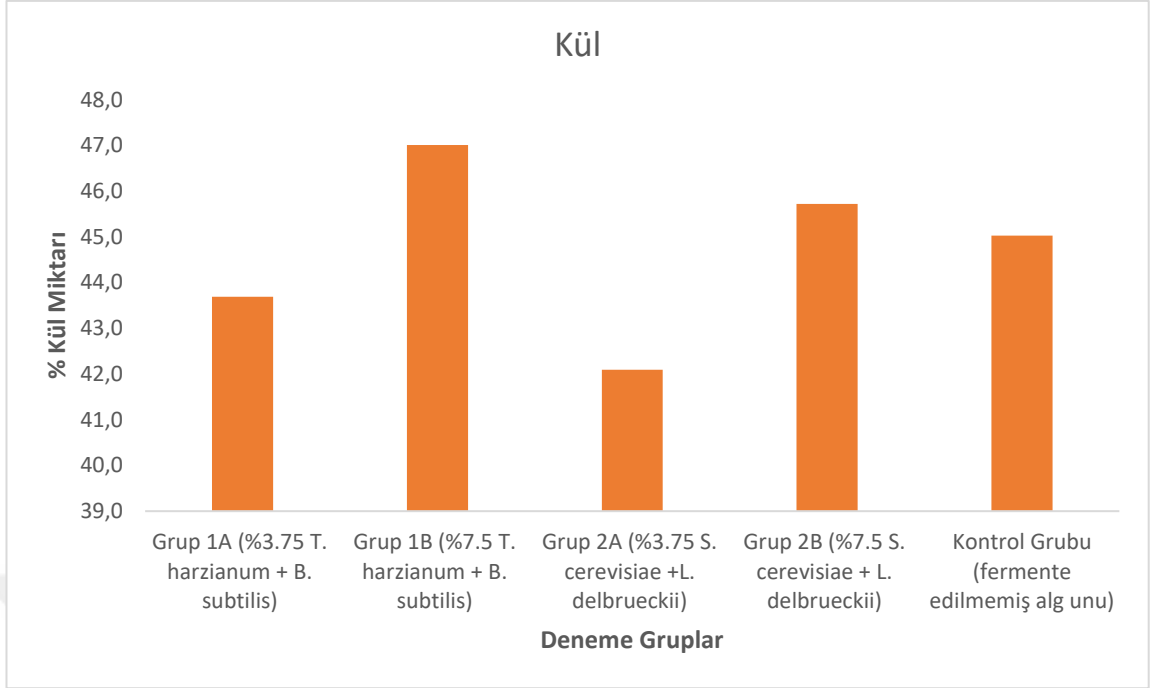
Şekil 3. 17. Fermentasyon uygulamasının protein içeriğine etkisi

Protein miktarı, deneme gruplarında fermentasyon işlemi sonrası artmıştır. Fermentasyona maruz bırakılmadan kurutulmuş *Codium fragile* ununda (kontrol grubu) %7.62 protein oranı belirlenmiştir. Deneme gruplarında elde edilen alg katkılı fermente yem hammaddesinin protein miktarları %8 ile %10 arasında değişim göstermiştir. Grup 1B, Grup 2A ve Grup 2B’de elde edilen protein oranı kontrol grubundan yüksek bulunmuş olup istatistiksel fark belirlenmiştir ( $p < 0.05$ ). Farklı türlerden %7.5 oranlarında mikroorganizma ile fermente edilen Grup 1B ve Grup 2B’de ise, Grup 2A, Grup 1A ve kontrol grubundan ( $p < 0.05$ ) daha yüksek protein oranına ulaşılmıştır. ( $p < 0.05$ ). En düşük protein %8,39 protein oranı ile Grup 1A ve %7.62 protein oranı kontrol grubunda belirlenmiştir ( $p > 0.05$ ). Fermentasyon uygulamasında, mikroorganizma miktarındaki artış alg katkılı fermente yem hammaddesinin protein miktarında artışa neden olarak %7.5 oranında mikroorganizma ile fermente edilen gruplarda gözlenmiştir.



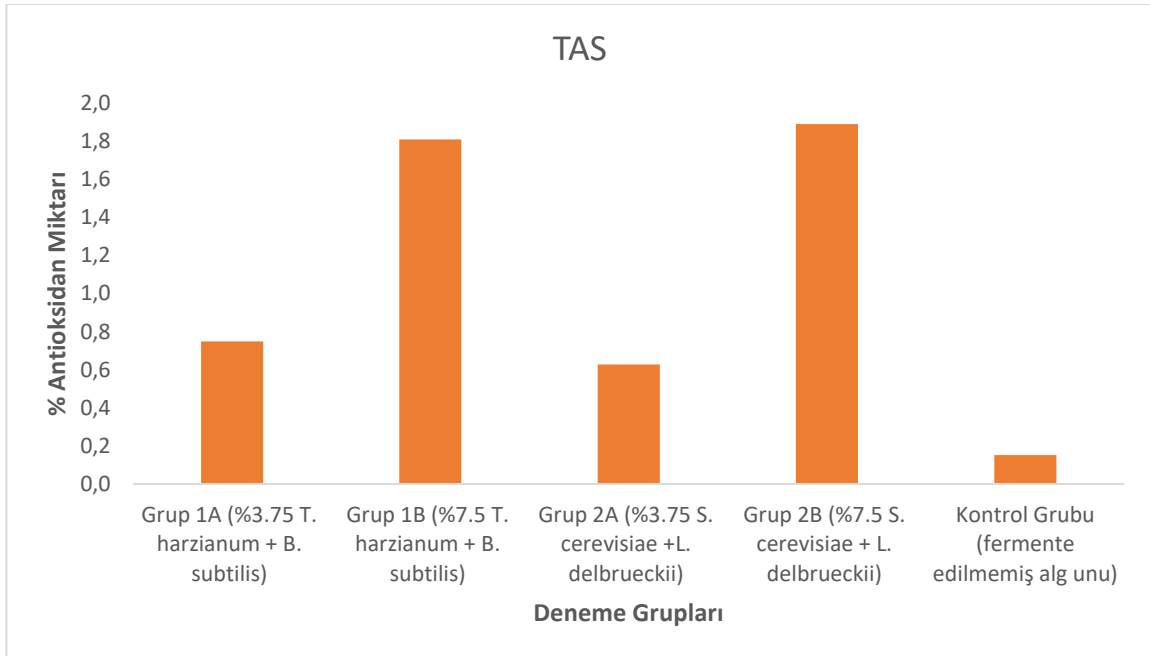
Şekil 3. 18. Fermentasyon uygulamasının yağ içeriğine etkisi

Yağ miktarı, Grup 1A ve Grup 2A’da diğer gruplara göre ( $p < 0.05$ ) azalmıştır (Şekil 3.18.). Kontrol grubunda yağ miktarı %1.33 oranında belirlenmiş olup deneme gruplarında %0.94 ile %1.36 arasında değiştiği tespit edilmiştir. Grup 1B ve Grup 2B’de yağ miktarı kontrol grubu ile benzer bulunmuştur ( $p > 0.05$ ).



Şekil 3. 19. Fermentasyon uygulamasının kül içeriğine etkisi

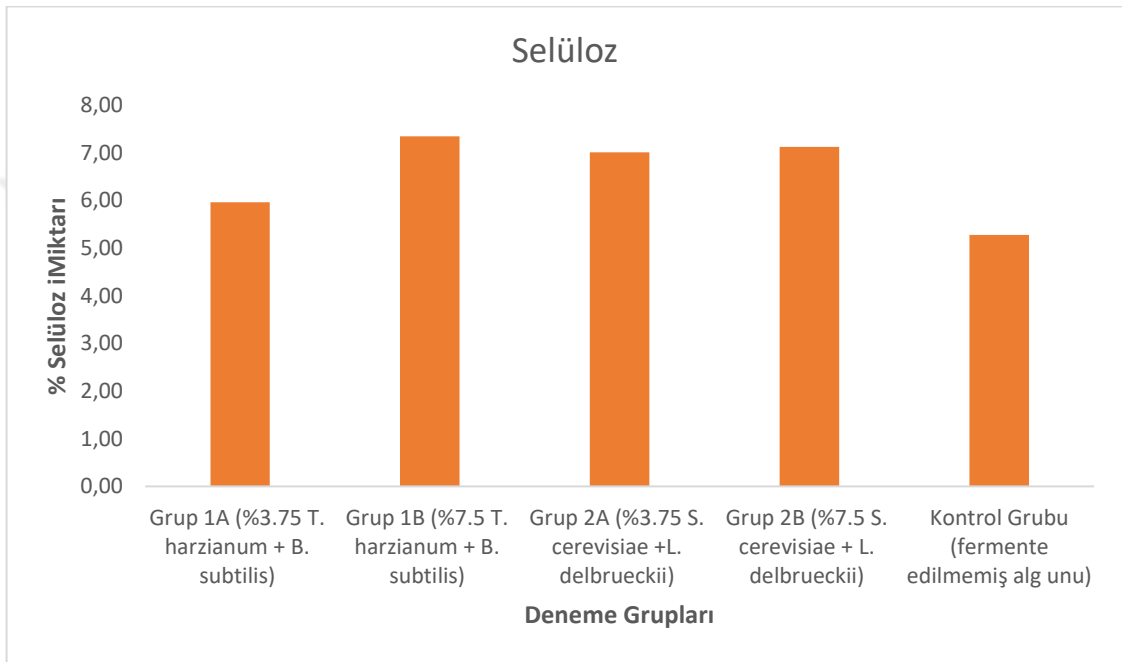
En düşük kül miktarı %42.1 ile Grup 2A’da belirlenmiş olup Grup 1B ve Grup 2B örneklerine göre istatistiksel farklıdır ( $p < 0,05$ ). Kül miktarı kontrol grubunda %45.03 iken en yüksek Grup 1B’de %47.01 oranında tespit edilmiştir ( $p > 0,05$ ).



Şekil 3. 20. Fermentasyon uygulamasının antioksidan kapasitesine etkisi

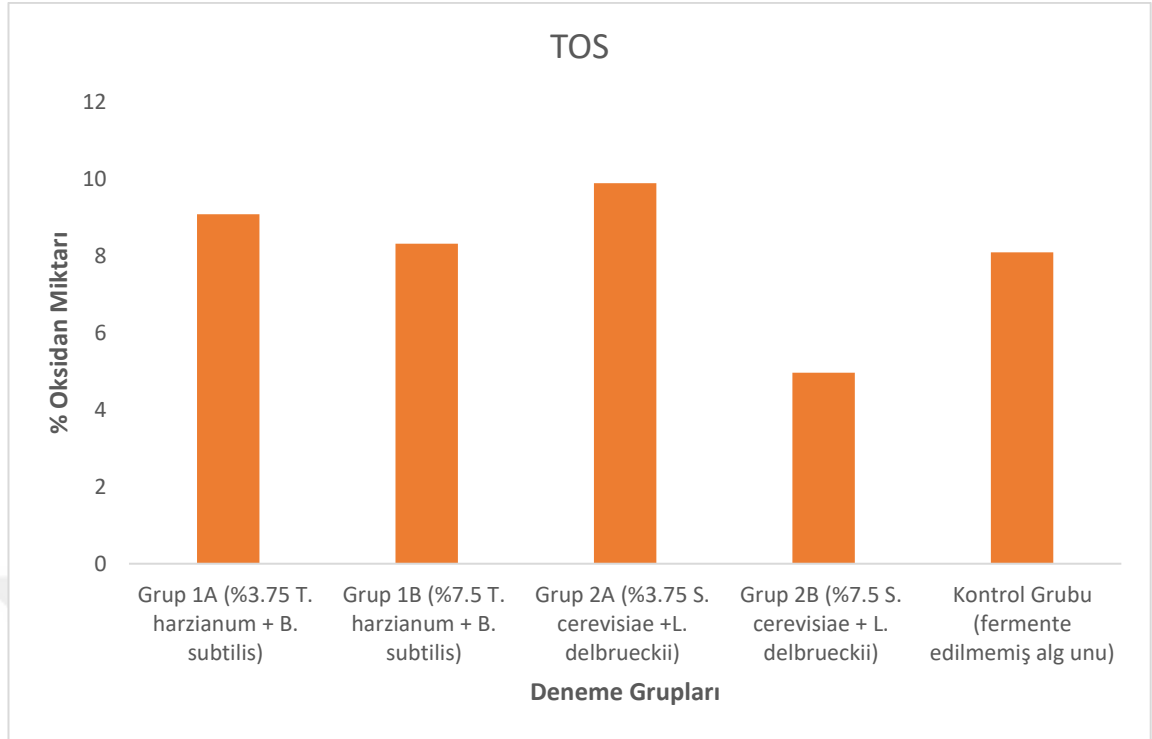
En düşük toplam antioksidan miktarı kontrol grubunda 0.15 mg/mL olarak tespit edilmiştir (Şekil 3.20.). Grup 2A’da 0.63 mg/mL toplam antioksidan değeri kontrol

grubundan yüksek olsa da istatistiksel olarak farklı bulunmamıştır ( $p>0.05$ ). Fermantasyon işlemi antioksidan değerlerinde pozitif artış sağlamıştır. Deneme grupları arasında Grup 2B’de 1.89 mg/mL ve Grup 1B de 1.81 mg/mL toplam antioksidan aktivite değerleri diğer gruplara ( $p<0.05$ ) kıyasla en yüksek oranlar kabul edilmiştir. Grup 1A ise 0.75 mg/mL antioksidan kapasitesi ile kontrol grubundan yüksek ( $p<0.05$ ) ve Grup 1B ve Grup 2B’nin antioksidan kapasitesinden düşük ( $p<0.05$ ) bulunmuştur.



