FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Gözde KONURAY

FARKLI GELİŞME FAKTÖRLERİNİN *Rhodotorula* spp.'nin PİGMENT ÜRETİMİ ÜZERİNE ETKİSİ

GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

ADANA, 2015

ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

FARKLI GELİŞME FAKTÖRLERİNİN *Rhodotorula* spp.'NİN PİGMENT ÜRETİMİ ÜZERİNE ETKİSİ

Gözde KONURAY

YÜKSEK LİSANS TEZİ

GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

Bu Tez 11/08/2015 Tarihinde Aşağıdaki Jüri Üyeleri Tarafından Oybirliği/~~Oyçokluğu~~ ile Kabul Edilmiştir.

…….....	.....	.....
Prof. Dr. Zerrin ERGİNKAYA	Prof. Dr. Hatice KORKMAZ GÜVENMEZ	Yrd. Doç. Dr. Emel ÜNAL TURHAN
DANIŞMAN	ÜYE	ÜYE

Bu Tez Enstitümüz Gıda Mühendisliği Anabilim Dalında hazırlanmıştır.
Kod No:

Prof. Dr. Mustafa GÖK
Enstitü Müdürü

Bu Çalışma Ç. Ü. Araştırma Projeleri Birimi Tarafından Desteklenmiştir.
Proje No: FYL-2014-3400

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

ÖZ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

FARKLI GELİŞME FAKTÖRLERİNİN *Rhodotorula* spp.'NİN PİGMENT ÜRETİMİ ÜZERİNE ETKİSİ

Gözde KONURAY

ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

Danışman : Prof. Dr. Zerrin ERGİNKAYA
Yıl: 2015, Sayfa: 57
Jüri : Prof. Dr. Zerrin ERGİNKAYA
: Prof. Dr. Hatice KORKMAZ GÜVENMEZ
: Yrd. Doç. Dr. Emel ÜNAL TURHAN

Bu çalışmada, 7 farklı *Rhodotorula* spp.'nin (*R. glutinis*, *R. mucilaginosa*, *R. bacarum*, *R. bogoriensis*, *R. minuta*, *R. graminis* ve *R. armeniaca*) farklı ortam koşullarındaki (pH, çalkalama hızı, aydınlatma) karotenoid üretim miktarları belirlenmiştir. Bu çalışmadaki pigment üretiminde kültür ortamı pH: 5,5 ve 6,0, ışık:0 ve her biri 83 W olan 3 ampul, çalkalama hızı:150 ve 180 rpm olacak şekilde ayarlanmıştır.

Elde edilen sonuçlara göre en yüksek karotenoid miktarı *Rhodotorula glutinis* tarafından pH 6'da, 180 rpm ve aydınlık ortamda elde edilmiştir. Bunu R. *mucilaginosa*, *R. graminis*, *R. minuta*, *R. armeniaca*, *R. bogoriensis* takip etmiştir. En düşük karotneoid üretiminin ise *R. bacarum* tarafından sentezlendiği belirlenmiştir.

Sonuç olarak, karotenoid üretimi üzerine pH'nın, ışığın ve çalkalama hızının etkisinin istatistiksel olarak ($p<0.05$ düzeyinde) önemli olduğu saptanmıştır.

Anahtar Kelimeler: *Rhodotorula*, pigment, karotenoid

ABSTRACT

MSc THESIS

INFLUENCE OF DIFFERENT GROWTH FACTORS ON PIGMENT PRODUCTION OF *Rhodotorula* spp.

Gözde KONURAY

ÇUKUROVA UNIVERSITY
INSTITUTE OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES
DEPARTMENT OF FOOD ENGINEERING

Supervisor : Prof. Dr. Zerrin ERGİNKAYA
Year: 2015, Pages: 57
Jury : Prof. Dr. Zerrin ERGİNKAYA
: Prof. Dr. Hatice KORKMAZ GÜVENMEZ
:Asst. Prof. Dr. Emel ÜNAL TURHAN

In this study, carotenoid production quantities of 7 different *Rhodotorula* spp. (*R. glutinis, R. mucilaginosa, R. bacarum, R. bogoriensis, R. minuta, R. graminis* and *R. armeniaca*) in different cultivation conditions (pH, agitating speed, irradiation) are determined. In this study, culture medium is set to be pH:5,5 and 6,0, irradiation: 0 and 3 lamp each of 83 W, agitation speed: 150 and 180 rpm for pigment production,

According to the obtained results, highest amount of carotenoids synthesized by *Rhodotorula glutinis* at 180 rpm, irradiated and pH 6. It has followed by R. *mucilaginosa*, *R. graminis*, *R. minuta*, *R. armeniaca*, *R. bogoriensis.* It is determined that lowest carotenoid production obtained by *R. bacarum*.

Consequently, it is determined that effect of pH, irradiation and agitation speed were found to be important statistically ($p<0.05$ düzeyinde) on carotenoid production.

Key Words: *Rhodotorula*, pigment, carotenoid

TEŞEKKÜR

Çalışmamın her aşamasında yardımlarını esirgemeyen ve bana "Farklı Gelişme Faktörlerinin *Rhodotorula* spp.'nin Pigment Üretimi Üzerine Etkisi" konulu doktora tezini veren yapıcı ve yönlendirici fikirleri ile bana daima yol gösteren danışman hocam Sayın Prof. Dr. Zerrin ERGİNKAYA'ya,

Prof. Dr. Hatice KORKMAZ GÜVENMEZ ve Yrd. Doç. Dr. Emel ÜNAL TURHAN'a yapıcı ve yönlendirici fikirleriyle katkıda bulundukları için,

araştırmamın çeşitli aşamalarında katkılarını gördüğüm Prof. Dr. Hüseyin ERTEN'e, Doç. Dr. Asiye AKYILDIZ'a, Arş. Gör. Süleyman POLAT'a, Arş. Gör. Bilal AĞIRMAN'a, Arş. Gör. Merve Darıcı'ya,

Yüksek Lisans çalışmalarım esnasında tüm bölüm olanaklarından yararlanmamı sağlayan Ç.Ü. Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölüm Başkanlığı'na ve son olarak da maddi destek veren Ç.Ü. Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'ne (Proje no: FYL-2014-3400) içten teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER **SAYFA**

ÖZ I
ABSTRACT II
TEŞEKKÜR III
İÇİNDEKİLER IV
ÇİZELGELER DİZİNİ VI
ŞEKİLLER DİZİNİ VIII
1. GİRİŞ 1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR 7
2.1. Araştırmada Kullanılan Mayalar Hakkında Genel Bilgiler 7
2.2. Pigmentlerin Genel Özellikleri 11
2.2.1. Karotenoidlerin Yararları 14
2.3. Mikroorganizmaların Pigmentleri ile İlgili Yapılan Çalışmalar 16
3. MATERYAL VE METOD 23
3.1. Materyal 23
3.1.1. Pigment Üretiminde Kullanılan Mayalar 23
3.1.2. Besiyerleri 23
3.1.3. Kimyasal Maddeler 24
3.1.4. Ekipmanlar 24
3.2. Metod 25
3.2.1. Maya Suşlarının Stok Kültürlerinin Hazırlanması 25
3.2.2. Maya Kültürlerinin Hazırlanması 25
3.2.3. Pigment Üretiminde Kullanılan Kültürlerin Ortam Şartlarının Belirlenmesinde Kullanılan Değişkenler 25
3.2.4. pH'nın Pigment Oluşumu Üzerine Etkisinin Belirlenmesi 26
3.2.5. Işığın Pigment Oluşumu Üzerine Etkisinin Belirlenmesi 26
3.2.6. Çalkalama Hızının Pigment Oluşumu Üzerine Etkisinin Belirlenmesi 26
3.2.7. Maya Kültürlerinden Pigment Üretilmesi 27
3.2.8. Toplam Karotenoid Miktarının Belirlenmesi 27
3.2.9. Pigmentlerin Renk Ölçümü 28

3.2.10. İstatiksel Analiz 28
4. BULGULAR VE TARTIŞMA 29
4.1. pH'nın Pigment Oluşumu Üzerine Etkisi 29
4.2. Çalkalama Hızının Pigment Oluşumu Üzerine Etkisi 31
4.3. Işığın Pigment Oluşumu Üzerine Etkisi 32
4.4. Pigmentlerin Renk Değerleri 34
5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER 39
KAYNAKLAR 41
ÖZGEÇMİŞ 57

ÇİZELGELER DİZİNİ **SAYFA**

Çizelge 2.1. Mikroorganizmalar ve ürettikleri pigmentler 8
Çizelge 2.2. *Rhodotorula glutinis* tarafından sentezlenen maddeler 9
Çizelge 3.1. Pigment üretiminde kullanılan mayalar 23
Çizelge 3.2. Araştırmada kullanılan besiyerleri 23
Çizelge 3.3. Araştırmada kullanılan kimyasal maddeler 24
Çizelge 3.4. Araştırmada kullanılan ekipmanlar 24
Çizelge 3.5. Pigment üretimi için kullanılan ortam koşulları 26
Çizelge 4.1. pH 5,5'da üretilen pigment miktarları (mg/L) 30
Çizelge 4.2. pH 6'da üretilen pigment miktarları (mg/L) 30
Çizelge 4.3. Farklı pH ortamında üretilen pigment miktarları (mg/L) 31
Çizelge 4.4. 150 rpm'de pigment üretim miktarları (mg/L) 31
Çizelge 4.5. 180 rpm'de pigment üretim miktarları (mg/L) 32
Çizelge 4.6. Farklı çalkalama hızında üretilen pigment miktarları (mg/L) 32
Çizelge 4.7. Işıklandırmaya göre pigment üretim miktarları (mg/L) 33
Çizelge 4.8. Farklı ışık miktarlarında üretilen pigment miktarları 34
Çizelge 4.9. 150 rpm'de geliştirilen mayalardan sentezlenen pigmentlerin renk değerleri 34
Çizelge 4.10. 180 rpm'de geliştirilen mayalardan sentezlenen pigmentlerin renk değerleri 35

ŞEKİLLER DİZİNİ **SAYFA**

Şekil 1.1. *Rhodotorula* spp.'de mevalonik asitin β-karoten ve torulene dönüşüm yolu..... 4

1. GİRİŞ

Gıdalarda, uzun yıllar kullanılan sentetik renklendiricilerin sağlık üzerine olumsuz etkilerinin ortaya çıkmasından sonra, gerek bilim adamlarının gerekse tüketicinin tercihi, doğal renklendiriciler üzerine odaklanmıştır (Erdal ve Ökmen, 2013). Doğal boyaların, gıdaları boyayabilme özelliklerinin yanı sıra antimikrobiyel, antioksidan ve birçok hastalığı önleyebilme gibi avantajlarının olması bu boyalara olan ilgiyi gün geçtikçe arttırmaktadır (Rymbai ve ark., 2011).

Doğal renk maddeleri, çeşitli bitki ve hayvanlardan elde edilen ürünlerde bulunmalarının yanı sıra bazı mikroorganizmalar tarafından da sentezlenmektedir (Sözübatmaz, 2005; Rymbai ve ark. 2011). Tüketicilerin, kaliteli ve sağlıklı olması nedeniyle doğal gıda boyalarını tercih etmelerinin nedeni ile günümüzde Avrupa ve Amerika'da kullanılan renk maddelerinin çoğu, doğal kaynaklardan elde edilmektedir (Rymbai ve ark., 2011).