Şekil 3. 21. Fermentasyon uygulamasının selüloz içeriğine etkisi

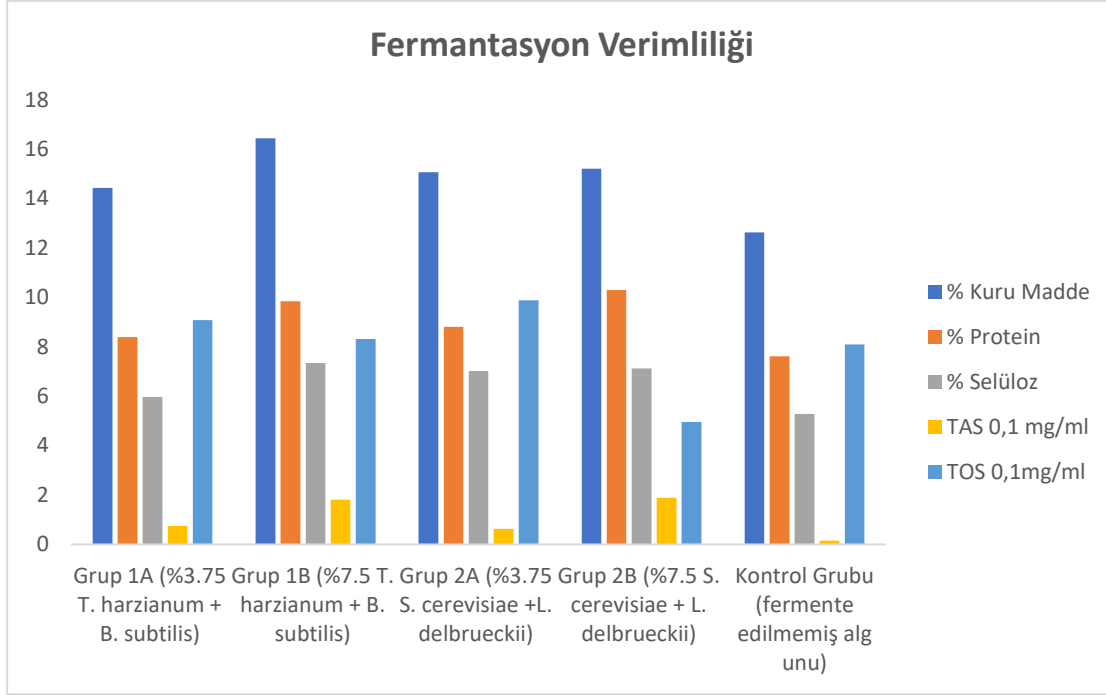
Selüloz sonuçları tüm gruplar arasında %5.28 ile %7.35 arasında değişim göstermektedir. Kontrol grubu en düşük selüloz içeriğine sahip olup Grup 1B, Grup 2A ve Grup 2B ile aralarında istatistiksel fark belirlenmiştir ( $p<0.05$ ). En yüksek selüloz oranı %7.35 değeri ile Grup 1B’de tespit edilmiş olup kontrol grubundan yüksek bulunmuştur ( $p>0.05$ ). Fermentasyon işleminde selüloz miktarında öngörülmeleyen bir artış gerçekleşmesi ve Grup 2A ile Grup 2B’de benzer ( $p>0,05$ ) bir selüloz artışı tespit edilmiş olması mikrobiyal selüloz gelişiminin söz konusu olduğunu göstermektedir. Grup 1A’da ise kontrol grubu ile benzerlik ( $p>0.05$ ) gösteren selüloz değerleri incelendiğinde mikrobiyal selüloz gelişiminin gerçekleşmediği ortaya çıkmıştır.



Şekil 3. 22. Fermentasyon uygulamasının oksidan kapasitesine etkisi

Toplam oksidan miktarında, Grup 2A ve Grup 2B arasında istatistiksel fark belirlenmiştir. Grup 2B’de 4.96 mg/mL değerle en düşük oksidan aktivite belirlenirken Grup 2A’da 9.88 mg/mL ile en yüksek toplam oksidan aktivite tespit edilmiştir ( $p < 0.05$ ).

Diğer gruplar ile kontrol grubu arasında benzerlik bulunmuştur ( $p > 0.05$ ).



Şekil 3. 23. Gruplar arası fermentasyon uygulamasının verimliliği

#### 4.1.2. Deniz suyu fiziko-kimyasal analiz bulguları

Tablo 4. 2. Deniz suyu nitrit, amonyum, fosfor, nitrat, sıcaklık, pH ve tuzluluk değerleri

|                | Fosfat<br>mg /L | Nitrat<br>mg /L | Nitrit<br>mg /L | Amonyum<br>mg /L | Sıcaklık<br>C° | pH  | Tuzluluk ‰ |
|----------------|-----------------|-----------------|-----------------|------------------|----------------|-----|------------|
| <b>Armutlu</b> | 0,096           | 1,50            | 0,006           | 0,007            | 24,9           | 7,8 | 23,2       |

Alglerin bulunduğu ortamın koordinatları, su ortamının ekolojik şartları, mevsimsel geçişler sucul canlıların morfolojisini, anatomisini ve besin içeriklerini etkileyen etmenlerin başında gelmektedir. Yapılan kimyasal analiz sonuçlarına göre; yaz dönemi suların ısınması ile nitrit ve amonyum değerleri mevsimler olarak normal gözükmemektedir. Önceki çalışmalarda yapılan araştırmalarda yaz mevsiminde nitrat fosfat değeri kış dönemine göre artış eğiliminde olduğu bilinmektedir ve alınan su numunelerinde ise bu değerler mevsim normallerinde seyretmiştir. Yaz mevsimi deniz suyu numunelerinde sıcaklık değerleri, tuzluluk, pH için mevsim normallerine yakın seyretmiştir.

## 4.2. Tartışma

Algler, yüksek değerli yeni bir kaynak olarak, sağlık açısından yararları olan peptitler ve polisakkaritler gibi biyoaktif bileşikler içermektedir. Fermentasyon ile, mikro alglerin ve makro alglerin, biyoaktif bileşiklerin salınımının iyileştirebildiği ve faydalı özelliklerinin arttırılabileceği ortaya konmuştur. Fermentasyonda kullanılan mikroorganizma türü, fermentasyon türü (batık veya katı- durumu) ve fermentasyon koşulları ile alg türü ve özellikleri, son ürünlerdeki bileşikler üzerinde belirleyicidir.

Fermentasyon ile birlikte ön işlemlerin kombinasyonu, biyoaktif bileşiklerin daha yüksek salınımını teşvik etme potansiyeline sahiptir. Ancak uygulama koşullarındaki aşırılık ya da eksiklik, biyoaktif özelliklerin kaybıyla birlikte bileşiğin bozulmasına yol açabilmektedir. Bu çalışma alanının hala yeni olduğunu ve gıda uygulamalarında, alg fermentasyonunun kullanımını anlamak için daha fazla araştırmaya ihtiyaç olduğunu belirtmek önemlidir.

Bu tez kapsamında Gemlik Körfezi girişinde yer alan Armutlu İlçesinin 40,509462,28,829435 koordinatlarından *Codium fragile* örnekleri toplanmış ve fermente edilmiştir. Fermente edilen ürünlerin, fermente edilmemiş ürüne kıyasla, besin bileşenlerinin değişimine ve antioksidan kapasitesinin gelişmesine olan etkilerinin belirlenmesi bu çalışmanın ana amaçlarından biridir.

*Codium sp.* başta Japonya, Çin ve Kore gibi Uzak Doğu Asya ülkelerinde tüketilen temel makro alg türleri arasındadır. İnsan gıdası olarak kullanılması nedeniyle içerdiği protein, karbonhidrat, lipit, vitamin, mineral bileşimi (Tabarsa ve diğ., 2013 ; Jung Park, 2020 ; Monmai ve diğ., 2020) ve sifonaksantin gibi biyoaktif bileşikler (Akimoto ve diğ., 2007) üzerine çalışmalar yoğunlaşmıştır. *Codium sp.* türlerinde bulunan besin bileşenleri, biyoaktif bileşikler ve polisakkaritler, immün sistemi uyarıcı, anti-inflamatuar (Yoon ve diğ., 2011 ; Moon ve diğ., 2018b), antikanser, antikoagülan (Choi ve diğ., 2013 ), antioksidan (Wang ve diğ., 2020 ), anti-obezite (Kolsi ve diğ., 2017), osteoprotektif (Surget ve diğ., 2017 ) ve antiviral (Yim ve diğ., 2021 ) etkiler dahil olmak üzere önemli farmakolojik etkilere sahiptir.

Kuru madde miktarları, fermentasyona maruz bırakılmadan kurutulan *Codium fragile* ununda (kontrol grubu) %12.63 iken, fermentasyon işlemine tabi tutulan deneme gruplarında (Grup 1A, Grup 1B, Grup 2A ve Grup 2B) %14.43 ile %16.45 oranlarında değişim göstermiş olup mikroorganizma ilavesinin biyokütlelerinin etkisiyle kuru

madde miktarını arttırdığı ( $p<0.05$ ) ortaya çıkmıştır (Tablo 4.1.). Grup 1B, deneme grupları ( $p>0.05$ ) ve kontrol grubu arasında ( $p<0.05$ ) en yüksek kuru madde miktarını içermekte olup, üreme verimliliği açısından diğer gruplardan daha fazla artma ortamı yakaladığı sonucuna varılmıştır. Turan ve diğ. (2015) tarafından İskenderun Körfezi'nde Nisan ve Haziran aylarında, kırmızı ve yeşil alglerde yapılan örneklemeler arasında *Codium fragile* türünün %15.47 oranında kuru madde içerdiği tespit edilmiş olup, çalışmamızda bu verilerle kıyaslanabilecek kontrol grubunun kuru madde miktarı Ağustos ayında %12.63 olarak bulunmuştur.

Bu çalışmada kül içeriği en düşük %42.1 olarak belirlenmiştir. Kül içeriği *Codium tomentosum* türü için Portekiz kıyılarında (Rodrigues ve diğ. 2015) %36, Filipin sahillerinde kış aylarında toplanan *Codium intricatum* türü için (Arguelles, 2020) %37.96, Kenya kıyılarında *Codium geopiorum* için (Mwalugha ve diğ., 2015) %38 ve İskenderun Körfezinde Nisan – Haziran aylarında toplanan *Codium fragile* (Turan ve diğ., 2015) için %21.79 kül değerleri ile bu çalışmada elde edilen değerden daha düşük kül içeriğine sahip *Codium sp* türlerinin olduğu rapor edilmektedir. Bunula birlikte Mwalugha ve diğ. (2015), Kenya kıyılarında topladıkları kahverengi algler, kırmızı algler ve yeşil algler arasında *Codium dwarkense* için elde ettikleri %69.94 kül değeri çalışmamız dahil diğer araştırmalardan da yüksek olduğu tespit edilmiş olup *Codium geopiorum* türünde ise %37.96 kül oranı rapor edilmektedir. Yüksek kül içeriği, önemli miktarda makro (magnezyum, fosfor, potasyum, sodyum, klorür, kalsiyum ve kükürt gibi) ve mikro minerallerin (bakır, iyot, çinko, molibden, demir, selenyum, manganez gibi) varlığı anlamına gelmektedir. Kesinkaya ve diğ. (2020) tarafından yaz aylarında Çanakkale Boğazı (Çanakkale-Türkiye) kıyı bölgesinden ( $40^{\circ}14'27.03''K$   $26^{\circ}32'29.74''D$ ) toplanan *Codium fragile* türünün element konsantrasyonları sırasıyla  $Na>Ca>Mg>K>Fe>P>Mn>Pb>B>Zn>Cu>Ni>Cr>Co=Mo=Cd$  bildirilmiş olup demir (Fe) bakımından zengin olduğu ifade edilmektedir. Çalışmamızda kül içeriğinin mineral bakımından zenginliği temsil edebileceği düşünülmektedir. Fermentasyon sonrası kül içeriğinde mikroorganizma oranının artması ile, diğer gruplara göre Grup 1B ve Grup 2B'de, Grup 2A'ya kıyasla artış belirlenmesine rağmen ( $p<0.05$ ) tüm deneme grupları arasında kül oranı %42.1 ile %47.01 arasında değişmiş olması ve kontrol grubundaki kül oranının Grup 1A ve Grup 2A'dan yüksek olması nedeniyle, sonuçlar arasında yakınlık olduğu savunulmaktadır.

Protein değerleri fermentasyon işlemi sonrası deneme gruplarında %8.39 ile %10.3 arası değişirken fermentasyona maruz bırakılmadan kurutulan *Codium fragile* unu ile oluşturulan kontrol grubunda ise %7.62 protein oranının belirlenmiş olması, fermentasyon uygulamasının “alg katkılı yem hammaddesi” üretiminde protein değerlerini iyileştirdiği sonucuna ulaştırmıştır. Fermentasyon uygulamasında kullanılan mikroorganizma türü ve oranı protein miktarını etkilemiştir. %7.5 mikroorganizma ilave edilen Grup 1B ve Grup 2B’de elde edilen protein oranı, %3.5 mikroorganizma ile gerçekleştirilen Grup 1A ve Grup 2A’ya göre ( $p < 0.05$ ), alg katkılı fermente yem hammaddesinin protein miktarındaki artışı etkilediği sonucuna varılmıştır (Tablo 4.1.). *S. cerevisiae* + *L. delbrueckii* türlerinin yüksek (%7.5) veya düşük (%3.5) oranda fermentasyon uygulamasında kullanımı, *T. harzianum* + *B. subtilis* türü mikroorganizmalarına göre, alg katkılı yem hammaddesi üretiminde, daha verimli protein oranları elde edilmesine teşvik etmiştir. Grup 2A hariç olmak üzere ( $p > 0.05$ ), diğer tüm gruplar arasında ( $p < 0.05$ ) en yüksek protein verimi, maya türü olarak *Saccharomyces cerevisiae* ve bakteri türü olarak ise *Lactobacillus delbrueckii* içeren fermentasyon sürecinde %10.3 protein oranı ile Grup 2B’de elde edilmiştir. Bu sonuçlar kuru madde ile birazdan açıklanacak olan selüloz, toplam oksidan ve antioksidan değerleri ile değerlendirildiğinde, diğer gruplara kıyasla sırasıyla daha etkin bir biyokimyasal profilin Grup 2B ve Grup 1B’de olduğu öne sürölmektedir (şekil 3.23). Alglerin biyokimyasal bileşenlerinin miktarı, benzer türler arasında çevresel koşullara, mevsimsel ve coğrafik değişimlere göre farklılık göstermektedir (Kirpenko ve diğ. 2015). Çalışmamızda kontrol grubunu temsil eden fermente edilmemiş *Codium fragile*, Ağustos 2022 yılında toplanarak kurutulmuş ve protein içeriği %7.62 olarak belirlenmiş olup, Celikler ve diğ. (2009) tarafından benzer koordinatlarda (40°22.8’N, 28°48.0’E) yer alan Mudanya-Zeytinbağı mevki bölgesinden toplanan *Codium tomentosum* türünde %11 protein oranı ile çalışmamızdan daha yüksek oran elde edilmiş olsa da hangi mevsimde toplandığı bildirilmemektedir. Rodrigues ve diğ. (2015) tarafından Nisan 2012’de Portekiz kıyılarından toplanan *Codium tomentosum* türünün protein içeriği %18 olarak analiz edilmiş olup çalışmamızda belirlenen protein değerinden yüksek bulunmuştur. Ortiz ve diğ. (2009) tarafından ise şili sahillerinden Ocak 2007 yılında toplanan *Codium fragile*’nin protein içeriği %10.8 olarak tespit edilirken, Skrzypczyk ve diğ. (2018) Avustralya kıyılarında kiş ve sonbahar aylarında toplanan *Codium galeatum*’un

protein değerini %12 olarak bildirmektedir. Protein değerlerinin yüksek bulunduğu araştırmalarda, *Codium* türlerinin kış, sonbahar veya ilkbahar mevsimlerinde toplanarak analiz edildiği dikkat çekmekte olup çalışmamızda yaz mevsiminde toplanan *Codium fragile*'nin, düşük proteine sahip olmasının sıcaklık ile ilgisi olabileceği doğrultusunda kanıtlar ortaya çıkmıştır. Manivannan ve diğ. (2008) tarafından ise Güneydoğu Hindistan'ının Mandapam kıyılarından toplanan *Codium tomentosum* türünde %6.13 protein içeriği, çalışmamızda elde edilen değerden daha düşük belirlenmiş olup su sıcaklığının artması ile protein içeriğinin azalması arasında bağlantı görülmektedir. Tüm bu bilgiler ışığında çalışmamızda kış aylarında örnekleme yapıldıktan sonra fermentasyon yapılmış olmaması nedeniyle bu alanda yeni araştırmalara ihtiyaç ortaya çıkmıştır. Fermentasyon uygulaması deniz alglerinin biyokimyasal içeriğini etkileyen bir metot olup Ardiansyah ve diğ. (2018) tarafından kahverengi deniz alglerinden *Sargassum* sp. türü, mantar cinsi olan *Aspergillus niger* ve *Lactobacillus* spp. bakterisi ile fermente edildikten sonra, *Aspergillus niger* ile fermente edilmiş *Sargassum*'un protein miktarı %7.5'dan %10.1'e yükseldiği bildirilmektedir ( $p<0.05$ ). Ferreira ve diğ. (2021) tarafından katı fermentasyon yöntemi kullanılarak mantar sınıfı *Aspergillus ibericus* ve *Aspergillus niger* türleri ile kırmızı alg türlerinden *Gracilaria* sp., *Alaria esculenta* ve *Porphyra dioica*, yeşil alg türlerinden *Codium tomentosum* ve *Ulva rigida* türlerini fermente ederek biyokütlerdeki ham protein içerikleri değerlendirilmiş. *A. niger* ile fermentasyonunda *U. rigida*, *A. ibericus* ile fermentasyonunda *C. tomentosum*'da ve *U. rigida*'da iki mantar cinsinin fermentasyonundan sonra protein içeriği arttığı bildirilmektedir. Fernandes ve diğ. (2019) tarafından, yeşil makroalg türü olan *Ulva rigida* mantar türü olan *Aspergillus ibericus* ile katı hal fermentasyonu işlemine tabi tutulduktan sonra protein konsantrasyonunda %16.9'dan %29.8'e artış rapor edilmiştir. Brindo ve diğ. (2014), kahverengi deniz alg türü *Padina tetrastomatica* türünü *Lactobacillus* spp. ve *Saccharomyces cerevisiae* ile fermente ederek protein içeriği %10.50'den % 15.90'a arttığını bildirmektedir. Choi, ve diğ. (2018), kahverengi deniz alglerinden *Undaria pinnatifida* türünü hem bakteri *Bacillus subtilis* ile hem de mantarlardan *Aspergillus flavus* - *Aspergillus oryzae* kullanarak fermente etmiş ve ürünlerin protein içeriklerini arttırmayı başarmıştır. Suraiya ve diğ. (2018) *Undaria pinnatifida* ve *Saccharina japonica* türlerini *Monascus* spp. mantarı kullanarak fermente etmiş ve fermentasyondan sonra yapılan değerlendirmede protein içeriğinin

arttığını bulmuştur ( $p<0.05$ ). Vidal-Carou ve diğ. (2022) farklı makroalg türleri ve mantar kombinasyonlarını fermentasyon sürecinde inceleyerek kırmızı deniz alglerinden *Gracilaria* sp. ile mantar tü olarak *Aspergillus niger*'i, kahverengi makroalglerden *Undaria rigida* ile *Aspergillus ibericus* ve *Codium tomentosum*'da *Aspergillus niger* ve *Aspergillus ibericus*, *Ulva rigida*'da da aynı iki mantar cinsini kullanarak fermente etmiş ve ham ürünlere göre protein içeriğinde artış tespit etmiştir. Loaiza-Bonilla ve diğ. (2022) tarafından kahverengi alglerden *Sargassum fulvellum*, *Aspergillus oryzae* kullanılarak fermente edilmiş ve kontrol grubuna göre %3.7 ile % 6.6 arası protein içeriğinde artış elde etmiştir. Çalışmamızda fermente edilmeden kurutulan *Codium fragile*'nin protein miktarı %7.62 iken fermentasyondan sonra protein miktarları %8 ile %10 arasında artan yönde değişim göstermiştir ( $p<0,05$ ). Uygulanan fermentasyon yöntemi ile protein değerlerinde %10 ile %35 oranında artış tespit edilmiştir. Deniz alglerini fermentasyon işlemine tabi tutan diğer bilimsel araştırmalarda protein içeriklerinde artış çalışmamızla benzerlik göstermektedir. Çalışma sonuçlarımız, deniz alglerinin besin değerini ve protein içeriğini arttırmak için fermentasyon uygulamasını desteklemektedir. Fermente ürünlerin hayvansal yemler için, besinsel olarak uygun deniz alglerinin kullanımının çevre dostu, uygun maliyetli ve sürdürülebilir bir yaklaşım olarak önerilmektedir.