Gıda endüstrisinde, gıda renklendiricilerinin katkı maddesi olarak kullanımı, gıda üreticileri ve tüketiciler açısından işlenmiş gıdaların kabul edilebilirliğini belirlemede önemli bir faktör olmaktadır. Dünyada kullanımına izin verilen gıda renklendiricileri, sentetik olarak veya fiziksel, kimyasal ekstraksiyon yolu ile doğal kaynaklardan elde edilmektedir. Bilinen birçok doğal gıda renklendiricisinin üretimi, hammadde stoklarının sınırlı olması ve pigment ekstraksiyonundaki karmaşıklık sebebiyle sorun olmaktadır. Doğal gıda renklendiricilerinin üretimine alternatif bir yol, biyoteknolojik olarak mikroorganizmalardan üretilmeleridir. Mikroorganizmalar ve mikroalgler tarafından pigment üretimi doğada oldukça yaygındır (Tokatlı ve Özçelik, 2008).

Günümüzde pigmentler, tıp, gıda, mürekkep, kağıt, tekstil, su kültürü, hayvan yemi ve besini gibi pek çok alanda kullanılmaktadır (Erdal ve Ökmen, 2013). Ticari olarak karotenoidler gıdalarda renklendirici ve besin takviyesi olarak kullanılırlar (Marova ve ark., 2012). Uzun yıllardan beri, önemli bir pigment olan karotenoidler bitkilerden eksrakte edilerek kullanılmaktaydı. Bitkiler karotenoid açısından zengin kaynaklar olmalarına karşın, çeşitli mikrobiyolojik proseslerden de ticari olarak karotenoid üretiminde yararlanılmaktadır (Fuhrmann ve ark., 2007). *Streptomyces*

chrestomyceticus, Blakeslea trispora, Phycomyces blakesleeanus, Flavobacterium sp, *Phaffia* sp. ve *Rhodotorula* sp. karotenoid üreten mikroorganizmalar olarak tanımlanmaktadır (Choudhari ve ark., 2008; Yurkov ve ark., 2008; Marchal ve ark., 2013).

Doğal renklendiricilerin gıda pigment ajanı olarak tanıtımındaki en büyük engel, yüksek yatırım gerektirmesidir. Bu nedenle de, konu ile ilgili ar-ge çalışmaları, maliyeti düşürecek süreçlere kaymış ve mikroorganizmalardan fermantasyon ile pigment üretimine yönelmiştir (Wissgott ve Bortlik, 1996; Erdal ve Ökmen, 2013). Günümüzde ticari olarak, mikroorganizmalar ya da bitkilerden fermantatif yolla elde edilen pigmentler bulunmakta olup, bu pigmentler hem gıda renklendiricisi hem de besin takviyesi olarak kullanılmaktadır (Erdal ve Ökmen, 2013).

Bitki, hayvan ve mikroorganizmalardan (küf, maya, bakteri) elde edilen doğal biyorenklendiriciler, ticari olarak pek çok alanda kullanılmaktadır. Pigment üreten mikroorganizmalar, doğada oldukça yaygındır ve renk bakımından zengindir. Pigmentlerdeki çeşitliliğin nedeni, farklı kimyasal kompozisyonları ve spesifik kromofor varlığından kaynaklanmaktadır (Bridle ve Timberlake, 1997). Bitki ve mikroorganizmalardan biyoteknolojik yöntemlerle elde edilen bazı renklendiriciler, kültür teknikleri ve üretimlerinin daha elverişli olmasından dolayı tercih edilmektedir (Bhosale, 2004; Dufosse, 2004).

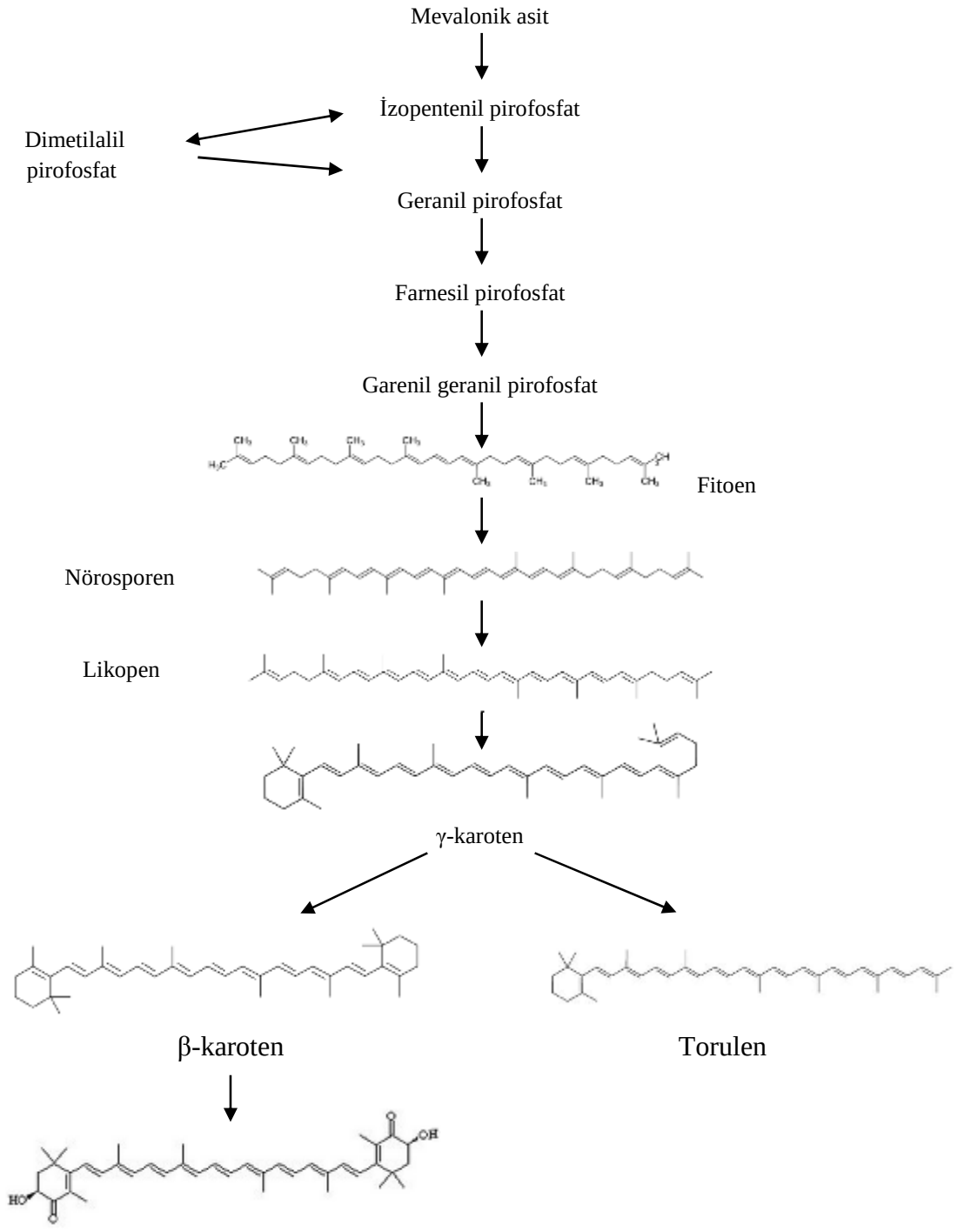
Bitkisel karotenoidlerin ekstraktı ile kıyaslandığında, karotenoidlerin mikrobiyel üretimi çok daha ilgi çekicidir. Bitkisel renklendiricilerde mevsimsel ve coğrafik çeşitliliğin ana problem olmasıyla birlikte mikrobiyel yolla düşük maliyetli karbon kaynaklarının kullanılabilir olması mikrobiyel karotenoid üretimini tercih edilir hale getirmektedir (Simova ve ark., 2004; Aguilar ve ark., 2014a). Mikroorganizmada biyosentetik yol genel olarak 3 adımda tanımlanır: (1) asetil Co-A'nın 3-hidroksi-3-metil glutaril Co-A'ya (HMG-CoA) dönüşümü ve bu reaksiyonun HMG-CoA senteziyle katalize edilmesi. HMG-CoA daha sonra 6 karbonlu bir bileşik olan mevalonik aside (MVA) dönüştürülür. MVA bir dizi tepkimeyle izopentenil pirofosfat'a (IPP) dönüştürülür. (2) 3 tane IPP molekülünün ardarda sıralanmasıyla IPP, dimetilalil pirofosfata (DMAPP) izomerize edilir.

Reaksiyonlar, 20 karbonlu bir bileşik olan geranil geranil pirofosfat'ı (GGPP) elde etmek için pirenil transferaz ile katalize edilir. GGPP'nin iki molekülünün kondensasyonu sonucu oluşan fitoen, likopen ile desatürasyona uğrar. (3) Fitoenin ilk ya da ikinci bağının izomerizasyonu, desatürasyon süreciyle aynı aşamada gerçekleşmelidir. Likopenin, bir dizi metabolik reaksiyonlara uğrayan (siklizasyon gibi) siklik karotenoidlerin öncüsü olduğuna dair kanıtlar giderek artmaktadır (Aguilar ve ark., 2014a; Aguilar ve ark., 2014b).

Mikrobiyel karotenoid kaynakları arasında *Phafia rhodozyma* ve *Rhodotorula glutinis* gibi mayalar ticari olarak ilgi çekmektedirler. *Rhodotorula* türlerinden en fazla elde edilen karotenoid türü karotendir (Sedmak ve ark., 1990; Bindu ve ark., 1998). *Phaffia rhodozyma* ise *Rhodotorula* spp.'den farklı olarak yüksek oranda astaksantin üretimi ile dikkat çekmiştir (Reed ve Nagodawithana, 1991; Malgalith, 1992; Acheampong ve Martin, 1995; Ahn, 1996).

β-karoten, astaksantin ve torularhodin gibi endüstriyel karotenoid pigmentleri doğal gıda renklendiricisi veya katkısı olarak kullanılmaktadır. Karotenoidlerin ekonomik olarak önem kazanmasının sonucu olarak bu pigmentlerin yeni kaynaklarına olan ilgi artmaktadır (Ungureanu ve ark., 2011).

Bu çalışmanın amacı, gıda renklendiricisi olarak mevcut ticari bitkisel pigmentlere alternatif kullanılması amacıyla, daha önceki çalışmalarda çeşitli kaynaklardan izole edilen, tanımlanan ve pigment üretimleri belirlenen *Rhodotorula* mayasına ait bazı suşlardan yararlanılmıştır. Araştırmada, söz konusu suşların farklı kültür ortamlarındaki gelişimleri ve bu gelişimlerine bağlı olarak, pigment üretimlerine etkilerinin araştırılması hedeflenmiştir.



Şekil 1.1. *Rhodotorula* spp.'de mevalonik asitin β-karoten ve torulene dönüşüm yolu (De Libero ve ark., 2003; Aguilar ve ark., 2014a)

Gıdanın rengi tüketici tercihinde önemli bir rol oynar. Doğal boyalar genellikle antosiyanidin, karotenoid gibi pigmentlerden elde edildiği gibi, pigment yapısında olmayan lüsiferin (bir enzim ile birleşerek ışın yayan bir madde) gibi boyalar da vardır. Boyanın gıdaya uygulanma sebepleri arasında, gördüğü işlemler sonunda rengini kaybeden gıdanın rengini eski haline getirmek, gıdanın asıl rengini iyileştirmek, renksiz gıdaları boyamak ve gıdanın besin değerini arttırmak gibi durumlar sayılabilir (Rymbai ve ark., 2011).