Deniz makro alglerinin yağ içerikleri diğer birçok sucul organizmaya göre daha düşük olup yıl içerisinde miktarları değişebilir. Bu çalışmada, Yalova İli Armutlu İlçesi sahillerinden toplanan *Codium fragile* 'nin lipid içeriği %1.33 olarak tespit edilmiştir. *Codium tomentosum* türünün lipid içeriği Portekiz kıyılarında (Rodrigues ve diğ. 2015) %3.6 ve Güneydoğu Hindistan'ının Mandapam kıyılarından (Manivannan ve diğ. 2008) ise %2.5 olarak bildirilmiştir. Mwalugha ve diğ. (2015), Kenya kıyılarında topladıkları yeşil algler arasında *Codium dwarkense* için elde ettikleri %1.54 yağ oranı ve *Codium geopiorum* türünde ise %1.91 lipid oranı rapor edilmekte olup çalışmamız sonuçlarında başta Grup 2A'da %0.94 ve Grup 1A'da 1.01 yağ oranlarından olmak üzere tüm fermente deneme gruplarından ve kontrol grubundan yüksek bulunmuştur. Lipid, yağ asidi fraksiyonu nedeniyle dikkatleri üzerine çeken alglerde önemli miktarda bulunabilen bir bileşendir. İnsan metabolizması tarafından sentezlenemeyen ve vücut için gerekli olan çoklu doymamış yağ asitlerini içermelerinden dolayı, makro alglerde lipidler oldukça önemlidir. Deniz makro alglerinde saptanan başlıca çoklu doymamış yağ asitleri linoleik, araşidonik ve eikosapentaonik asitlerdir (Pereira ve

diğ., 2002). Bu çalışmada fermente ve fermente edilmemiş *Codium fragile* örneklerinin yağ asidi profili analiz edilmemiş sadece lipid içerikleri belirlenmiştir. Makro alg fermentasyonunda lipid içeriğiyle ilgili bazı çalışmalar mevcuttur. Ardiansyah ve diğ. (2018) tarafından *Sargassum sp.* ile *Saccharomyces cerevisiae* fermente edildiğinde, lipid içeriğinin kontrol grubuna ve *Aspergillus niger* ile *Lactotobacillus sp.* ile fermente edilen gruplara göre azaldığı bulunmuştur. Hardjani (2017) tarafından kırmızı makroalglerden *Kappaphycus alvarezii* maya türü *Saccharomyces cerevisiae* ile fermente edildiğinde lipid içeriğinde ise hafif bir artış kaydedilmiştir. Çalışmamızda ise kontrol grubunda *Codium fragile*'den elde edilen yağ miktarı %1.33 olup, Grup 1B hariç Grup 2A<Grup 1A<Grup 2B<kontrol grubu< Grup 1B şeklinde ifade edilebilecek bir azalma eğilimi göstermektedir.

Yalova İli Armutlu İlçesi kıyılarından 24.9 C sıcaklıkta (Tablo 4.2.) denizel ortamdan toplanan *Codium fragile*'nin farklı çalışmalardaki *Codium sp.* türlerinin besin bileşimindeki değişimler, coğrafik bölge farklılığı, sıcaklık, ışık yoğunluğu, tuzluluk, derinlik, gün uzunluğu ve besinlerin konsantrasyonu dahil olmak üzere dış faktörlerin yanı sıra karmaşık içsel büyüme ile ilgili, morfolojik ve üreme değişikliklerinden kaynaklanmış olabilir (Xu ve diğ., 1998; Dembitsky ve Hanus, 2003; Rey ve diğ., 2020; Marques ve diğ., 2021).

Bu tezde gruplar arasında %5.28 ve %7.35 arasında selüloz içeriği belirlenmiştir. Arguelles (2020) tarafından, Filipin kıyılarında kış aylarında toplanan *Codium intricatum* türünün %11.14 selüloz içerdiği bildirilmiş olup, Mwalugha ve diğ. (2015) tarafından, Kenya kıyılarında toplanan *Codium dwarkense* ve *Codium geopiorum* türleri için sırasıyla %16.59 ve %16.34 selüloz oranları rapor edilmektedir. Bu çalışmada kontrol grubu örneklerin %5.28 selüloz içeriği, fermentasyon sürecinde en yüksek Grup 1B'de %39 oranında artmış olsa da diğer araştırmaların sonuçlarından düşük bulunmuştur. Aynı zamanda fermentasyon sürecinde oluşan ortam koşullarına bağlı Grup 1B (%7.35), Grup 2B (%7.13) ve Grup 2A (%7.02)'da öngörülme- yen selüloz artışının mikroorganizmanın kendini koruma amacıyla mikrobiyal selüloz ürettiği sonucuna varılmış ve bu alanda yeni araştırmaların yapılmasının gerekliliği tartışılmıştır. Bitkiler ile birlikte bazı bakteriler selüloz üretebilmekte olup bu tür selülozlar bakteriyel selüloz adlandırılmaktadır. Bakteri metabolizmasının hücre dışı polimeri olan ve kendini üreten mikroorganizma tarafından katabolize

edilemediklerinden enerji kaynağı olarak kullanılamayan bakteriyel selüloz mikroorganizmayı dış ortamdan gelebilecek zararlı etkiye karşı bariyer oluşturarak hücre koruyan etkide görev yapmaktadır (Shinhua ve diğ., 2018). Bakteriyel selüloz fizyolojik özellikleri ile sindirim düzenleyici olarak gıda sanayisinde (Reiniati ve diğ., 2017) ve kâğıt kullanılsa da çalışmamızda beklenmeyen bir sonuç olmuştur. Fermentasyon süreçlerinde alg katkılı yem hammaddesi üretiminde mikrobiyal selüloz incelemelerinin de dahil edildiği daha detaylı araştırmalara yapmanın gerekliliği ortaya çıkmıştır.

Fermentasyon ve enzimatik işlem gibi teknikler, toksik kalıntılar üretmeden bileşiklerin aktivitesini değiştirebilen veya çözücüler kullanmadan istenen bileşikler üretebildikleri için kullanımı yaygın geleneksel bir yöntemdir. (Larios-Cruz ve diğ., 2019). Fermentasyon sırasında birçok biyokimyasal bileşende değişiklik meydana gelir ve bu da besleyici ve besleyici olmayan besin bileşenlerinin değişimine neden olur. Fermentasyon, katma değerli ürünler elde etmek için *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Lactococcus*, *Streptococcus* ve *Pediococcus* cinslerini içeren Gram-pozitif bakteri gruplarına ait mikroorganizmalarla ürünleri zenginleştirme, gıdanın organoleptik özelliklerini ve sağlık yararlarını artırarak gıda güvenliğini muhafaza etmek için uygulanmaktadır (Rezaç, 2018). Deniz alglerinin fermentasyonunun, yüksek biyoaktivite ve duyu kalite sergileyen yeni gıda ve nutrasötik ürünler oluşturmak için kullanılabileceğini ortaya koyan araştırmalar bulunmaktadır (Reboleira ve diğ., 2021).

Makro algler, bir yem katkı maddesi olarak işlev görebilir bir sucul organizmalardır. Alternatif ham madde kaynaklarının hem artıları ve hem de eksileri vardır. Bitki proteinleri, balık unundan daha yüksek toplam amino asitlere sahip olabilirler. Bununla birlikte, yüksek lifli yapısı nedeniyle sindirilebilirlik oranları düşüktür (Hua ve diğ., 2019). Makro alglerden doğrudan ekstraksiyon ve protein izolasyonu ile protein konsantre edebilmesine rağmen, protein içeriğini artırmak için fermentasyon yöntemi kullanılması gerekmektedir. Makro alglerin mikroorganizmalar tarafından fermentasyonu kullanılarak biyotransformasyonu, yüksek diyet lifi içeriğini azaltabilir ve beslenme profilini iyileştirebilir. Makro alglerin mikroorganizmalar tarafından fermentasyonu kullanılarak biyotransformasyonu önerisi, diğer alternatif kaynakları geride bırakmaya hizmet etmez, ancak balık unu ve balık yağına aşırı

bağımlılığı azaltmak için mevcut alternatif kaynaklara bir ek olarak hizmet eder (Ang ve diğ., 2021).

Antioksidanlar, düşük miktarlarda basit okside olan, bulunduğu ortamın oksidasyonunu yüksek oranda geciktiren veya durduran maddeler olarak adlandırılmaktadır. Antioksidanlar oksidatif stresi geciktirme ve serbest radikallerin işlevini sona erdirmeye yeteneğinde biyoaktif bileşiklerdir. Ayrıca hücrelerin deforme olmasına neden olan etkenler ve zararlı maddelere karşı koruyucu etki gösterirler. (Sindhi ve diğ., 2013). Birçok araştırmada mikro ve makro algin insan vücudunu serbest radikallerden ve diğer güçlü oksitleyici ajanlardan koruyabilen doğal antioksidanlar olduğu belirtmiştir (Ak ve Türker, 2019). Antioksidan bileşikler, oksidasyonu önleme yetenekleri sayesinde antibakteriyel, antikanserojen koruyucu olarak rol almaktadır (Aksay 2016, Suna 2020). Antioksidant maddeler genel olarak bitkisel canlılar, mantarlar ve alglerde yüksek oranda bulunan doğal iyileştirici özellikte maddeleridir (Caleja ve diğ., 2016). Kolsi ve diğ., 2017a, b) tarafından, düşük seviyelerde yoğunlaştırılmış tanen içeren *Codium fragile* flavonoidlerinin yüksek oranda antioksidan profillere sahip olduğunu bildirmişlerdir. Çelikler ve diğ. (2009) tarafından, *Codium tomentosum*'un etanolik ekstraktının oksidatif stres tarafından indüklenen kromozomlar üzerindeki etkisini inceleyerek ve insan lenfositleri üzerinde hiçbir genotoksik etki göstermediğini bildirmektedir. Ticari değeri olan bu antioksidanlar maddeler doğal olarak çoğunlukla karasal bitkilerden elde edilir (Goiris ve diğ., 2012). Sentetik olarak da kullanımı yaygın olan bu maddelerin sentetik formların kullanımını azaltmak için yeni doğal antioksidan kaynaklarına yönelim son yıllarda artış eğilimindedir. Denizel kökenli alglerde bu yönde değerlendirilerek kullanımını yaygınlaşması gerekmektedir. Bu bağlamda bu çalışmada uygulanan fermantasyon yöntemi ile de *Codium fragile* antioksidan seviyesi değişimi izlenerek artırılması sağlanmıştır.

Çalışmamızda kontrol grubunda *Codium fragile*'de antioksidan miktarının 0,15 mg/mL ile, Grup 2A hariç ( $p>0.05$ ) en düşük antioksidan kapasitesine sahip olduğu belirlenmiştir. Grup 1B ve Grup 2B'de fermantasyon işlemi antioksidan kapasitesini arttırmıştır. %7.5 oranında *S. cerevisiae* + *L. delbrueckii* ilave edilen Grup 2B'de (1,89 mg/mL) ve %7.5 oranında *T. harzianum* + *B. subtilis* ilave edilen Grup 1B'de (1,8 mg/mL) elde edilen örnekler ile birlikte diğer denem gruplarında da, kontrol grubunda

elde edilen *Codium fragile*'deki antioksidan kapasitesine göre 4-12 kat arası artış olduğu gözlenmiştir. Tolpeznikaite ve diğ. (2021) yaptığı çalışmada kullanılan makro algler ve fermantasyon yöntemi yapmış olduğumuz tez çalışmasından farklı olsa da makro alglerde uygulanacak fermantasyon yönteminin antioksidan seviyesinde artış gösterdiği benzerliği ortaya çıkmaktadır. Tolpeznikaite ve diğ. (2021) tarafından *Lactobacillus plantarum* suşu kullanılarak Baltık Denizi'nde bulunan yeşil alglerden *Ulva intestinalis*, *Cladophora rupestris* ve kırmızı alglerden *Furcellaria lumbricalis* türlerinin fermente edilerek alg örneklerinin antioksidan aktivitesinin, alglerin türüne bağlı olarak değiştiği bildirilmiş ve en yüksek antioksidan aktivite, fermente edilmiş makro alglerde gösterilmiştir. *Ulva intestinalis*'in %58, *Clodophora rupestris*'in %21.3 ve *Furcellaria lumbricalis*'in %16.0 antioksidan kapasitesi olduğu bulunmuştur.

## 5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Ülkemizde kıyı alanlarının uzunluğu 8.000 km'nin üzerindedir *Codium fragile*' nin deniz alanlarında yoğun olarak bulunduğu bilinmektedir. Bu tez çalışmada ülkemiz denizlerinde yoğun olarak dağılım gösteren makro algler türleri içerisinde *Codium fragile*' nin besinsel içerikleri ve antioksidan özellikleri incelenmiştir. Fermentasyon işlemine tabi tutularak oluşan ürünün de besinsel içerikleri ve anti oksidan yapısı araştırılarak kullanılabilirlik potansiyeli artırılması amaçlanmıştır.

- *Codium fragile* makroalgi çeşitli aşamalardan geçerek fermentasyon işlemine tabi tutulmuş ve sonunda “**fermente alg yem katkı maddesi**” elde edilmiştir.