Karotenoidlerin gıdalarda renk verici olarak kullanılmasıyla, ticari sentetik β-karoten üretimine verilen önem artmıştır. Peynir, yağ, sosis ürünleri, meyve suyu ve diğer içecekler gibi gıdaların rengini geliştirmek amacıyla, karotenoid üretimi yüksek olan havuç, palmiye yağı, anatto ve kırmızıbiber ekstraktları kullanılmaktadır. Gıda maddelerine işleme sırasında katılan karotenoid grubu maddeler gıdaların hem rengini hem de besinsel değerini geliştirmektedir. Hayvan yemlerine (balık ve tavuk yemi vb.) karotenoid katılarak bu yemlerin besleyici değerinin artması sağlanmaktadır (Borenstein ve Bunnell, 1966; Britton, 1992; Britigh ve ark., 1995; Vega ve ark., 1996).

Farklı kültür ortamlarının pigment üretimi üzerine etkisini tespit etmek amacıyla gerçekleştirilen birçok çalışmada, kültür ortamının pH, sıcaklık, hava akımı ve ışık faktörlerinin değişimi ile besiyerine azot, çeşitli metaller ve besin maddesi ilavesi gibi farklı ortamlar yaratılarak pigment üretimine etkileri belirlenmiştir (Sakaki ve ark., 1999; Tan ve ark., 2014).

Pigmentlerin fermentasyon yoluyla üretimi üzerine çok sayıda çevresel şartların etkili olduğu rapor edilmiştir. Bunlar arasında karbon kaynakları yüksek etkili olup, bu karbon kaynakları arasında sukroz, glukoz bulunmaktadır. Ancak, ortam şartları azot sınırlı olduğu takdirde karbon kaynaklarının stimüle edici etkisi söz konusudur. Bundan başka ortam pH (pH 7), kültivasyon ortamı, sıcaklık (30 °C' e kadar artış gözlenirken yüksek sıcaklıklarda pigment üretimi hızla azalmaktadır), havalandırma oranı, ışık şiddeti ve kalitesi, inorganik maddeler [$Co(NO_3)_2$, Na_2CO3, $ZnSO_4$, $MgSO_4$, $FeSO_4$, $MnSO_4$, $A_{l2}(SO_4)_3$] ayrıca deterjan katkıları, yağlar ve surfaktantlar da pigment üretimini artırıcı aktivatörler olarak yer almaktadır (Gurpreet ve Balmeet, 2011).

Bu çalışmada, gıda renklendiricisi olarak, mevcut ticari bitkisel pigmentlere alternatif kullanılması amacıyla, daha önceki çalışmalarda çeşitli kaynaklardan izole edilen, tanımlanan ve pigment üretimleri belirlenen *Rhodotorula* mayasına ait bazı suşlardan yararlanılacaktır. Araştırmada, söz konusu suşların farklı kültür ortamlarındaki gelişimleri ve bu gelişimlerine bağlı olarak, pigment üretimlerine etkilerinin araştırılması hedeflenmiştir.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

2.1. Araştırmada Kullanılan Mayalar Hakkında Genel Bilgiler

Rhodotorula, *Basidiomycota* filumundan olan, Sabouraud's Dextrose Agar'da geliştirildiğinde oldukça kolay ayırt edilebilen turuncu - kırmızı renkli koloniler oluşturan, tek hücreli ve pigmentli bir mayadır. Bu ayırt edici renk, mayanın ışığın belirli dalga boylarının hücreye zarar verme olasılığını engellemek için pigment oluşturmasından kaynaklanır. Koloni rengi krem renginden turuncu/kırmızı/pembe ya da sarıya kadar değişkenlik gösterir. Mikroskobik morfolojileri, uzun-küresel tomurcuklanmış hücreler şeklindedir. Toprakta, havada, suda, meyve suyunda, süt ve süt ürünlerinde bulunur. Ortamdaki nitrojen bileşiklerini kullanabilme özelliği vardır. (Anon., 2015a; Sampaio, 2011; Shivalkar Yadav ve ark., 2014). Büyüme evresinde glikojen, durgun fazda ise büyük miktarlarda lipid ve karotenoid üretimi gibi özellikleri vardır. Birçok *Rhodotorula* suşunun büyük miktarlarda karotenoid üretimi, etanol, asetik asit ve asetaldehitten tek hücre proteini üretimi gibi özellikleri vardır. (Aguilar ve ark, 2014b; Chung ve ark., 2002; Cerikcioğlu ve ark., 2005).

Mikrobiyel pigmentler gibi ikincil metabolitlerin üretimi bakteriyel, algal ya da fungal kültürlerin büyüme fazından sonra gerçekleşir ve pigment miktarı, biyokütle üzerinde birikimle doğrudan ilişkilidir (Erdal ve Ökmen, 2013). Çizelge 2.1'de, çeşitli mikroorganizmalar tarafından üretilen pigmentler belirtilmiştir.

Çizelge 2.1. Mikroorganizmalar ve ürettikleri pigmentler

Mikroorganizma	**Pigment**	**Kaynak**
Neurospora sp.	Turuncu-kırmızı	Huang, 1964
Achromobacter	Kırmızı, turuncu, pembe	Duerre ve Buckley, 1965
Haloferax alexandrinus	Kırmızı	Asker ve Ohta, 2002
Bacillus sp.	Sarı, turuncu, pembe	Khaneja ve ark., 2010
Brevibacterium sp.	Turuncu	Guyomarc'h ve ark., 2000
Corynebacterium michigannisse	Kremsi ya da grimsi	Erdal ve Ökmen, 2013
Pseudomonas sp.	Sarı-yeşil, kahverengi	Howarth ve Dedman, 1964
Arthrobacter	Sarı	Galaup ve ark., 2015
Cystofilobasidium infirmominiatum	Kırmızı	Herz ve ark., 2007
Rhodococcus maris	Mavimsi Kırmızı	Ichiyama ve ark., 1989
Streptomyces sp.	Sarı, kırmızı, mavi	Palanichamy ve ark., 2011
Aspergillus sp.	Turuncu, kırmızı	Joshi ve ark., 2003
A. glaucus	Koyu kırmızı	Ashley ve ark., 1939
Blakeslea trispora	Krem	Joshi ve ark., 2003
Helminthosporium catenarium	Kırmızı ve tonları	Joshi ve ark., 2003
H. gramineum	Kırmızı	Joshi ve ark., 2003
H. cynodontis	Bronz renkler	Joshi ve ark., 2003
H. avenae	Bronz renkler	Joshi ve ark., 2003
H. catenarin	Koyu kestane rengi	Joshi ve ark., 2003
Monascus purpureus	Sarı, turuncu, kırmızı	Mukherjee ve Singh, 2011
Penicillium cyclopium	Turuncu	Mapari ve ark., 2009
P. nalgiovense	Kırmızı	Chávez ve ark., 2011
Cryptococus sp.	Kırmızı	Joshi ve ark., 2003
Phaffia rhodozyma	Turuncudan somon - kırmızı renk	Miller ve ark., 1976; Johnson, 2003
Rhodotorula sp.	Sarı, turuncu-kırmızı	Yadav ve ark., 2014
Yarrowia lipolytica	Kahverengi	Carreira ve ark., 2001
Dunaliella salina	Turuncu, kırmızı	Houbraken ve ark., 2012; Arun ve Singh, 2013
Sporobolomyces roseus	Kırmızı-pembe	Davoli ve Weber, 2002
Penicillium chrysogenum	Sarı	Chávez ve ark., 2011; Houbraken ve ark., 2012;

Karotenoid pigment sentezi *Rhodotorula* cinsinin karakteristik bir yeteneğidir (Shivalkar Yadav ve ark., 2014; El-Banna, 2012). Sarı, turuncu-kırmızı kolonileri sayesinde kolayca tanımlanabilir. *Rhodotorula* tarafından üretilen başlıca karotenoidler; torularhodin, torulen ve γ-karoten ile küçük bir miktar β-karotendir (Shivalkar ve ark., 2014; Somashekar ve ark., 2000; Marova ve ark., 2012). Ayrıca proteinler, lipidler ve vitaminler için iyi bir kaynak olarak bilinmektedirler (Aguilar ve ark., 2014b). Ayrıca, *Rhodotorula* spp. çeşitli karbonhidratları asimile edebilmelerinin yanı sıra, üreaz testleri pozitiftir. Nitrat veya nitriti asimile edemezler (Villar ve ark., 2012).

Basidiomycota familyasından olan *Rhodotorula glutinis*, biyoteknolojik potansiyeli ile gıda endüstrisi için oldukça önemlidir. Sabouraud Dextrose Agar'da 30 °C'de hızla gelişen hücreler mercan pembesi renginde, düzgün, nemli ve mukoz yapıda oluşan koloniler 37 °C'ye kadar olan sıcaklıklarda gelişebilmektedirler. Trigliserit (TAG) formunda lipid üretirler. Diğer bitkisel ve hayvansal yağlara kıyasla, *R. glutinis*'den üretilen yağların birçok avantajı vardır. Bunların başında, generasyon süresinin kısa olması, daha az emek gerektirmesi, mevsimsel ve iklimsel değişikliklerden etkilenmemesi ve kolay üretilmesi gelmektedir. Karotenoid biyosentezinde son ürün olarak, β-karoten ve torularhodini sentezler. Diğer yandan, torularhodin γ-karotenden torulen aracılığıyla biyosentezlenir (Sakaki ve ark., 2002).

Çizelge 2.2. *Rhodotorula glutinis* tarafından sentezlenen maddeler

Madde	**Kaynak**
Lipidler	Alvarez ve ark., 1992; Saenge ve ark., 2011; Cheirslip ve ark., 2012
Yağ asitleri	Davoli ve ark., 2004; Easterling ve ark., 2009
Yağ	Lopes da Silva ve ark., 2011
Lipaz	Papaparaskevas ve ark., 1992
Timin hidroksilaz	Thornburg ve ark., 1993; Neidigh ve ark., 2009
Tannaz	Taşkın, 2012
Pektinaz	Taşkın, 2012
İnvertaz	Taşkın ve ark., 2011
Karotenoidler	Bhosale ve Gadre 2001; Bhosale ve ark., 2003; Davoli ve ark., 2004; Roadjnakamolson ve Suntornsuk, 2010; Taşkın ve ark., 2011

Rhodotorula mucilaginosa (eski adıyla *R. rubra*) Sabouraud's Dextrose Agar kullanılarak geliştirildiğinde kolonileri mercan pembesi renkli, genellikle düz, bazen ağ gibi, buruşuk veya dalgalı, nemli-mukoz yapıda mayalardır (Anon., 2015b). Alfa, beta, gama karoten, torulen ve torularhodin sentezlemesinin yanında başlıca karotenoid olarak β-karoten sentezler (Aksu ve Eren, 2005; Irazustaa ve ark., 2013). Bazı kaynaklarda çoğunlukla torulen ürettiği de belirtilmektedir. Torulen, endüstriyel uygulamalar için ilgi çekici bir karotenoiddir (Zoz ve ark., 2015). *R. mucilaginosa* karotenoid üretiminin yanı sıra; glukoz, ksiloz, arabinoz, mannoz, gliserol, manyok nişasta hidrolizatı, zirai ve endüstriyel atıklardan yağ üretiminde kullanılmaktadır (Chi ve ark., 2010).