Araştırma süresince *Codium fragile* türünde yapılan araştırma yöntemleri ve analizlerden elde edilen veriler sistemsal olarak kaydı tutulmuştur. Uygulanan fermentasyon yöntemlerin verileri toplandığında ise farklı grup gruplarının karşılaştırmaları yapılmıştır. Verilerde yapılan incelemelerde uygulanan yöntemler sonucunda analiz değerlerinde de farklılıklar olduğu tespit edilmiştir. Aynı zamanda dört fermentasyon yöntemi sonucunda oluşan ürünlerde hem kendi arasında hem de kontrol grubu arasında da farklılık gösterdiği bulunmuştur. Bu çalışmada bu alg üzerinde zenginleştirmek için fermentasyon yöntemleri uygulanmış ve olumlu sonuçlar alınmıştır.

- **Grup 1B %7,5** (%7.5 *T. harzianum* + *B. subtilis*) ve **Grup 2B** (%7.5 *S. cerevisiae* + *L. delbrueckii*) gruplarında antioksidan kapasitesinin, fermente edilmeyen alg ununa göre en az **12 kat arttığı** tespit edilmiştir.
- Ayrıca fermentasyondan sonra protein değerleri %10- %35 oranında artış olduğu tespit edilmiştir. En iyi artış gösteren grup **Grup 2B** (%7.5 *S. cerevisiae* + *L. delbrueckii*) olmuştur.
- Bu değerlendirmeler ışığında aynı grupta hem antioksidan hem de protein değerlerine göre paralel olarak artış gösteren **Grup 2B** (%7.5 *S. cerevisiae* + *L. delbrueckii*) fermentasyon yöntemi *Codium fragile* türünde kullanılması tavsiye edilmektedir
- Makro alglerde uygulanacak fermentasyon işleminin protein ve antioksidant seviyelerine olumlu etki ederek gelişimini sağlamıştır.

- Aynı zamanda fermantasyon sürecinde hücre duvarının yıkıldığından dolayı daha sindirilebilir olması için **biyo yararlılığının** arttırılmış olabileceği düşünülmektedir.

Denizel canlılar içerisinde birincil üretici olan algler besin zincirinin önemli bir parçasını oluşturmaktadır. Buna bağlı olarak alglere olan ilgi ve talep her geçen gün artmaktadır. Besin değerleri bakımından önemli olan algler sürdürülebilir bir besin kaynak olarak tercih edilmektedir. Beslenme ve biyoyakıt üretiminin kullanımı dışında, işlevsel özellikleri bakımından sağlık faktörleri göz önünde bulundurularak tüketimi yaygınlaşmaktadır.

Deniz algleri üzerine yapılan çalışmalara bakıldığında alglerin kaliteli protein, yağ ve suda çözünür lif içeriğinin yanında insan beslenmesinde önem taşıyan demir, magnezyum, potasyum ve çinko gibi mineraller açısından zengin olduğu belirtilmektedir.

*Codium fragile* Ülkemiz denizlerinde yetiştiriciliği yapılmamakla birlikte su ürünleri sektöründe toplayıcılığının da bilinirliği çok azdır. Denizlerimizde bulunan alglerin üretimi için en önemli faktör güneş enerjisidir. Ülkemiz Güneş enerjisi potansiyeline baktığımızda ise elverişli yerlerin olduğunu görmekteyiz. Alglerin sahip olduğu bu özelliklerinden yararlanılmalı ve özellikle ülkemizde alg üretimi gerçekleştirilmesi için gerekli alt yapılar sağlanmalıdır. Makro algler tuzlu su türleri grubu içerisinde önemli türlerinden olan *Codium fragile* hem yetiştiriciliği hem de toplayıcılığı yapılması tavsiye edilmektedir.

Dünyadaki alglerin ticarileşme potansiyeli son yıllarda artmaktadır. İlginin artmasına bağlı olarak yapılan çalışmalar olmasına rağmen hala alglerde keşfedilmeyi bekleyen bileşikler mevcuttur. Sürdürülebilir ve çevre dostu hammaddeler içerisine dahil edeceğimiz algler, daha fazla araştırılmalıdır. Çünkü alglerin farklı araştırmalar yapılarak uygulanacak yöntemlerle besinsel içeriklerini ve yararlılığını zenginleştirmek önem arz etmektedir. Organik ve sürdürülebilir su ürünleri yetiştiriciliğinin önem kazanmasıyla birlikte fermente alg ürünlerin kullanımı yaygınlaşması sağlanmalıdır. Buna bağlı olarak **insan ve hayvan metabolizmasında yarattığı etkiler** üzerine araştırmalar yapılmalıdır.

Alglerin besin değerlerinin ve farklı yararlarını fermantasyon yöntemiyle yüksek değerlere çıkarabilmek yem ve gıda endüstrisi açısından büyük önem arz etmektedir. Algler endüstriyel kullanım alanları ise tarımsal üretimde gübre olarak, akvaryum

balıkları yemlerinde kümes hayvanları endüstrisi ve su ürünleri yetiştiriciliği gibi geniş bir yelpazesi mevcuttur. Yapılan araştırmalar sonucu gösteriyor ki ekonomik değeri saptanan algler ülke ekonomisine kazandırılmalı ve bu yönde hem su ürünleri sektörü başta olmak üzere kozmetik, eczacılık, gıda, tarım, hayvancılık gibi farklı sektörde kullanımı arttırılmalı ve geliştirilmesi sağlanmalıdır.

Sürdürülebilir bir gelecek için hayvansal üretimde canlıların ihtiyaç duyduğu alternatif yem hammaddesi olarak daha az maliyetli ekonomik canlıların kullanılması önemlidir. Denizel kaynaklarımızın ekolojik olarak sürdürülebilirliğini koruması gerekmektedir. Ülkemiz denizlerinde ve iç sularında bulunan alglerin en iyi şekilde değerlendirerek **ülkemiz ekonomisine katkısının** daha da arttırılması sağlanmalıdır.

Ekonomik değeri yüksek olan alglerin besin içerikleri ve biyo yararlılığı arttırıcı tekniklerin araştırılarak geliştirilmesi önem arz etmektedir. Bu araştırma sonunda elde edilen verilere bakıldığında makro alglerde yapılacak zenginleştirme ve iyileştirme çalışmaları sayesinde birçok sektörde kaynak olarak kullanılabilirliğini arttırarak ekonomik değere sahip ürün ortaya çıkarmaktır. Bununla birlikte hem yeni bir iş sektörü hem de *Codium fragile* türünün sektör bazlı kullanımı arttırılarak **ulusal ve uluslararası bir pazarı** oluşturulmuş olacaktır.

Bu çalışma **alglerin fermantasyon** ile etkinliğinin artırılması üzerine yapılacak araştırmaların önemini arttırmaktadır. Alg içeren yem katkı maddelerinin canlı deney hayvanlarında, **tavuk ve balık** gibi türlerin üzerinde kullanımı önerilmektedir.

## KAYNAKÇA

- Ak, I., & Türker, G. (2019). Antioxidant Activities of *Eucheuma* sp. (Rhodophyceae) and *Laminaria* sp. (Phaeophyceae). *Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology*, 7(sp1): 154-159. DOI: <https://doi.org/10.24925/tur-jaf.v7isp1.154-159.2791>
- Akimoto, S., Tomo, T., Naitoh, Y., Otomo, A., Murakami, A., & Mimuro, M. (2007). Identification of a new excited state responsible for the in vivo unique absorption band of siphonaxanthin in the green alga *Codium fragile*. *J. Phys. Chem. B.*, vol. 111 (pg. 9179-9181).
- Aksay, Ö. (2019). *Farklı fermantasyon yöntemlerinin kaparilerdeki (Capparis spinosa) biyoaktif bileşenler üzerine etkileri* [Yayınlanmış Yüksek Lisans Tezi], Adana Alparslan Türkeş Bilim ve Teknoloji Üniversitesi.
- Albayatı, M. A. F., Akköz, C., Güneş, E., Keskinaya, H. B., & Okudan, E. Ş. (2019). *C. fragile* ve *Jania rubens* makro alglerinin antibakteriyel aktivitelerinin araştırılması. V. *International Congress on Natural and Health Sciences*, (ICNHS).
- Al-Homaidan, A. (2007). Heavy metal concentration in three species of green algae from the Saudi coast of the Persian Gulf. *J. Food Agriculture Environment*, 5(3-4): 345-358.
- Alp, M. T., Ozbay, O., & Sungur, M. A. (2012). Determination of Heavy Metal Levels in Sediment and Macroalgae (*Ulva* Sp. and *Enteromorpha* Sp.) on the Mersin Coast. *Ecology*, 21(82), 47-55.
- Amutha, K., & Kokila, V. (2015). Cholesterol Lowering Property of *Lactobacillus plantarum* Isolated from Cow Milk. *IJPSR.*, 6(3): 1184-1189.
- Ang, C. Y., Yong, A. S. K., Azad, S. al, Lim, L. S., Zuldin, W. H., & Lal, M. T. M. (2021). Valorization of macroalgae through fermentation for aquafeed production: A review. In *Fermentation* (Vol. 7, Issue 4). MDPI. <https://doi.org/10.3390/fermentation7040304>
- AOAC Official Method 962.09:(1998). Fiber (Crude) in Animal Feed and Pet Food.
- Ardiansyah, D., Hartinah, I. W. (2018). Improvement of the Nutritive Quality of Sargassum Powder through *Aspergillus niger*, *Saccharomyces cerevisiae*, and *Lactobacillus* Spp. Fermentations. *AACL Bioflux*, 11, 753–764.
- Arguelles, E. D. (2020). Evaluation of Nutritional Composition and in vitro Antioxidant and Antibacterial Activities of *Codium intricatum* Okamura from Ilocos Norte (Philippines). *Jordan Journal of Biological Sciences*, 13(3), 375-382.
- Artüz, M. L. (2002). Marmara ve Boğazların Ekolojisi ve Değişimler. BÜ Deniz Teknolojisi Sempozyumu.

- Babayev, H. (2015). *Gemlik Körfezi'nin (Marmara Denizi) Geç Kuvaterner Stratigrafisi ve Morfotektoniği* [Yayınlanmış Yüksek Lisans Tezi]. İstanbul Teknik Üniversitesi.
- Beijerinck, M. W. (1901). "Sur les ferments lactiques de l'industrie" (Fransızca). 6. Archives Néerlandaises des Sciences Exactes et Naturelles (Section 2): 212-243.
- Benton, C. S., Mathieson, A. C., & Klein, A. S. (2015). Ecology of *C. fragile* population within salt Marsh Pannes in southern maine. *Rhodora*, Vol. 117, No. 971, 297–316,
- Berenjian, A. (2019). *Essentials in Fermentation Technology* Springer International Publishing 10.1007/978-3-030-16230-6.
- Berik, N., & Çankırlılıgil, E. C. (2019). The Elemental Composition of Green Seaweed (*Ulva rigida*) Collected from Çanakkale, Turkey. *Aquat. Sci. Eng.*, 34, 74–79.
- Bielecki, S., Krystynowicz, A., Turkiewicz, M., & Kalinowska, H. (2000). Bacterial Cellulose. In: Steinbuchel A (Ed), *Biopolymers: Polysaccharides I*, Vol.7, pp. 37-90. Wiley-VCH Verlag GmbH, Munster, Germany.
- Borden, C. A., & Stein, I. R. (1969). Reproduction and early development in *C. fragile* (Suringar) Hariot: Chlorophyceae. *Phycologia*, 8, 91–99.
- Bouck, G. B., & Morgan, E. (1957). The occurrence of *Codium* in Long Island waters. *Journal of the Torrey Botanical Society*, 84, 384– 387.
- Brain-Isasi, S., Carú, C., & Lienqueo, M. E. (2021). Valorization of the green seaweed *Ulva rigida* for production of fungal biomass protein using a hypercellulolytic terrestrial fungus. *Algal Res.*, 59 102457, <https://doi.org/10.1016/j.algal.2021.102457>.
- Brindo, R. A. & Felix, N. (2014). Effects of Raw and Fermented Seaweed, *Padina tetrastomatica* on the Growth and Food Conversion of Giant Freshwater Prawn *Macrobrachium rosenbergii*. *Int. J. Fish. Aquat. Stud.*, 1, 108–113.
- Burrows, E. M. (1991). *Seaweeds of the British Isles: Volume 2, Chlorophyta*. Natural History Museum, London. p. 222.
- Buschmann, A. H., Camus, C., Infante, J., Neori, A., Israel, Á., Hernández-González, M. C., Pereda, S. V., Gomez-Pinchetti, J. L., Golberg, A., Tadmor-Shalev, N., & Critchley, A. T. (2017). Seaweed production: overview of the global state of exploitation, farming and emerging research activity. *Eur. J. Phycol.*, 52 pp. 391-406.
- Caleja, C., Barros, L., Antonio, A. L., Carocho, M., Oliveira, M. B. P., & Ferreira, I. C. (2016). Fortification of yogurts with different antioxidant preservatives: A comparative study between natural and synthetic additives. *Food chemistry*, 210, 262-268.

- Castellanos-Barriga, L. G., Santacruz-Ruvalcaba, F., Hernández-Carmona, G., Ramírez-Briones, E., & Hernández-Herrera, R. M. (2017). Effect of Seaweed Liquid Extracts from *Ulva lactuca* on Seedling Growth of Mung Bean (*Vigna radiata*). *Journal of Applied Phycology*, 29(5), 2479-2488.
- Celikler, S., Vatan, O., Yildiz, G., & Bilaloglu, R. (2009). Evaluation of Anti-Oxidative, Genotoxic and Antigenotoxic Potency of *Codium Tomentosum* Stackhouse Ethanolic Extract in Human Lymphocytes In Vitro. *Food. Chem. Toxicol.*, 47, 796–801.
- Celikler, S., Vatan, O., Yildiz, G., & Bilaloglu, R. (2009). Evaluation of anti-oxidative, genotoxic and antigenotoxic potency of *Codium tomentosum* Stackhouse ethanolic extract in human lymphocytes in vitro. *Food and chemical toxicology*, 47(4), 796-801.
- Chapman, V. J., & Chapman, D. J. (1980). *Seaweeds and Their Uses*. 3rd Edition, Chapman and Hall, Ltd., London. <http://dx.doi.org/10.1007/978-94-009-5806-7>.
- Chen, H., Zhou, D., Luo, G., Zhang, S., & Chen, J. (2015). Macroalgae for biofuels production: progress and perspectives. *Renew. Sust. Energ. Rev.*, 47 pp. 427-437.
- Choi, J. H., Sapkota, K., Park, S. E., Kim, S., & Kim, S. J. (2013). Thrombolytic, Anticoagulant and Antiplatelet Activities of Codinase, a Bi-Functional Fibrinolytic Enzyme from *Codium fragile*. *Biochimie*, 95 (6), 1266–1277. doi:10.1016/j.biochi.2013.01.023
- Choi, Y., Lee, E.C., Na, Y. & Lee, S. R. (2018) Effects of Dietary Supplementation with Fermented and Non-Fermented Brown Algae by-Products on Laying Performance, Egg Quality, and Blood Profile in Laying Hens. *Asian-Australasian J. Anim. Sci*, 31, 1654–1659.
- Churchill, A. C., & Moeller, H. W. (1972). Seasonal patterns of reproduction in New York populations of *C. fragile* subsp. *tomentosoides* (Van Goor) Silva. *J. Phycol.*, 8, 147–152.
- Chye, F. Y., Ooi, P. W., Ng, S. Y., & Sulaiman, M. R. (2017). Fermentation-Derived Bioactive Components from Seaweeds: Functional Properties and Potential Applications. <https://doi.org/10.1080/10498850.2017.1412375>, 27(2), 144–164. <https://doi.org/10.1080/10498850.2017.1412375>
- Cirik, Ş., & Cirik, S. (1999). Su Bitkileri (Deniz Bitkilerinin Biyolojisi Ekolojisi Yetiştirme Teknikleri), Ege Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Yayınları No: 58. Ders Kitabı, 188s.
- Coffin, G. W., & Stickney, A. P. (1966). *Codium* enters Maine waters. *Fish. Bull.* (Fish. Wildlife Serv. U.S.) 66: 159-161.
- Das, M., Ganguly, A., & Haldar, P. (2012). Effect of food plants on nutritional ecology of two acridids (Orthoptera: Acrididae) to provide alternative protein supplement for poultry. *Turkish J. Zool.*, 36 (5): 699-718.

- De Vrese, M., & Schrezenmeir, J. (2008). Probiotics, Prebiotics, and Synbiotics. *Advances. Biochemical Engineering Biotechnology*. 111: 1-66.
- Dembitsky, V. M., Řezanková, H., Řezanka, T., & Hanuš, L. O. (2003). Variability of the fatty acids of the marine green algae belonging to the genus *Codium*. *Biochem Sys Ecol*, 31, pp. 1125-1145.
- Druzhinina, I., & Kubicek, C. P. (2005). Species concepts and biodiversity in *Trichoderma* and *Hypocrea*: From aggregate species to species clusters. *Journal of Zhejiang University Science B*, 6(2): 100-112.
- Earl, A. M., Losick, R., & Kolter, R. (2008). "*Bacillus subtilis*'in ekolojisi ve genomı". *Mikrobiyolojide Eğilimler*. 16(6): 269-75. doi: 10.1016/j.tim.2008.03.004.
- Edwards, M. D., Holdt, S. L., & Hynes, S. (2012). Algal eating habits of phycologists attending the ISAP Halifax Conference and members of the general public. *Journal of Applied Phycology*, 24(3), 627-633.
- EFSA Biyolojik Tehlikeler Paneli (BIOHAZ) (2010). "Gıda veya yemlere kasıtlı olarak eklenen QPS mikroorganizmalarının listesinin bakımına ilişkin bilimsel görüş (2010 güncellemesi)". *EFSA Dergisi*. 8 (12): 1944. doi: 10.2903/j.efsa.2010.1944.
- Ehrenberg, C. G. (1835). Über die Akalephen des Rothen Meeres und den Organismus der Medusen der Ostsee. *Abhandlungen der Kciniglichen Akademie der Wissenschaften zu Berlin*, (1835): 1 8 1-260.
- Erkmen, O., Bozoglu, T. F. (2016). Food Microbiology: Principles Into Practice, Wiley pp. 228-252, 10.1002/9781119237860.ch39.
- Errington, J., & Aart, L. T. (2020). Microbe Profile: *Bacillus subtilis*: Model Organism for Cellular Development, and Industrial Workhorse. *Microbiology*, 166, 425- 427, DOI: 10.1099/mic.0.000922
- Espinosa, F., Guerra-García, J. M., & García-Gómez, J. C. (2007). Sewage pollution and extinction risk: an endangered limpet as bioindicator. *Biodiversity and Conservation*, 16, 377-397.
- FAO, (2020). The State of World Fisheries and Aquaculture 2020. Sustainability in Action. FAO Fisheries and Aquaculture Department, Rome, Italy.
- Feldmann, H. (2010). Maya. Moleküler ve Hücre biyo. Wiley-Blackwell. ISBN'si 978-3527326099.
- Fernandes, H., Salgado, J. M., Martins, N., Peres, H., Oliva-Teles, A., & Belo, I. (2019). Sequential bioprocessing of *Ulva rigida* to produce lignocellulolytic enzymes and to improve its nutritional value as aquaculture feed. *Bioresource technology*, 281, 277-285.

- Ferreira, C. A. M., Felix, R., Felix, C., Januario, A. P., Alves, N., Novais, S. C., & (2021). A biorefinery approach to the biomass of the seaweed *Undaria pinnatifida* (Harvey suringar, 1873): Obtaining phlorotannins enriched extracts for wound healing. *Biomolecules*, 11(3), 1–20. <https://doi.org/10.3390/biom11030461>
- Ferreira, M., Fernandes, H., Peres, H., Oliva-Teles, A., Belo, I., & Salgado, J. M. (2020). Bio-Enrichment of Oilseed Cakes by *Mortierella alpina* under Solid-State Fermentation. *LWT-Food Sci. Technol.*, 134.
- Fralick, R. A., & Mathieson, A. C. (1973). Ecological studies of *C. fragile* in New England, U.S.A. *Mar. Biol.*, 19, 127–132.
- Fytianos, K., Evgenidou, G. & Zachariadis, G. (1999). Use of macroalgae as biological indicators of heavy metal pollution in Thessaloniki Gulf, Greece. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 62:630-637.
- Goiris, K., Muylaert, K., Fraeye, I., Foubert, I., Brabanter J., & De Cooman, L. (2012). Antioxidant potential of microalgae in relation to their phenolic and carotenoid content. *Journal of Applied Phycology*, 24 (6), pp. 1477-1486.
- Guiry, M. D., & Guiry, G. M. (2016). AlgaeBase. World-wide electronic publication, National University of Ireland, Galway. Available from: <http://www.algaebase.org>. Accessed Feb 16, 2016.
- Güner, H. & Aysel, V. (1999). *Tohumusuz Bitkiler Sistematigi*. Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Kitaplar Serisi No:108.
- Güroy, B., Güroy, D., Bilen, S., Kenanoğlu, O. N., Şahin, I., Terzi, E., Karadal, O., & Mantoğlu, S. (2022). Effect of dietary *Spirulina* (*Arthrospira platensis*) on the growth performance, immune-related gene expression and resistance to *Vibrio anguillarum* in European seabass (*Dicentrarchus labrax*) First published: 20 January 2022 <https://doi.org/10.1111/are.15745>.
- Güroy, B., Güroy, D., Mantoğlu, S., Çelebi, K., Şahin, O. I., Kayalı, S., & Canan, B. (2019). Dietary *Spirulina* (*Arthrospira platensis*, Gomont, 1892) improved the flesh quality and shelf life of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum, 1792) fed fish meal or plant-based diet. *Aquaculture Research*, 50(9), 2519–2527.
- Hardjani, D. K., Suantika, G. & Aditiawati, P. (2017). Nutritional Profile of Red Seaweed *Kappaphycus alvarezii* after Fermentation Using *Saccharomyces cerevisiae* as a Feed Supplement for White Shrimp *Litopenaeus vannamei* Nutritional Profile of Fermented Red Seaweed. *J. Pure Appl. Microbiol.*, 11, 1637–1645.
- Hatano, T., Kagawa, H., Yasuhara, T. & Okuda, T. (1988). Two New Flavonoids and Other Constituents in Licorice Root: Their Relative Astringency and Radical Scavenging Effects. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*. 36: 2090–2097.
- Hogg, S. (2005). Temel Mikrobiyoloji (1. baskı). Wiley. s. 99–100, 118–148. ISBN'si 0-471-49754-1.