Zorunlu aerobik maya olan *Rhodotorula mucilaginosa* yüksek miktarda karotenoid içerir (Moore ve ark., 1989). *R. mucilaginosa,* demirin kısıtlı olduğu ortamlarda geliştirildiğinde demir taşıyıcı rhodotorulik asit (RA) üretir (Wiebe ve ark., 2003).

*Rhodotorula bacarum g*ül renkli bir mayadır. (Cadez ve ark., 2010). *R. bacarum* araşidonik asit sentezler (Feofilova, 2001). Pullulan üretiminde kullanılabilir bir maya olarak tanımlanmaktadır (Zhao ve Chi, 2003; Dağbağlı ve ark., 2008).

Rhodotorula bogoriensis Sophorolipid üretir (Solaiman ve ark., 2015). Basidiomisetlerden sophorolipid ürettiği tespit edilen tek maya *R. bogoriensis*'tir. Diğer tüm sophorolipid üreten mayalar askomisetler sınıfında bulunmaktadırlar (Zhang ve ark., 2011).

Rhodotorula minuta YPD agarda geliştirildiğinde, kırmızı pigmentli koloniler oluşturur (Adhikari ve ark., 1998). Pigment üretiminin yanı sıra, lipid üretme özelliği de vardır. Glukoz içeren besiyerinde *R. glutinis* ve *Lipomyces starkeyii*'den daha hızlı büyüme gösterdiği ve kuru biyokütle ağırlığının % 48'i kadar lipid üretebildiği tespit edilmiştir (Chuck ve ark., 2015). Mayanın keratini parçalama özelliği de vardır (Zhou ve ark., 2014).

Rhodotorula graminis karotenoid üretiminin yanında birçok karbon kaynağını kullanarak lipid üretme özelliğine sahiptir. Lignoselülozik maddelerin hidrolizi sırasında açığa çıkan inhibitörlere dayanıklıdır. Yenilenebilir kaynakların kullanıldığı

fermantasyon prosesleri için uygun bir maya olarak bilinmektedir (Compango ve ark., 2012).

Rhodotorula armeniaca'nın aromatik bileşenleri kullanabilme özelliği olduğu belirtilmiştir (Sampaio, 1999).

2.2. Pigmentlerin Genel Özellikleri

Pigmentler, renkleri nedeni ile çoğunlukla yüzey örtme işlemlerinde kullanılan, suda çözünmeyen anorganik ve organik maddelerdir (Kavak, 2006). Karotenoidler yağda çözünebilen, bitki, mantar ve fotosentetik bakteriler tarafından doğal olarak üretilen tetraterpenoid pigmentli bileşenler olup birçok gıdada istenen rengi sağlayan ve önemli biyolojik aktiviteleri olan doğal pigmentlerdir (Shivalkar Yadav ve Prabha, 2014; El-Banna ve ark., 2012; Zoz ve ark., 2015; Ungreanu ve ark., 2011). Funguslarda ve fotosentetik olmayan bakterilerde tespit edildiğinden bu yana mikrobiyel karotenoidlerin fotosentez ve benzeri olaylardaki işlevlerinden çok biyolojik önemi olduğu ortaya çıkmıştır (Sakaki ve ark., 2002). Birçok çalışmaya göre, karotenoidler antioksidan ve/veya provitamin A özellikleriyle bazı kanser çeşitleri ve diğer hastalıklar üzerinde iyileştirici etki göstermektedir (Ungreanu ve ark., 2011).

Karotenoid bitkilerde ve bazı diğer fotosentetik mikroorganizmalarda bulunan biyolojik pigmenttir. Meyve ve sebzelerdeki sarı, turuncu ve kırmızı pigmentlerin kaynağı olarak bilinmektedir. Bitkilerin, saplarını ve yapraklarını güneş enerjisinden korumak için karotenoid ürettiği görülmektedir. Ultraviyole (UV) dalga boyları yaşayan hücrelere zarar verebilen serbest radikaller adı verilen molekülleri üretebilir. Serbest radikaller, kararsız veya yüksek oranda reaktif olan moleküller veya molekül parçalarıdır. Serbest radikaller, normal bir molekülün elektron kaybetmesi veya kazanması sonucunda üretilir. Normal, kararlı moleküllerde, elektronlar çift halindedir. Ancak güneşten gelen radyasyon, bir molekülden bir elektron eksilmesi ve serbest radikal oluşumu ile sonuçlanabilir. Bir antioksidan olarak karotenoidler, oksidan radikallere elektron ekleyerek veya onları nötralize ederek serbest radikal hasarını sınırlar (Anon, 2013; Anon, 2015a).

Karotenoidlerin antioksidan ve provitamin A özellikleriyle insan sağlığına olumlu yönde katkıları bulunmaktadır. Provitamin A özelliği gösteren karotenoidlerin başında β-karoten, α-karoten gelmektedir. Provitamin A özelliği olmayan karotenoidlerin başında ise lutein, likopen ve zeaksantin gelmektedir (Anon., 2005d).

Mikrobiyal kaynaklı karotenoidler ticari amaçlı olarak, *Dunaliella* spp., *Phafia rhodozyma* ve *Rhodotorula* türlerinden elde edilmektedir. Rhodotorula türlerinden en fazla elde edilen karotenoid türü β-karotendir. Mikroorganizmalardan sentezlenen ve gıdalarda renk maddesi olarak kullanılan karotenoidlerden başlıcaları ise, β-karoten, ksantofil, astaxanthin, zeaxanthin'dir. β-karoten, gıdalara sarıdan turuncuya kadar değişen renk tonlarını vermek amacıyla kullanılmaktadır (Erginkaya ve ark., 2006).

Torularhodin ve torulen yaygın mikrobiyel karotenoidler olmalarına karşın diğer β-karoten, likopen ve astaksantin gibi nutrasötik karotenoidler ile karşılaştırıldığında bunlarla ilgili çok az çalışma yapılmıştır (Zoz ve ark., 2015).

Torularhodinin oksidatif strese karşı koruduğu ispatlanmış ve bu özelliği ile mayalardan üretilen karotenoidler arasındaki en önemli karotenoid olduğu düşünülmektedir (Zoz ve ark., 2015). Yapılan çalışmalara göre torularhodinin singlet oksijen tutmada β-karotene göre daha etkili olduğu ve maya hücrelerini aktif oksijen türlerine karşı koruduğu tespit edilmiştir (Zoz ve ark., 2015; Sakaki ve ark., 2002).

Torulen ve torularhodin, gıdalarda tespit edilmediğinden insan sağlığı üzerindeki muhtemel etkileri üzerine henüz bir çalışma yapılmamıştır. Buna rağmen, bu pigment moleküllerinin yapısal özellikleri karakterize edilerek ve provitamin A ve antioksidan özelliklerinin kanıtlanmış olduğu ve antitümör veya bağışıklık kuvvetlendirici özellikleri olabileceği düşünülürse, bu bileşenlerin gıda, yem ve kozmetik endüstrisinde kullanılabileceği belirtilmiştir. (Zoz ve ark., 2015).

Violasein, birçok biyolojik aktivite gösteren, günümüzde ilaç, kozmetik ve tekstil gibi endüstriyel marketlerde önemi giderek artan ve *Chromobacterium violaceum'*da bulunan çok yönlü bir pigmenttir. Psikrotrofik bakteri RT102, *Janthino lividum* ve *Alteromonaz luteoviolacea* gibi diğer bakteriyel kaynaklardan değişken verimler ve üretim koşulları tespit edilmiş olmasına rağmen *Chromobacterium*

violaceum, violasein üretimi alanında en çok çalışılan bakteridir. *Pseudoalteromonas* sp. (DSM 13623)'den elde edilen, bakterinin ürettiği keşfedilen violasein, yüksek miktarlarda ekonomik kullanımla tüketici ve çevre dostu ürünler için özellikle de gıda, tekstil ve oyuncak endüstrisinde umut vaat etmektedir (Durán ve ark., 2012).

En güçlü doğal antioksidan olan likopen, 8 izopren biriminden oluşan simetrik bir tetraterpendir. Fungilerden *Phycomyces* ve *Blakeslea* türleri potansiyel likopen üreticileridir. *B. trispora* ve *P. blakesleeanus*'da bulunan siklaz inhibitörü 2(4-klorofeniltiyo)-trietilamin (CPTA) ve piridin, imidazol, metilheptenon gibi kimyasal uyarıcıların likopen üretimini başlattığı bildirilmiştir. Likopenin en önemli özellikleri çok yüksek singlet-oksijen yakalama aktivitesinin olması ve MSF-7 tümör hücrelerinin çoğalmasını baskılama kapasitesinin olmasıdır. Likopenin, içecekler, süt ürünleri, surimi, şekerleme, çorba, kahvaltılık tahıllar, makarna, cips, soslarda kullanımı bulunmaktadır (Chandi ve Gill, 2011).

R. glutinis kullanılarak likopen üretimi mikrobiyal pigment üretiminde ilgi çekici bir alternatiftir (Aguilar ve ark., 2014a). Likopen, diğer karotenoidler arasında antioksidan aktiviteye en çok sahip olan karotenoiddir. Kalp krizini önleme ve çeşitli kanserlere karşı önleme amaçlı kullanılabilir. Likopen kolestrolü sentezini inhibe eder ve düşük yoğunluklu lipoprotein degradasyonunu arttırır (Sheu ve ark., 2004).

Astaksantin, deniz ve tatlı su hayvanlarında yaygın olarak bulunan, yüksek market fiyatı ve artan talebiyle ilgi çeken bir karotenoiddir (Parajó ve ark., 1998; Johnson ve ark., 1978). Astaksantin et ve yumurtada etkili olacağından su ürünleri ve kümes hayvanları yemlerinde takviye olarak kullanılır. Astaksantin kimyasal veya biyoteknolojik olarak üretilebilir (Parajó ve ark., 1998). Kırmızı bir maya olan *Phaffia rhodozyma* biyoteknolojik olarak astaksantin üretimine en iyi potansiyeli olan adaylardan biridir (Parajó ve ark., 1998; Johnson ve ark., 1978). Bu konuda yapılmış birkaç çalışma geçtiğimiz yıllarda yayınlanmıştır. Bunlardan bazıları astaksantin üretimini optimize etmek, diğerleri üretim koşullarının (sıcaklık, pH, havalandırma) veya karbon çeşidinin ve konsantrasyonunun etkisini analiz etmek amaçlıdır (Parajó ve ark., 1998). Astaksantinin balık yemlerinde pigment kaynağı olarak kullanılabilme potansiyeli olduğundan bu mayadan büyük ölçekli izole edilmesi arzu edilmektedir (Johnson ve ark., 1978).

Violaseinin antitümöral aktivite gösterdiği ve muhtemelen biyolojik fonksiyonları sayesinde büyük ölçüde antioksidan aktivite gösterdiği belirtilmiştir. Violasein, antikanser ajanı olarak büyük potansiyeli olmasının yanında, layşmanyaz, tripanozomiyaz ve sıtma gibi birçok bulaşıcı hastalık için önemli bir farmasötik olarak görülmektedir. Birçok fizyolojik ortamdaki rolüyle ve laboratuvarda ve hayvanlarda ispat edilmiş tedavisel uygulamalarıyla, toksikolojik bilgileri ile dikkat çekici kapasitesi, gelecekte yapılacak çalışmaların daha fazla violaseinin klinik ortamlarda fazlasıyla yararlı olacağını tahmin etmemizi sağlamıştır. Paralelinde, violasein endüstriyel amaçlı olarak ekonomik öneme sahip olarak tarıma dayalı sanayilerde olduğu gibi kozmetik ve tekstil sanayiinde de eşsiz uygulamalar sunmakta olduğu belirtilmiştir. (Durán ve ark., 2012).

Monascus türünün bazı suşları Doğu Asya'da kırmızı pirinç şarabı, kırmızı soya fasülyesi peyniri, et ve balık ürünleri için doğal gıda renklendiricisi olarak kullanılmaktadır (Kim ve ark., 2006). Ang-kak; *Monascus purpureus* veya *M. ruber* ile fermente edilen pirincin, fermantasyon sonunda kurutulup, öğütülmesi sonucu elde edilen bir gıda boyasıdır. Gıdalara ang-kak katılmasıyla ürünün renginin değişiminin yanı sıra, aroması ve dayanıklılığı da artmaktadır (Sözübatmaz, 2005). Tipik *Monascus* pigmentleri kırmızı, turuncu ve sarıdır. Kırmızı *Monascus* pigmentinin antimikrobiyel etksinin çok az ya da hiç olmamasına rağmen turuncu *Monascus* pigmentinin zayıf antimikrobiyel etkisinin olduğu bildirilmiştir (Kim ve ark., 2006). Cheng ve Tseng (1989), yaptıkları çalışmada *Monascus purpureus* ürünlerinin *S. aureus* üzerine antibakteriyel etkisi bulunduğunu belirtmişlerdir.

Karotenoidlerin antikanser ajanları olarak, singlet oksijen veya serbest radikal tutucu özellikleri, bağışıklık sistemini uyarıcı etkileri, renklendirici olarak pişmiş sosiste, alkolsüz içeceklerde, unlu mamüllerde ve kozmetikte ayrıca katkı olarak kullanıldığı bilinmektedir (El-Rhman El-Banna ve ark., 2012).

2.2.1. Karotenoidlerin Yararları

Gıda renklendiricisi olarak kullanılan pigmentlerden biri olan karotenoidler, bağışıklık sistemini iyileştiren, kanser, kalp-damar hastalıkları riskini azaltarak, renk

verme özelliklerinin yanı sıra, provitamin A ve antioksidan özellikleri ile de yarar sağlamaktadır (Türkkan ve Erginkaya, 2008; Shivalkar Yadav ve Prabha, 2014; Ungureanu ve ark., 2013). Moleküler yapılarında bulunan konjuge çift bağ sayesinde antioksidan özellik göstererek, serbest radikal reaksiyonlarının oluşmasını önlemektedirler (Ziegler, 1991; Packer, 1992). Serbest radikal reaksiyonları, başlangıçta hücre membranında bulunan doymamış yağlarda ortaya çıkar ve zincirleme reaksiyonlar sonucunda lipid peroksidasyonu ve sonrasında hücre membranı, enzim ve nükleik asit yapılarında bozulmalar olur (Anon., 2005d). Karotenoid içeriğince zengin bir diyet tüketimi epidemiyolojik olarak birçok hastalığa yakalanma riskini düşürdüğüyle ilişkilendirilmiştir (El-Banna ve ark., 2012). Bu yüzden karotenoidler eczacılık, kimya, gıda ve yem gibi endüstriyel uygulamalarda en değerli bileşen sınıflarından birini oluşturmaktadır (Shivalkar Yadav ve ark., 2014).

Karotenoidler yüksek miktarda tüketildiklerinde;

- Akciğer, cilt, rahim kanserini ve bağırsak risalesini engellediği,
- Gözlerde kataraktı ve serbest radikallerin neden olduğu oksidatif etkilerini engellediği,
- Yağ ve kolesterol miktarını düşürerek kalp krizi riskini azalttığı belirlenmiştir (Anon., 2005d).

In vivo ve *in vitro* çalışmalarla karotenoid grubu renk maddeleri içerisinde özellikle β-karoten'in lipid membranlarının peroksidasyonunu, düşük dansiteli lipoproteinlerin ve karaciğer yağlarının oksidasyonunu önlediği saptanmıştır (Bendich ve Olson, 1989). Bunu dışında karotenoidlerin, mutajen oluşumunu engellediği, bağışıklık sistemini iyileştirdiği, tümör oluşumunu engellediği de belirlenmiştir (Vandamme, 1992).

Karotenoidlerin, insan ve hayvanlar tarafından sentezlenemeyip, bitkiler ve mikroorganizmalar tarafından sentezlendiği, memelilerde % 10'dan az bir kısmının provitamin A olarak işlev gördüğü ve retinole metabolize edildiği, ilk olarak yaklaşık üç milyar yıl önce bakterilerde ortaya çıktığı, pigment bileşikleri ailesine ait olduğu

ve bitkilerde fotosentez sırasında hücreleri ışığın zararlı etkilerinden koruduğu da bildirilmiştir. Meyve ve sebzelerin önemli karotenoid kaynağı olduğu, bunlarda özellikle sarı ve/veya kırmızı renkte mikrobileşikler halinde bulunduğu, bir provitamin A olmasının yanında antioksidan olarak kalp-damar hastalıkları, kanser ve diğer kronik hastalıkların engellenmesinde önem arz ettiği ve son yıllarda bu yönde yoğun araştırmaların yapıldığı rapor edilmiştir (Yılmaz, 2010).

Bakteri, alg, küf ve mayalar gibi bir takım mikroorganizmalar γ ve β−karoten, torulen, likopen ve astaksantin gibi geniş bir yelpazede karotenoidleri üretmektedirler. Kültür ortamının bileşimi, ışık (ışıksız ortamlara göre karotenoid sentezini % 25'e kadar arttırabilir), sıcaklık gibi birçok faktör bu maddelerin biyosentezini etkilemekte olup, pigmentlerin insanlardaki biyoaktivitesinin de değerlendirilmesi önem arz etmektedir (Zoz ve ark., 2015).

2.3. Mikroorganizmaların Pigmentleri ile İlgili Yapılan Çalışmalar

Karrer ve ark. (1951), provitamin A aktivitesi olan torularhodin gibi bazı maddeler tespit etmiş ve bunları "alışılmadık" karotenoidler olarak tanımlamışlardır. Gribanovski-Sassu ve Foppen (1968), torularhodini, γ-karoten'den elde edilen torulenin oksidasyon ürünü olarak tanımlamışlardır. Daha sonra, Moore ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada (1989), torularhodinin serbest karotenoide göre daha dayanıklı ve suda çözünebilir olmasının beklendiği bir karotenoprotein olduğunu belirtmiştir (Zoz ve ark.,2015).

Johnson ve Lewis (1979) yaptıklaır çalışmada, *Phaffia rhodozyma* kullanılarak pigment üretimi araştırılmıştır. İnkübasyon ortamına ışık uygulandığında astaksantin üretiminde ve kırmızı renk tonunda artış olduğu belirtilmiştir.

Zalashko ve arkadaşlarının (1984) yaptıkları bir çalışmada *Rhodotorula* spp. nin tuzlu ortam koşullarında geliştirilmesiyle sentezlenen yağ asitleri, sterol ve trigliserit üretiminde artış gözlenmiştir. Ama β-karoten içeriğindeki artış ilk kez bu çalışmada gözlenmiştir. Maksimum karotenoid ekstraksiyonu hücreler pH 6'da

geliştirildiğinde gözlenmiştir. pH 10'da geliştirildiğinde ise minimum karotenoid eldesi olmuştur.

Komemushi ve arkadaşlarının (1994) yaptıkları çalışmada yaptıkları çalışmada *R. glutinis*'in gelişimi için laktatın tek karbon kaynağı olarak kullanıldığı çalışmada Fe, Mg Ca, Zn, Co biyokütle üretimini arttırdığı belirtilmiştir.

Sakaki ve arkadaşları (1999) tarafından yapılan bir çalışmada, *R. glutinis* ile karotenoid üretiminde ortam koşullarındaki değişikliklerin karotenoid sentezine etkisi araştırılmıştır. Laktat ile geliştirilen hücrelerde glukoz ile geliştirilen hücrelere göre daha yüksek miktarda torularhodin üretimi görülmüştür. Bu bilgilere göre karbon kaynağının karotenoid sentezinde değişikliğe yol açtığı belirtilmiştir. Torulen ve torularhodin içeriğindeki artış havalandırma ile sağlanan çözünmüş oksijen içeriği ile ilişkilidir. Yapılan çalışmada bu mayanın β-karoten ve torularhodin olmak üzere 2 çeşit son ürün ürettiği tespit edilmiştir.

Buzzini ve Martini (2000) yaptıkları çalışmada, *Rhodotorula glutinis*'ten karotenoid üretiminde üzüm şırası, şeker pancarı melası, glukoz şurubu, soya fasulyesi unu ekstraktı, mısır unu ekstraktı gibi farklı hammaddeler kullanılmıştır. Maksimum karotenoid verimi karbon kaynağı olarak üzüm şırasının kullanıldığı ortamda elde edilmiştir.

Somashekar ve Joseph (2000) yaptıkları bir çalışmada, C/N oranının lipid ve karotenoid üretimleri üzerine etkisinin araştırmak amacıyla 3 farklı C/N oranı olan ortam oluşturulmuştur. 6 gün boyunca 28 °C'de geliştirilen kültürlerin biyokütle, toplam lipid, toplam karotenoid miktarları ve şeker kullanımları ölçülmüştür. Bu çalışmaya kadar C/N oranının karotenoid üretimi üzerine etkisinin cevapsız kaldığı öne sürülen çalışmada, en yüksek karotenoid üretimi en düşük orana sahip olan ortamda gözlenmiştir. Karotenoid ve lipid üretiminin hücre gelişimine bağlı olmadığı tespit edilmiştir.

Gadre ve Bhosale (2001) tarafından yapılan bir çalışmada, Mutant *R. glutinis* NCIM 3353'ün deniz suyu besiyerinde geliştirilerek β-karoten üretiminin araştırılmış, her bir karotenoid miktarı hesaplanmış ve pH'nın, pigmentlerin ekstrakte edilebilirliğine etkisi tespit edilmiştir. Toplam karotenoid üretimi artmıştır. β-karoten üretiminde 2,3 kat artış, torulen üretiminde ise azalma olmuştur.

Bhosale ve Gadre (2002) yaptıkları çalışmada *Rhodotorula glutinis*'in gelişimi ve β-karoten üretimi üzerine farklı sıcaklıkların ve aydınlatma koşullarının etkisini araştırmışlardır. Gelişme için 30 °C, karotenoid üretimi için 20 °C optimum sıcaklık olarak belirtilmiş, beyaz ışığın ise gelişimi ve karotenoid üretimini engellediğini tespit etmişlerdir.