- Hua, K., Cobcroft, J. M., Cole, A., Condon, K., Jerry, D. R., Mangott, A., & Strugnelli, J. M. (2019). The future of aquatic protein: implications for protein sources in aquaculture diets. *One Earth*, 1(3), 316-329.
- Iranmanesh, S., Razban, F., Tirgari, B., & Zahra, G. (2014). Nurses' knowledge about palliative care in Southeast Iran. *Palliative & Supportive Care* 12, 203-210. doi: 10.1017/S1478951512001058.
- Jiao, G., Yu, G., Zhang, J., & Ewart, H. S. (2011). Chemical structures and bioactivities of sulfated polysaccharides from marine algae. *Marine Drugs*, 9(2), 196–223. <https://doi.org/10.3390/md9020196>.
- Kadam, S. U., Tiwari, B. K., & O'Donnell, C. P. (2013). Application of novel extraction technologies for bioactives from marine algae. *J. Agric. Food Chem.*, 61, pp. 4667-4675, 10.1021/jf400819p.
- Kamala-Kannan, S., Prabhu, B., Dass Batvari, K. L., Lee, N., Kannan, R., Krishnamoorthy, K., Shanthi, & Jayaparakash, M. (2008). Assessment of heavy metals (Cr, Cd and Pb) in water, sediments and seaweed (*Ulva lactuca*) in the Pulicat Lake, Southeast India. *Chemosphere*, 71(7): 1233-1240.
- Kaur, I. P. Chopra, K. & Saini, A. (2002). Probiotics: Potential Pharmaceutical Applications. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*. 15: 1–9.
- Keskinkaya, H. B., Gümüş, N. E., Aşıkkutlu, B., Akköz, C., Okudan, E. Ş., & Karakurt, S. (2020). Macro and Trace Element Levels of Green Algae *Codium fragile* (Suringar) Hariot 1889 From Dardanelles (Çanakkale/Turkey). *Anadolu Orman Araştırmaları Dergisi*, 6(2), 55-61. <http://dergipark.gov.tr/ajfr> 55.
- Kılıç, S., (2001). Süt Endüstrisinde Laktik Asit Bakterileri. Ege Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Süt Teknolojisi Bölümü, 1. Basım, 193-194s., İzmir.
- Kim, S. K. (2011). Handbook of Marine Macroalgae: Biotechnology and Applied Phycology, *John Wiley & Sons*, 10.1002/9781119977087.
- Kirpenko, N. I., Usenko, O. M., & Musiy, T. O. (2015). Variability of the biochemical composition of algae (A review). *Hydrobiological Journal*, 51(1).
- Kolsi, R. B. A., Jardak, N., Hajkacem, F., Chaaben R., jribi, I., Feki, A. E., Rebai, T., Jamoussi, K., Fki, L., Belghith H., & Belghith, K. (2017). Anti-obesity effect and protection of liver -kidney functions by *Codium fragile* sulphated polysaccharide on high fat diet induced obese rats. *Int. J. Biol. Macromol.*, 102 pp. 119-129.
- Kredics, L., Antal, Z., Manczinger, L., Szekeres, A., Kevei, F., & Nagy, E. (2003). Trichoderma strains with biocontrol potential. *Food Technology and Biotechnology*, 41(1): 37-42.
- Landeta-Salgado, C., Cicatiello, P., & Lienqueo, M. E. (2021). Mycoprotein and hydrophobin like protein produced from marine fungi *Paradendryphiella salina* in

- submerged fermentation with green seaweed *Ulva spp.* *Algal Res.*, 56, 102314, <https://doi.org/10.1016/j.algal.2021.102314>.
- Larios-Cruz, R., Londoño-Hernández, L., Gómez-García, R., García-Galindo, I., Sepulveda, L., Rodríguez-Herrera, R., & Aguilar, C. N. (2019). Extraction of bioactive molecules through fermentation and enzymatic assisted Technologies S. Saran, V. Babu, A. Chuabey (Eds.), *High Value Fermentation Products: Human Health I*, John Wiley & Sons, pp. 27-59, 10.1002/9781119460053.ch2.
- Leyton, A. L., Flores, P., Mäki-Arvela, M. E., & Lienqueo, C. (2019). Shene *Macrocystis pyrifera* source of nutrients for the production of carotenoids by a marine yeast *Rhodotorula mucilaginosa*. *J. Appl. Microbiol.*, 127, pp. 1069-1079, 10.1111/jam.14362.
- Ilias, N. N., Jamal, P., Jaswir, I., Sulaiman, S., Zainudin, Z. & Azmi, A. S. (2015). Potentiality of Selected Seaweed for the Production of Nutritious Fish Feed Using Solid State Fermentation. *J. Eng. Sci. Technol*, 10, 30–40
- Liong, M. T., & Shah, N. P. (2005). Bile Salt Deconjugation Ability, Bile Salt Hydrolase Activity and Cholesterol Co-Precipitation Ability of Lactobacilli Strains. *Int. Dairy J.*, 15: 391–398.
- Loaiza Bonilla, A. M., Rodríguez-Jasso, R. M., Belmares, R., López-Badillo, C. M., Araujo, R. G., Aguilar, C. N., Chavez, M. L; Aguilar, M. A & Ruiz, H. A. (2022). Fungal Proteins from *Sargassum* spp. Using Solid-State Fermentation as a Green Bioprocess Strategy. *Molecules*, 27, 3887.
- Macartain, P., Gill, C. I. R., Brooks, M., Campbell, R., & Rowland, I. R. (2007). Special Article Nutritional Value of Edible Seaweeds. *Nutr. Rev.*, 65, 535–543.
- MacDonald-Wicks, L. K., Wood, L. G., & Garg, M. L. (2006). Methodology for the determination of biological antioxidant capacity in vitro: a review. *J Sci Food Agric*, 86:2046–2056.
- Madhusudan, C., Manoj, S., Rahul, K., & Rishi, C. M. (2011). Seaweeds: A diet with nutritional, medicinal and industrial value. *Research Journal Medicinal Plant*, 5(2), 153–157.
- Madigan, M. & Martinko, J. (2005). Brock biology of microorganisms. *Int. Microbiol*, 8.
- Manivannan, K., Thirumaran, G., Karthikai Devi, G., Hemalatha, A. & Anantharaman, P. (2008). Biochemical Composition of Seaweeds from Mandapam Coastal Regions along Southeast Coast of India. *American-Eurasian Journal of Botany*, 1 (2): 32-37,
- Marques, R., Cruz, S., Calado, R., Lilleb, A., Abreu, H., Pereira, R., Pitarma, B. J. M., & da Silva, P. (2021). Cartaxana Effects of photoperiod and light spectra on growth and pigment composition of the green macroalga *Codium tomentosum* J. *Appl. Phycol.*, 33, pp. 471-480, 10.1007/s10811-020-02289-9.

- Mavili, S. (2011). Distribution of Hydromedusae Population and Aglaura hemistoma Péron and Lesueur, 1810 (*Cnidaria hydrozoa*) in the surface layers (0-10 m) of Izmir Bay (Aegean Sea). *Ege Univ J Fish Aquat Sci*, 28, 25-28.
- McWilliam, J., Clements, R., & Dowling, P. (1970). Some factors influencing the germination and early seedling development of pasture plants. *Crop Pasture Sci.*, 21 (1): 19–32.
- Mohamed, L. A., & Khaled, A. (2005). Comparative study of heavy metal distribution in some coastal seaweeds of Alexandria, Egypt. *Chemistry and Ecology*, 21(3), 181-189.
- Monmai, C., Rod-In, W., Jang, A. Y., Lee, S. M., Jung, S. K., You, S., & Park, W. J. (2020). Immune-Enhancing Effects of Anionic Macromolecules Extracted from *Codium fragile* Coupled with Arachidonic Acid in RAW264.7 cells. *PLoS One* 15: e0239422. doi: 10.1371/journal.pone. 0239422
- Moon, S. M., Lee, S. A., Han, S. H., Park, B. R., Choi, M. S., Kim, J. S., Kim, S. G., Kim, H. J., Chun, H. S., & Kim, D. K. (2018). Aqueous extract of *Codium fragile* alleviates osteoarthritis through the MAPK/NF- $\kappa$ B pathways in IL-1 $\beta$ -induced rat primary chondrocytes and a rat osteoarthritis model. *Biomed. Pharmacother.*, 97, 264–270.
- Morgan, D. (2007). *The Cell Cycle: Principles of Control*. Sinauer Associates.
- Murphy, A., & Kavanagh, K. (1999). "Emergence of *Saccharomyces cerevisiae* as a human pathogen. Implications for biotechnology" (PDF). *Enzyme and Microbial Technology*. 25 (7): 551–557. doi:10.1016/S0141-0229(99)00086-1.
- Mwalugha, H. M., Wakibia, J. G., Kenji, G. M., & Mwasaru, M. A. (2015). Chemical Composition of Common Seaweeds from the Kenya Coast. *Journal of Food Research*, 4(6), 28. <https://doi.org/10.5539/jfr.v4n6p28>
- Nagamine, T., Nakazato, K., Tomioka, S., Iha, M., & Nakajima, K. (2015). Intestinal absorption of fucoxanthin extracted from the Brown seaweed, *cladosiphon okamuranus*. *Mar. Drugs*, 13 pp. 48-64.
- Naidu, A. S., Bidlack, W. R. & Clemens, R. A. (1999). “Probiotic Spectra of Lactic Acid Bacteria”, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 38 (1): 13-126.
- Nakano, M. M., & Zuber, P. (1998). Anaerobic growth of a “strict aerobe”(Bacillus subtilis). *Annual review of microbiology*, 52(1), 165-190.
- Ortiz, J., Uquiche, E., Robert, P., Romero, N., Quitral, V., & Llantén, C. (2009). Functional and nutritional value of the Chilean seaweeds *Codium fragile*, *Gracilaria chilensis* and *Macrocystis pyrifera*. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 111(4),320–327. <https://doi.org/10.1002/EJLT.200800140>
- Pamir, H. (1985). Fermentasyon Mikrobiyolojisi; Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, No: 936 328 Ankara (in Turkish).

- Papavizas, G. C. (1985). Trichoderma and giocladium: Biology, ecology, and potential for biocontrol. *Annual Review Phytopathology*, 23: 23-54.
- Peker, F. (2007). *İstanbul Boğazı Deniz Kirliliğine Sebep Olan Kirlletici Kaynaklar ve Su Kalitesinin Değişimleri* [Yayımlanmış Yüksek Lisans Tezi]. Yıldız Teknik Üniversitesi.
- Pereira, D. I. A., & Gibson, G. R. (2002). Effects of Consumption of Probiotics and Prebiotics on Serum Lipid Levels in Humans. *Crit Rev Biochem Mol Biol.* 37: 259.
- Poblete-Castro, I., Hoffmann, S. L., Becker, J., & Wittmann, C. (2020). Cascaded valorization of seaweed using microbial cell factories. *Curr. Opin. Biotechnol.*, 65, pp. 102-113, 10.1016/j.copbio.2020.02.008.
- Prescott, L. M., Harley, J. P., & Klein, D. A. (1996). Microbiology. Dubuque, IA: Wm. C. C. Brown.
- Provan, J., Booth, D., Todd, N. P., Beatty, G. E., & Maggs, C. A. (2008). Tracking biological invasions in space and time: elucidating the invasive history of the green alga *C. fragile* using old DNA. *Divers. Distrib.* 14 (2), 343–354
- Rafiquzzaman, S. M., Kong, I. S., & Kim, J. M. (2015). Enhancement of antioxidant activity, total phenolic and flavonoid content of *Saccharina japonica* by submerged fermentation with *Aspergillus oryzae*. *KSBB Journal*, 30 27–32, <https://doi.org/10.7841/ksbbj.2015.30.1.27>.
- Rajauria, G., Cornish, L., Ometto, F., Msuya, F. E., & Villa, R. (2015). Identification and selection of algae for food, feed, and fuel applications B.K. Tiwari, D.J. Troy (Eds.), Seaweed Sustainability, Food and Non-food Applications, *Academic Press*, pp. 315-345, 10.1016/B978-0-12-418697-2.00012-X.
- Reboleira, J., Silva, S., Chatzifragkou, A., Niranjana, K., & Lemos, M. F. L. (2021). Seaweed fermentation within the fields of food and natural products. *In Trends in Food Science and Technology*, (Vol. 116, pp. 1056–1073). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.08.018>
- Reiniati, I., Hrymak, A. N., & Margaritis, A. (2017). Recent developments in the production and applications of bacterial cellulose fibers and nanocrystals. *Critical Reviews in Biotechnology*, 37(4), 510-524.
- Rey, F., Cartaxana, P., Melo, T., Calado, R., Pereira, R., Abreu, H., Domingues, P., Cruz, S., & Domingues, M. R. (2020). Domesticated Populations of *Codium tomentosum* Display Lipid Extracts with Lower Seasonal Shifts than Conspecifics from the Wild Relevance for Biotechnological Applications of this Green Seaweed. *Mar. Drugs*, 18, 188.
- Rezac, S., Kok, C. R., Heermann, M., & Hutkins, R. (2018). Fermented foods as a dietary source of live organisms. *Frontiers in microbiology*, 9, 1785.