Aksu ve Eren (2005) tarafından yapılan bir çalışmada, *Rhodotorula mucilaginosa*'nın farklı zirai atıklar kullanılarak karotenoid üretme özelliği araştırılarak şeker kamışı melası ve peyniraltı suyu kullanılmıştır. Optimum gelişme için ortam koşulları pH 7.0, sıcaklık 30 °C, 2 g/l konsantrasyonunda amonyum sülfat içeren ve havalandırma hızı 2.4 vvm olarak bulunmuştur. Pamuk tohumu yağının besiyerine ilavesiyle karotenoid üretiminde artış gözlenmiştir. Genel olarak besiyerindeki şeker konsantrasyonunun artmasıyla mayanın gelişimi ve karotenoid üretimi artmıştır.

Buzzini ve arkadaşlarının (2005) yaptıkları çalışmada, iz elementlerin mayaların gelişimi ve karotenoid üretimi üzerine etkisi araştırılmıştır. Besiyerine 0 – 50 ppm miktarlarında Fe^{+3}, Co^{+2}, Mn^{+2}, Al^{+2}, Zn^{+2} ilave edilmiştir. İz element konsantrasyonlarının, kültürel koşullarda karotenoid üretiminin optimizasyonunda kullanılabilecek değerli bir araç olduğu belirtilerek, iz elementlerin *R. graminis*'in karotenoid sentezini arttırdığı ifade edilmektedir. Metal iyonlarının karotenoid üretimine selektif etki gösterdiği belirtilmiştir.

Jeevarantnam ve arkadaşlarının (2005) yaptıkları çalışmada, *Rhodotorula glutinis* DFR-PDY kullanılarak pigment üretimi araştırılmıştır. Çalışmada karanlık ve gün ışığı olan inkübasyon ortamlarında gelişim ve pigment üretimleri karşılaştırılmıştır. Işığın *R. glutinis* DFR-PDY gelişimini ve pigment üretimini etkileyen bir faktör olmadığı tespit edilmiştir.

Erginkaya ve arkadaşları (2006) tarafından yapılan bir çalışmada, yine bir pigment olan ve mayalardan, özellikle daha önce yapılan çalışmalarla karotenoid üretim verimi yüksek olduğu belirlenen *Rhodotorula glutinis*'den ekstrakte edilmiş olan 20 farklı karotenoid suşlarının, 5 farklı patojen (*Escherichia coli, Staphylococcus aureus, Salmonella* Enteriditis PT4, *Bacillus* sp., *Salmonella Typhymirum*) üzerindeki antimikrobiyal etkisi araştırılmıştır.

Aksu ve Eren (2007), yaptıkları çalışmada *Rhodotorula glutinis* ile karotenoid üretimi için optimum pH'yı 6, optimum sıcaklığı 30 °C olarak tespit etmişlerdir.

Türkkan (2007) tarafından yapılan bir çalışmada, *Rhodotorula glutinis*'den elde edilen karotenodilerin bazı gıda patojenleri üzerine etkileri araştırılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre, araştırmada kullanılan patojen bakterilerden *Salmonella* Enteritidis B42 'in en duyarlı bakteri olduğu, en dirençli bakterilerin ise *Bacillus* türü bakteriler olduğu belirlenmiştir. Ayrıca, karotenoid eksraktlarının araştırmada kullanılan gıda patojeni bakteriler üzerine antibakteriyal etkisinin karotenodin konsantrasyonuna göre değil, elde edildiği *Rhodotorula glutinis* suşuna ve ortamdaki bakteri sayısına göre değiştiği saptanmıştır.

Malisorn ve Suntornsuk (2008) yaptıkları çalışmada, prokaryotik ve ökaryotik hücrelerde karotenoid biyosentezinde görev alan fitoendesatüraz, β-karoten hidroksilaz, likopen siklaz gibi birçok enzimin 30 °C'de uyarıldığını belirtmiştir.

Roadjanakamolson ve Suntornsuk (2010) tarafından yapılan, pirinç kepeğinin substrat olarak kullanılarak *Rhodotorula glutinis* DM 28'den β-karoten üretimi amaçlanan çalışmada, biyokütlede % 60, β-karoten içeriğinde % 30 artış gözlenmiştir.

Cheirsilp ve arkadaşlarının (2011) yaptıkları bir çalışmada nitrojen kaynağı olarak amonyum sülfat ve Tween 20'nin eklendiği bir çalışmada C/N oranının karotenoid üretimine önemli etkisi olduğu belirtilmiştir. Tween 20 ilavesiyle de biyokütle ve ürün miktarında artış gösterdiği belirtilmiştir.

Taşkın ve arkadaşlarının (2011) yaptıkları bir çalışmada, inkübasyon süresinin karotenoid üretiminde önemli bir faktör olduğu belirtilmiştir. Yenidünya çekirdeği atığının substrat olarak kullanıldığı çalışmada toplam karotenoid üretimi için en yüksek miktar 96 – 120 saatleri arasında gözlenmiştir.

Durán ve arkadaşlarının (2012) yaptıkları bir çalışmada, violaseinin antimikrobiyel etkisi üzerinde çalışılmış ve *Clostridium welchii* hariç diğer Gram pozitif bakterilerin gelişmesi üzerine engelleyici etki gösterdiği tespit edilmiştir. Daha sonra 51 bakteri suşunda yapılan antimikrobiyel testler Gram pozitif bakterilere karşı ve Gram negatif bakterilere karşı da sadece küçük bir miktar inhibe edici etkisini doğrulamıştır. Dahası, violasein konsantrasyonu 2 den 20 lg/mL'ye arttıkça

antimikrobiyel aktivitesi gelişmiştir. RT102 numaralı bakteri suşundan elde edilen violasein ve deoksiviolasein karışımının yüksek konsantrasyonu Gram pozitif *Bacillus lichenniformis, B. subtilis, B. megaterium, Staphylococcus aureus* ve Gram negatif *Pseudomonas aeruginosa* üzerinde antibakteriyel etki göstermiştir. Violaseinin, fitopatojenik fungus olan *Rosellinia necatrix* üzerinde antimikrobiyel aktivite gösterdiği tespit edilmiştir.

El-Banna ve arkadaşları (2012) tarafından *Rhodotorula glutinis* var. *glutinis*'in farklı ortamlarda geliştirilerek karotenoid üretiminin araştırıldığı bir çalışmada, inkübasyon koşullarının biyokütleyi, karotenoid üretimini ve rengi etkilediği belirtilmiştir. Geliştirilen kültürlerde en yüksek karotenoid miktarı 5 günün sonunda 861 $\mu g \cdot g^{-1}$ olarak tespit edilmiştir. 30 °C'de üretilen karotenoid miktarının 25 °C ve 35 °C'de üretilen karotenoid miktarından fazla olduğu belirtilmiştir. Yapılan çalışmada inkübasyon sıcaklığının karotenoid oranlarını ve rengi etkilediği, sıcaklığın 30 °C'ye kadar arttırıldığı ortamlarda β-karoten miktarının arttığı, torulen ve torularhodin miktarının azaldığı belirtilmiştir.

Marova ve arkadaşları (2012) tarafından yapılan bir çalışmada, çeşitli atık maddelerin bulunduğu ve stres koşullarının oluşturulduğu bir ortamda geliştirilen *Rhodotorula glutinis, Rhodotorula mucilaginosa* ve *Sporobolomyces roseus*'un karotenoid üretimlerine bulundukları ortamların etkileri araştırılmıştır. Besiyerindeki değişikliklerin biyokütlede ve karotenoid üretiminde değişikliklere yol açabileceği tespit edilmiştir. Atık maddelerin besiyeri bileşeni olarak kullanılabileceği, bu nedenle de ucuz atık maddelerin endüstriyel olarak karotenoid üretiminde kullanılabileceği belirtilmiştir.

Tan ve arkadaşlarının (2014) yaptıkları çalışmada, *Rhodotorula glutinis*'in lipid ve karotenoid üretim kapasitelerinin araştırıldığı bir çalışmada farklı sıcaklık, aydınlatma ve C/N oranı olan ortamlarda mayalar geliştirilmiştir. Sıcaklık ve aydınlatma ile biyokütle konsantrasyonunun önemli ölçüde artmasının yanında karotenoid üretiminde de artış gözlenmiştir. Karanlık, 2 ve 3 led lambalı ortamlarda geliştirilen mayalarda en fazla karotenoid üretimi 3 led lambalı ortamda gözlenmiştir. İnkübasyon ortam sıcaklığı 24 °C ve 30 °C olan mayaların maksimum karotenoid üretimini 30 °C'de gerçekleştirdikleri belirtilmiştir. *R. glutinis* hücrelerinden

ekstrakte edilen karotenoidlerin ana bileşenleri HPLC ile ölçülmüştür. Ana karotenoidler % 68.4 β-karoten, % 21.5 torularhodin, % 10.1 torulen olarak tespit edilmiştir.

3. MATERYAL VE METOD

3.1. MATERYAL

3.1.1. Pigment Üretiminde Kullanılan Mayalar

Çalışmamızda kullanılan 7 adet *Rhodotorula* spp. Çukurova Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü Mikrobiyoloji Laboratuvarına ait stok kültürlerden temin edilmiştir.

Çizelge 3.1. Pigment üretiminde kullanılan mayalar

Suş No	**Mikroorganizma**
M1	*R. glutinis*
M27	*R. mucilaginosa*
M48	*R. bacarum*
M56	*R. bogoriensis*
M57	*R. minuta*
M60	*R. graminis*
M61	*R. armeniaca*

3.1.2. Besiyerleri

Araştırmada kullanılan besiyerleri çizelge 3.2.'de gösterilmiştir.

Çizelge 3.2. Araştırmada Kullanılan Besiyerleri

Besiyeri	**Kullanım Amacı**
Yeast Malt Extract Agar (YMEA)	Maya saflaştırılması ve aktive edilmesi
Yeast Malt Extract Broth (YMEB)	Mayaların pigment miktarlarını belirlenmesi
Potato Dextrose Agar (PDA)	Maya stok kültürü hazırlanması

3.1.3. Kimyasal Maddeler

Araştırmada kullanılan kimyasal maddeler çizelge 3.3.'te gösterilmiştir.

Çizelge 3.3. Araştırmada Kullanılan Kimyasal Maddeler

Kimyasal Madde	Kullanım Amacı
Paraffin liquid (Merck, 107162)	Stok kültür hazırlama
Acetone (Merck, 1.00013)	Karotenoid ekstraksiyonu
n-hexane (Merck)	Karotenoid ekstraksiyonu
Metanol (Merck)	Karotenoid ekstraksiyonu
Butylated hydroxytoluene (Sigma-Aldrich)	Karotenoid ekstraksiyonu

3.1.4. Ekipmanlar

Araştırmada kullanılan ekipmanlar çizelge 3.4.'te gösterilmiştir.

Çizelge 3.4. Araştırmada Kullanılan Ekipmanlar

Alet, Ekipman	Özelliği
Spektrofotometre	Shimadzu UV-1201
Manyetik Karıştırıcı	Nüve NM 110, Heidolph 5411 (Germany), Elektro-Mag (Türkiye)
Otoklav	VEB (Germany)
Homojenizatör	IKA T18
Terazi	Scaltec (Germany)
Santrifüj	Hettich mikro 220R
İnkübatör	Jeio Tech SI-300R
Rotary Evaporatör	Büchi
Hunter Lab	Minolta

3.2. Metod

Farklı ortam koşullarının (pH, sıcaklık, ışık, çalkalama hızı) *Rhodotorula* spp. gelişimi üzerine etkisini belirlemek amacıyla, mayalar, Yeast Malt Extract (YME) agar besiyerine ekimi yapılarak, aerobik koşullarda, 30 °C'de 7 gün süre ile inkübasyona bırakılmıştır.

3.2.1. Maya Suşlarının Stok Kültürlerinin Hazırlanması

Saf maya suşlarının, çalışmalarda kullanılmak amacıyla stok kültürler hazırlanmıştır. Maya suşları Potato Dextrose Agara (PDA) ekim yapılarak 25 °C'de 48 saat inkübe edildikten sonra, gelişimleri tamamlanan suşların üzerleri steril sıvı parafin ile kaplanmış ve +5 °C'de muhafaza edilmiştir (Barnett ve ark., 1990).

3.2.2. Maya Kültürlerinin Hazırlanması

Rhodotorula spp.'lerin 250 mL sıvı YME agar besiyerine ayrı ayrı ekimleri yapılarak, ekim anından itibaren 50 saatlik inkübasyon süresince her 10 saatte bir örnek alınmış ve sprektrofotometrede 578 nm dalga boyunda, hücre yoğunluğu ölçülmüş ve aynı anda YME agar besiyerine ekimleri gerçekleştirilerek hücre sayıları belirlenmiş ve 10^6 kob/mL olarak ayarlanmıştır (Dönmez, 2010).

3.2.3. Pigment Üretiminde Kullanılan Kültürlerin Ortam Şartlarının Belirlenmesinde Kullanılan Değişkenler

Bu çalışmadaki pigment üretiminde kültür koşullarının belirlenmesinde kullanılan değişkenler pH (5,5 ve 6,0), ışık (0 ve her biri 83 W olan 3 ampul), çalkalama hızı (150 ve 180 rpm) olmak üzere Çizelge 3.5.'te gösterilmiştir.

Çizelge 3.5. Pigment üretimi için kullanılan ortam koşulları

Ortamlar	pH	Aydınlatma (Adet)	Çalkalama Hızı (Rpm)
1. Ortam	6	0	150
2. Ortam	6	3	150
3. Ortam	6	0	180
4. Ortam	6	3	180
5. Ortam	5.5	0	150
6. Ortam	5.5	3	150
7. Ortam	5.5	0	180
8. Ortam	5.5	3	180

3.2.4. pH'nın Pigment Oluşumu Üzerine Etkisinin Belirlenmesi

Çalışmamızda besiyerinin pH'sı 0,1 N HCl ilavesiyle 5,5 ve 6,0'a ayarlanmış ve 7 gün inkübasyon sonunda pigment oluşumu üzerindeki etkisi belirlenmiştir.

3.2.5. Işığın Pigment Oluşumu Üzerine Etkisinin Belirlenmesi

Çalışmamızda her birinin gücü 800 µmol/m^2 olan ampuller kullanılarak 2 farklı ortam yaratılmıştır. 7 gün süren inkübasyonda karanlık ve 3 ampulün (her biri 83 W olmak üzere) kullanıldığı inkübasyon koşullarındaki pigment gelişimleri gözlenmiştir.

3.2.6. Çalkalama Hızının Pigment Oluşumu Üzerine Etkisinin Belirlenmesi

Çalışmamızda kültürlerin 150 ve 180 rpm'de çalkalandığı inkübasyon koşulları sonunda pigment üretim miktarı belirlenmiştir.

3.2.7. Maya Kültürlerinden Pigment Üretilmesi

Mayalar tarafından üretilen pigment miktarının belirlenmesinde öncelikle, stok kültürden örnek alınarak, YME agar üzerine çizgi ekim yöntemiyle ekim yapılmış, 25 °C'de 3 gün inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda, bir öze dolusu örnek alınarak, 5 mL YME Broth besiyerine inoküle edilmiştir. Daha sonra, 25 °C'de 24 saat inkübasyona bırakılmış, inkübasyon sonunda, maya kültürlerinin hücre sayıları 10^6 kob/mL olarak ayarlanmış ve 250 mL'lik erlenlerde bulunan 45 mL YMEB besiyerine 5 mL ekim yapılarak belirlenen ortam koşullarında 7 gün boyunca geliştirilmiştir. İnkübasyon sonunda besiyerinin hücre kütlesinden ayrılması amacıyla, 5000 rpm hızla 10 dk santrifüj işlemi uygulanmıştır. Besiyerinden ayrılan maya kütlesini saf su ile yıkama işlemi (saf su ile) 2 kez uygulanmıştır (Martin ve ark., 1993).

3.2.8. Toplam Karotenoid Miktarının Belirlenmesi

Örneklerin toplam karotenoid içeriklerinin belirlenmesi için Lee ve Castle (2001)'ın daha önce belirtmiş oldukları yöntem laboratuvarımız koşullarına uygun hale getirilerek kullanılmıştır. Bunun için kalan hücre kütlesi 50 mL'lik santrifüj tüpüne aktarılarak üzerlerine örnek miktarının 2 katı kadar ekstraksiyon çözeltisi (hekzan: aseton: metanol/50:25:25, % 0.1 BHT içerikli) eklenmiştir. Bu işlemi takiben homojenizatörde 18000 d/d hızda karıştırma işlemi uygulandıktan hemen sonra 4000 rpm, 10 dk, 4^oC'de santrifüjleme işlemi yapılarak, santrifüjleme sonrası vakit kaybetmeden Perkin Elmer Lambda 25 UV/VIS (Massachusetts, USA, 2005) spektrofotometre' de 450 nm'de absorbans ölçülmüştür. Toplam karotenoid *β*-karoten cinsinden ifade edilmiş olup hesaplamada ekstinksiyon katsayısı ($E^{1/2}$) 2505 olarak kullanılmıştır.

$$Toplam\ karotenoid\ (\frac{mg}{100\ mL}) = \frac{Absorbans \times SF}{E^{1/2}} \times 1000$$

SF: Seyreltme faktörü

$E^{1/2}$= Ekstinksiyon katsayısı (2505)

3.2.9. Pigmentlerin Renk Ölçümü

Çözücünün uzaklaştırılması amacıyla pigment içeren çözücü rotary evaporatörde 35 °C'de vakum altında evapore edilerek çözücü uzaklaştırılmıştır (Artık, 2007; Büyüksırıt ve Kuleaşan, 2013). Renk maddelerinin değerlerinin tespiti amacıyla toz haldeki renk maddeleri 40 mL suya ilave edilmiş ve çözünmeleri veya süspansiyon oluşturmaları sağlanmıştır. Renk maddeleri renk ölçer cihazı ile Hunter Lab değerlendirme sistemine göre saptanmıştır. Yapılan tüm renk ölçümleri ikişerli paraleller şeklinde yapılmış ve değerlerin ortalaması alınmıştır. Elde edilen L*, a* ve b* değerleri kullanılarak renklerin insan gözü ile görülen şekliyle ifade edilmesini kolaylaştıran H° açıları (Renk tonu-Hue angle) hesaplanmıştır (Büyüksırıt ve Kuleaşan, 2013).

3.2.10. İstatistiksel Analiz

Farklı ortamlarda üretilen pigment miktarları varyans analizi ile değerlendirilmiş ve önemli bulunan farklılıklara Duncan çoklu karşılaştırma testi uygulanmıştır. Bu amaçla "Windows SPSS 20.0 software" programı kullanılmıştır (Özdamar, 2011).

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

Bu araştırmada 7 farklı *Rhodotorula* suşu kullanılarak 8 farklı inkübasyon ortamında pigment sentezi gerçekleştirilmiş ve maya suşlarının oluşturduğu toplam karotenoid miktarları belirlenmiştir. Ardından pigmentlerin renk değerleri ölçülerek, farklı kültür ortamında söz konusu suşların pigment üretimleri değerlendirilmiştir.

4.1. pH'nın Pigment Oluşumu Üzerine Etkisi

Araştırmada, gelişim ortamının pH değerinin oluşan karotenoid miktarı üzerinde etkili olduğu belirlenmiştir. Yaptığımız çalışmada, *Rhodotorula* suşlarının tamamının pH 6'da, pH 5,5'a göre daha fazla miktarda toplam karotenoid ürettikleri tespit edilmiştir. En fazla toplam karotenoid üretiminin, pH 6 olan ortamda, *R. glutinis* (M1) tarafından gerçekleştirildiği saptanmıştır.

Araştırma sonuçlarına göre, *Rhodotorula* spp.'nin pH 6 olan ortamda daha fazla karotenoid ürettiği görülmektedir.

Çalışmamızdan elde edilen sonuçlara paralel olarak, Aksu ve Eren (2007) tarafından, *R. glutinis*'in karotenoid üretimi üzerine yapılan çalışmada, en fazla karotenoid üretiminin pH 6'da gerçekleştiği tespit edilmiştir. Malisorn ve Suntornsuk (2007) yaptıkları çalışmada, β-karoten üretimi için en uygun pH nın 6 olduğunu belirtmişlerdir. Bunlardan farklı olarak, Gurpreet ve Balmeet (2011) ise, biyokütle ve karotenoid üretimi için en uygun pH'nın 7 olduğunu belirtmişlerdir.

Çizelge 4.1. pH 5,5'da üretilen toplam karotenoid miktarları (mg/L)

Ortamlar / Suşlar	150 rpm		180 rpm	
	Işıklı	Karanlık	Işıklı	Karanlık
M1	3,79	3,07	3,89	3,82
M27	3,42	3,18	3,86	3,59
M48	2,35	2,32	2,71	2,56
M56	2,64	2,81	2,39	2,6
M57	2,02	2,22	3,1	3,19
M60	3,53	3,47	3,7	3,68
M61	2,31	2,51	2,6	2,88

Çizelge 4.2. pH 6'da üretilen toplam karotenoid miktarları (mg/L)

Ortamlar / Suşlar	150 rpm		180 rpm	
	Işıklı	Karanlık	Işıklı	Karanlık
M1	3,85	3,83	4,46	4,03
M27	3,36	3,33	4,11	3,49
M48	2,62	2,02	3,2	2,64
M56	2,92	3,09	3,01	3,34
M57	2,91	3,74	3,04	3,82
M60	3,76	3,47	3,87	3,82
M61	2,98	3,01	3,09	3,49

Çizelge 4.3.'de görüldüğü gibi farklı çalkalama hızı ve ışık bulunan ortamlarda üretilen karotenoid miktarı üzerine pH'nın etkisinin % 5 güven sınırında önemli düzeyde farklı olduğu belirlenmiştir.

Çizelge 4.3. Farklı pH ortamında üretilen pigment miktarları (mg/L)

	150 rpm		180 rpm		Önem
	Işıklı	**Karanlık**	**Işıklı**	**Karanlık**	**Seviyesi**
M1	3,82 ±0,04243^{c}	3,45 ±0,5374^{b}	4,1750 ±0,40305^{c}	3,9250 ±0,14849^{c}	ö.
M27	3,39 ±0,04243^{bc}	3,255 ±0,10607^{ab}	3,9850 ±0,17678^{c}	3,54 ±0,07071^{bc}	ö.
M48	2,485 ±0,19092^{a}	2,17 ±0,21213^{a}	2,9550 ±0,34648^{a}	2,6 ±0,05657^{a}	ö.
M56	2,780 ±0,19799^{ab}	2,95 ±0,19799^{ab}	2,7 ±0,43841^{a}	2,97 ±0,52326^{ab}	ö.
M57	2,465 ±0,62933^{a}	2,98 ±1,07480^{ab}	3,07 ±0,04243^{ab}	3,505 ±0,44548^{bc}	ö.
M60	3,645 ±0,16263^{c}	3,47 ±0,00^{b}	3,7850 ±0,12021^{bc}	3,75 ±0,09899^{bc}	ö.
M61	2,645 ±0,47376^{ab}	2,76 ±0,35355^{ab}	2,8450 ±0,34648^{a}	3,185 ±0,43134^{abc}	ö.