- Rezac, S., Kok, C. R., Heermann, M., & Hutkins, R. (2018). Fermented foods as a dietary source of live organisms. *Frontiers in microbiology*, 9, 1785.
- Rodrigues, D., Freitas, A. C., Pereira, L., Rocha-Santos, T. A. P., Vasconcelos, M. W., Roriz, M., Rodríguez-Alcalá, L. M., Gomes, A. M. P., & Duarte, A. C. (2015). Chemical composition of red, brown and green macroalgae from Buarcos bay in Central West Coast of Portugal. *Food Chemistry*, 183, 197–207. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.03.057>
- Ryan, K. J., & Ray, C. G. (2004). Sherris Tibbi Mikrobiyoloji (4. baskı). *McGraw Tepesi*. s. 460–462. ISBN'si 0-8385-8529-9.
- Ryu, B., & Kim, S. K. (2013). Isolation and biological activities of peptides from marine microalgae by fermentation S.K. Kim (Ed.), *Marine Proteins and Peptides: Biological Activities and Applications*, John Wiley & Sons, pp. 441-448, 10.1002/9781118375082.ch21.
- Safi, C., Ursu, A. V., Laroche, C., Zebib, B., Merah, O., Pontalier, P. Y., & Vaca-Garcia, C. (2014). Aqueous extraction of proteins from microalgae: effect of different cell disruption methods. *Algal Res.*, 3 pp. 61-65, 10.1016/j.algal.2013.12.004.
- Salgado, C. L., Muñoz, R., Blanco, A., & Lienqueo, M. E. (2021). Valorization and upgrading of the nutritional value of seaweed and seaweed waste using the marine fungi *Paradendryphiella salina* to produce mycoprotein. *Algal Research*, 53, 102135.
- Samuels, G. J. (2006). Trichoderma: Systematics, the sexual state, and ecology. *Phytopathology*, 96(2): 195-206.
- Septembre-Malaterre, A., Remize, F., & Poucheret, P. (2018). Fruits and vegetables, as a source of nutritional compounds and phytochemicals: changes in bioactive compounds during lactic fermentation. *Food Res. Int.*, 104, pp. 86-99, 10.1016/j.foodres.2017.09.031.
- Shahidi, F. (2009). Nutraceuticals and Functional Foods: Whole versus Processed Foods. *Trends in Food Science & Technology*, 20, 376-387. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tifs.2008.08.004>.
- Silva, P. C. (1955). The dichotomous species of *Codium* in Britain. *J. Mar. Biol. Assoc. U. K.* 34: 565-577.
- Sindhi, V., Gupta, V., Sharma, K., Bhatnagar, S., Kumari, R., & Dhaka, N. (2013). Potential applications of antioxidants a review. *J Pharm Res*, 7:828–835.
- Singhsa, P., Narain, R. & Manuspiya, H. (2018). Physical structure variations of bacterial cellulose produced by different *Komagataeibacter xylinus* strains and carbon sources in static and agitated conditions. *Cellulose*, 25, 1571-1581.

- Skrzypczyk, V. M., Hermon, K. M., Norambuena, F., Turchini, G. M., Keast, R., & Bellgrove, A. (2019). Is Australian seaweed worth eating? Nutritional and sensorial properties of wild-harvested Australian versus commercially available seaweeds. *Journal of Applied Phycology*, 31(1), 709–724. <https://doi.org/10.1007/s10811-018-1530-2>
- Soomro A. H., Arain M. A., Khaskheli M., & Bhutto B. (2002). Isolation of *Escherichia coli* from raw milk and milk products in relation to public health sold under market conditions at Tandojam. *Pak. J. Nutr.*, 1(3):151–152.
- Stefanini, G. G., Byrne, R. A., Serruys, P. W. (2012). Biodegradable Polymer drug-Eluting Stents Reduce the Risk of Stent Thrombosis at 4 Years in Patients Undergoing Percutaneous Coronary Intervention: A Pooled Analysis of Individual Patient Data from the ISAR-TEST 3, ISAR-TEST 4, and LEADERS Randomized Trials. *European Heart Journal*, 33, 1214-1222. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehs086>.
- Suna, G. (2020). *Spirulina Platensis ve Chlorella Vulgaris ile Zenginleştirilmiş Probiyotik Beyaz Peynir Üretiminin Araştırılması* [Yayımlanmış Yüksek Lisans Tezi]. Bursa Uludağ Üniversitesi.
- Sunlu, U. & Özdemir, E. (1999). Su Kalitesi. Ege Üniversitesi Ürünleri Fakültesi.
- Suraiya, S., Lee, J. M., Cho, H. J., Jang, W. J., Kim, D. G., Kim, Y. O., & Kong, I. S. (2018). *Monascus spp.* Fermented Brown Seaweeds Extracts Enhance Bio-Functional Activities. *Food Biosci.*
- Surget, G., Roberto, V. P., Le Lann, K., Mira, S., Guérard, F., Laizé, V., Poupart, N., Cancela, M. L. & Stiger-Pouvreau, V. (2017). Marine green macroalgae: A source of natural compounds with mineralogenic and antioxidant activities. *J. Appl. Phycol.*, 29, 575–584.
- Syrpas, M., & Venskutonis, P. R. (2020). Algae for the production of bio-based products C.M. Galanakis (Ed.). *Biobased Products and Industries*, pp. 203-243, 10.1016/B978-0-12-818493-6.00006-3.
- Tabarsa, M., Karnjanapratum, S., Cho, M., Kim, J. K., & You, S. (2013). Molecular characteristics and biological activities of anionic macromolecules from *Codium fragile*. *Int. J. Biol. Macromol.*, 59, 1–12.
- Tanna, B., & Mishra, A. (2018). Metabolites unravel nutraceutical potential of edible seaweeds: an emerging source of functional food. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.*, 17 pp. 1613-1624, 10.1111/1541-4337.12396.
- Taşçı, D., & Güroy, B. (2022). Çanakkale Boğazı, Gemlik Körfezi ve İzmit Körfezi'nin Fiziko-Kimyasal Özelliklerinin *Ulva rigida*'nın Biyokimyasal Özelliklerine ve Yetiştiricilik Potansiyeline Etkisi. Uluslararası Marmara Fen bilimleri Kongresi.

- Tebbani, S., Lopes, F., Filali, R., Dumur, D., & Pareau D. (2014). CO<sub>2</sub> Biofixation by Microalgae: Modeling, Estimation and Control, *John Wiley & Sons*, pp. 1-22, 10.1002/9781118984475.ch1.
- Tolpeznikaite, E., Ruzauskas, M., Pilkaityte, R., Bartkevics, V., Zavistanaviciute, P., Starkute, V., Lele, V., Zokaityte, E., Mozurienne, E., Ruibys, R., Klupsaite, D., Santini, A., & Bartkiene, E. (2021). Influence of fermentation on the characteristics of Baltic Sea macroalgae, including microbial profile and trace element content. *Food Control*, 129, 108235. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCONT.2021.108235>
- Turan, F., Ozgun, S., Sayin, S., & Ozyilmaz, G. (2015). Biochemical composition of some red and green seaweeds from Iskenderun Bay, the northeastern Mediterranean coast of Turkey. *J. Black Sea/Mediterranean Environment*, Vol. 21, No. 3: 239-249.
- Uymaz, B. (2010). Probiyotikler ve Kullanım Alanları. *Pamukkale Üniv. Mühendislik Bilimleri Derg.*, 16 (1): 95-104.
- Ünver, A. A., Bostan, K., Dinçel, E., & Varlık, C. (2017). Algerin insan gıdası olarak kullanımı. *Aydın Gastronomy*, 1(1): 47-59.
- van Dijk, J., & Hecker, M. (2013). *Bacillus subtilis*: from soil bacterium to super-secreting cell factory. *Microbial cell factories*, 12(1), 1-6.
- Verardo, V., Gómez-Caravaca, A. M., & Tabanelli, G. (2020). Bioactive components in fermented foods and food by-products *Foods*, 9, p. 153, 10.3390/foods9020153.
- Verlaque, M. (1994). Inventaire des plantes introduites en Méditerranée: origines et répercussions sur l'environnement et les activités humaines. *Oceanol Acta*, 17(1):1-23
- Vidal-Carou, C., Ferreira, M., Salgado, J. M., Fernandes, H., Peres, H., & Belo, I. (2022). Potential of Red, Green and Brown Seaweeds as Substrates for Solid State Fermentation to Increase Their Nutritional Value and to Produce Enzymes. *Foods*, Vol. 11, Page 3864, 11(23), 3864. <https://doi.org/10.3390/FOODS11233864>
- Wadi, A., Ahmad, A., Tompo, M., Hasyim, H., Tuwo, A., Nakajima, M., & Karim, H. (2019). Production of bioethanol from seaweed, *Gracilaria verrucosa* and *Eucheumacottonii*, by simultaneous saccharification and fermentation methods, *J. Phys. Conf. Ser.*, 1341 032031, <https://doi.org/10.1088/1742-6596/1341/3/032031>
- Wang, L., Oh, J. Y., Je, J. G., Jayawardena, T. U., Kim, Y. S., Ko, J. Y., Fu, X., & Jeon, Y. J. (2020). Protective effects of sulfated polysaccharides isolated from the enzymatic digest of *Codium fragile* against hydrogen peroxide-induced oxidative stress in in vitro and in vivo models. *Algal Res.*, 48, 101891.

- Yim, S. K., Kim, I., Warren, B., Kim, J., Jung, K., & Ku, B. (2021). Antiviral Activity of Two Marine Carotenoids against Sars-Cov-2 Virus Entry in Silico and in Vitro. *Int. J. Mol. Sci.*, 22, 6481.
- Yoon, H. D., Jeong, E. J., Choi, J. W., Lee, M. S., Park, M. A., Yoon, N. Y., Kim, Y. K., Cho, D. M., Kim, J. I., & Kim, H. R. (2011). Anti-inflammatory effects of ethanolic extracts from *Codium fragile* on LPS-stimulated RAW 264.7 macrophages via nuclear factor kappaB inactivation *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 14, pp. 267-274.
- Yu, A. C. S., Loo, J. F. C., Yu, S., Kong, S. K. & Chan, T. F. (2014). Monitoring bacterial growth using tunable resistive pulse sensing with a pore-based technique. *Appl. Microbiol. Biotechnol*, 98, 855-862.
- Yu, P., McKinnon, J. J. & Christensen, D. A. (2005). Improving the nutritional value of oat hulls for ruminant animals with pretreatment of a multienzyme cocktail: *in vitro* studies. *J. Anim. Sci.*, 83 (5): 1133-1141.
- Yüksel, K. (2009). İzmir ili ve çevresinde bulunan termal sularda gelişen bazı termofilik mavi-yeşil alglerin (siyanobakterilerin) izolasyonu ve moleküler yöntemlerle tayini (Yüksek Lisans Tezi). Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, İzmir, 82 s.
- Zar, J. H. (2001) Biostatistical Analysis, 4th edn. Prentice-Hall, Inc, Upper Saddle River, NJ, p 931

## ÖZGEÇMİŞ

Elif ŞAHİN. İlk ve orta öğrenimini İstanbul’da tamamladı. 2005 yılında Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Deniz Bilimleri ve Teknolojisi Fakültesi Su Ürünleri Mühendisliği Bölümünü kazandı. 2009 yılında mezun oldu. Mezuniyet sonrası özel sektörde 1 yıl kadar çalıştıktan sonra 2010 yılında Tarım ve Orman Bakanlığına Su Ürünleri Mühendisi olarak atandı.

## TEZDEN TÜRETİLEN YAYIN VE ESERLER

Şahin, E. & Güroy, B. (2022). Farklı Mikroorganizmalar ile Fermantasyonunun *Codium fragile*'un (Suringar) Hariot, 1889 Besin Kompozisyonu ve Antioksidan Aktivitesi Üzerinde Olan Etkileri Uluslararası Marmara Fen Bilimleri Kongresi (İMASCON), İzmit / Kocaeli 09-10 Aralık 2022, Özet Bildiri Sözlü Sunum.