ö. :Önemli. Aynı satırda farklı harflerle verilen ifadeler Duncan testine göre istatistiksel olarak önemli ($p<0.05$ seviyesinde) bulunmuştur.

4.2. Çalkalama Hızının Pigment Oluşumu Üzerine Etkisi

Yaptığımız çalışmada, tüm suşların çalkalama hızı arttıkça, karotenoid üretimlerinin arttığı belirlenmiştir. 180 rpm hızla çalkalanan besiyerlerinde tespit edilen toplam karotenoid miktarı, çalkalama hızı 150 rpm olan ortamlarda tespit edilen toplam karotenoid miktarına göre daha fazla bulunmuştur.

Çalışmamızdan elde edilen sonuçlara paralel olarak, Ökmen ve Işık (2014) yaptıkları çalışmada, 100, 200 ve 300 rpm'de geliştirilen hücrelerin çalkalama hızı arttıkça daha fazla gelişim gösterdiklerini belirtmişlerdir.

Çizelge 4.4. 150 rpm'de toplam karotenoid üretim miktarları (mg/L)

Ortamlar / Suşlar	pH 5,5		pH 6	
	Işıklı	Karanlık	Işıklı	Karanlık
M1	3,79	3,07	3,85	3,83
M27	3,42	3,18	3,36	3,33
M48	2,35	2,32	2,62	2,02
M56	2,64	2,81	2,92	3,09
M57	2,02	2,22	2,91	3,74
M60	3,53	3,47	3,76	3,47
M61	2,31	2,51	2,98	3,01

Çizelge 4.5. 180 rpm'de pigment üretim miktarları (mg/L)

Ortamlar / Suşlar	pH 5,5		pH 6	
	Işıklı	Karanlık	Işıklı	Karanlık
M1	3,89	3,82	4,46	4,03
M27	3,86	3,59	4,11	3,49
M48	2,71	2,56	3,2	2,64
M56	2,39	2,6	3,01	3,34
M57	3,1	3,19	3,04	3,82
M60	3,7	3,68	3,87	3,82
M61	2,6	2,88	3,09	3,49

Çizelge 4.6.'da görüldüğü gibi farklı pH değerleri ve ışık bulunan ortamlarda üretilen karotenoid miktarı üzerine çalkalama hızının etkisinin % 5 güven sınırında önemli düzeyde farklı olduğu belirlenmiştir.

Çizelge 4.6. Farklı çalkalama hızında üretilen pigment miktarları (mg/L)

	pH 5,5		**pH 6**		**Önem Seviyesi**
	Işıklı	**Karanlık**	**Işıklı**	**Karanlık**	
M1	3,84 ±0,7071^{b}	3,445 ±0,53033^{b}	4,155 ±0,43134^{c}	3,93 ±0,14142^{c}	ö.
M27	3,64 ±0,31113^{b}	3,385 ±0,28991^{ab}	3,735 ±0,53033^{bc}	3,41 ±0,11314^{bc}	ö.
M48	2,53 ±0,25456^{a}	2,44 ±0,16971^{a}	2,91 ±0,41012^{a}	2,33 ±0,43841^{a}	ö.
M56	2,515 ±0,17678^{a}	2,705 ±0,14849^{ab}	2,965 ±0,06364^{ab}	3,215 ±0,17678^{b}	ö.
M57	2,56 ±0,76368^{a}	2,705 ±0,68589^{ab}	2,975 ±0,09192^{ab}	3,78 ±0,05657^{bc}	ö.
M60	3,615 ±0,12021^{b}	3,575 ±0,14849^{b}	3,815 ±0,07778^{c}	3,645 ±0,24749^{bc}	ö.
M61	2,455 ±0,20506^{a}	2,695 ±0,26163^{ab}	3,035 ±0,07778^{ab}	3,25 ±0,33941^{b}	ö.

ö. :Önemli. Aynı satırda farklı harflerle verilen ifadeler Duncan testine göre istatistiksel olarak önemli ($p<0.05$ seviyesinde) bulunmuştur.

4.3. Işığın Pigment Oluşumu Üzerine Etkisi

Yaptığımız çalışmada, karanlık ve ışıklı olmak üzere 2 farklı şekilde oluşturulan gelişme ortamlarında üretilen toplam karotenoid içeriği kullanılan suşlara göre değişiklik göstermektedir.

Araştırma sonuçlarına göre, *R. glutinis, R. mucilaginosa, R. graminis* gibi maksimum karotenoid üretim miktarı tespit edilen mayaların ışıklı ortamda daha fazla karotenoid sentezlediği, *R. bogoriensis, R. minuta, R. armeniaca*'nın ise karanlık ortamda daha fazla karotenoid sentezlediği tespit edilmiştir.

Çalışmamızdan elde edilen sonuçlara paralel olarak literatürde ışıklı ortamda sentezlenen pigmentler hakkında farklı bilgiler mevcuttur. Kahyaoğlu ve Kıvanç (2007), mikrobiyel yolla β-karoten üretimini araştırdıkları bir çalışmada, ışığın β-karoten üretimini arttırdığını, fakat sürekli ışık uygulanan ortamda karotenoid üretiminin devamlı artmadığını belirtmişlerdir. Tan ve arkadaşlarının (2014) yaptıkları çalışmada, farklı miktarda ışık bulunan ortamlarda geliştirilen mayalardan elde edilen pigment miktarına göre en fazla pigment üretiminin ışığın en fazla olduğu ortamda elde edildiği belirtilmiştir. Bhosale ve Gadre (2002)'nin yaptıkları, *Rhodotorula glutinis*'in gelişimi ve β-karoten üretimi üzerine farklı sıcaklıkların ve aydınlatma koşullarının etkisini araştırdıkları çalışmada ise, beyaz ışığın gelişimi ve karotenoid üretimini engellediğini tespit etmişlerdir.

Çizelge 4.7. Işıklandırmaya göre pigment üretim miktarları (mg/L)

	pH: 5,5, 150 rpm		pH: 5,5, 180rpm		pH: 6, 150 rpm		pH: 6, 180 rpm	
	A	K	A	K	A	K	A	K
M1	3,79	3,07	3,89	3,82	3,85	3,83	4,46	4,03
M27	3,42	3,18	3,86	3,59	3,36	3,33	4,11	3,49
M48	2,35	2,32	2,71	2,56	2,62	2,02	3,2	2,64
M56	2,64	2,81	2,39	2,6	2,92	3,09	3,01	3,34
M57	2,02	2,22	3,1	3,19	2,91	3,74	3,04	3,82
M60	3,53	3,47	3,7	3,68	3,76	3,47	3,87	3,82
M61	2,31	2,51	2,6	2,88	2,98	3,01	3,09	3,49

(A: Işıklı ortam, K: Karanlık ortam)

Çizelge 4.8'de görüldüğü gibi farklı pH değerleri ve çalkalama hızında ortamlarda üretilen pigment miktarı üzerine ışığın etkisinin % 5 güven sınırında önemli düzeyde farklı olduğu belirlenmiştir.

Çizelge 4.8. Farklı ışık miktarında üretilen pigment miktarları (mg/L)

	pH 5,5		pH 6		Önem
	150 rpm	**180 rpm**	**150 rpm**	**180 rpm**	**Seviyesi**
M1	3,43 ±0,50912^{c}	3,855 ±0,04950^{c}	3,84 ±0,01414^{c}	4,245 ±0,30406^{c}	ö.
M27	3,3 ±0,16971^{c}	3,725 ±0,19092^{c}	3,345 ±0,02121^{bc}	3,8 ±0,43841^{abc}	ö.
M48	2,335 ±0,02121^{ab}	2,635 ±0,10607^{a}	2,32 ±0,42426^{a}	2,92 ±0,39598^{a}	ö.
M56	2,725 ±0,12021^{b}	2,495 ±0,14849^{a}	3,005 ±0,12021^{ab}	3,175 ±0,23335^{ab}	ö.
M57	2,12 ±0,14142^{a}	3,145 ±0,06364^{b}	3,325 ±0,58690^{bc}	3,43 ±0,55154^{abc}	ö.
M60	3,5 ±0,04243^{c}	3,69 ±0,01414^{c}	3,615 ±0,20506^{bc}	3,845 ±0,03536^{bc}	ö.
M61	2,41 ±0,14142^{ab}	2,74 ±0,19799^{a}	2,995 ±0,02121^{ab}	3,29 ±0,28284^{ab}	ö.

ö. :Önemli. Aynı satırda farklı harflerle verilen ifadeler Duncan testine göre istatistiksel olarak önemli ($p<0.05$ seviyesinde) bulunmuştur.

4.4. Pigmentlerin Renk Değerleri

Hunter Lab spektrofotometre kullanılarak pigmentlerin L*, a*, b* değerleri açıklık/koyuluk, kırmızılık ve sarılık göstergesi olarak ölçümü yapılmıştır.

Çizelge 4.9. 150 rpm'de geliştirilen mayalardan sentezlenen pigmentlerin renk değerleri

	Işıklı						**Karanlık**					
	pH: 5,5			**pH: 6**			**pH: 5,5**			**pH: 6**		
	L*	a*	b*	L*	a*	b*	L*	a*	b*	L*	a*	b*
M1	48,24	19,1	16,01	62,39	9,38	10,39	50,29	20,41	15,38	50,21	20,57	17,74
M27	46,37	27,12	25,59	55,61	17,51	17,26	47,94	26,48	24,94	47,05	26,72	26,99
M48	48,65	23,43	24,50	55,83	15,42	15,55	49,08	23,02	24,39	55,37	15,28	35,23
M56	48,3	22,57	18,2	49,915	21,50	27,52	47,51	21,49	17,64	51,72	20,56	24,08
M57	52,1	20,81	22,07	49,79	22,7	21,90	51,19	18,72	23,15	52,83	20,54	22,84
M60	52,72	18,93	19,68	50,60	19,93	23,19	52,38	21,64	18,68	49,86	21,98	26,04
M61	51,14	20,65	21,18	49,87	18,84	21,93	52,98	19,46	21,98	48,12	19,09	25,96

Çizelge 4.10. 180 rpm'de geliştirilen mayalardan sentezlenen pigmentlerin renk değerleri

	Işıklı						**Karanlık**					
	pH: 5,5			**pH: 6**			**pH: 5,5**			**pH: 6**		
	L*	a*	b*	L*	a*	b*	L*	a*	b*	L*	a*	b*
M1	48,11	25,87	20,13	50,36	22,89	19,62	50,45	21,34	19,74	50,83	22,41	23,15
M27	50,27	24,11	19,1	47,88	27,22	23,17	47,62	24,5	19,27	49,04	24.95	22,31
M48	51,31	21,77	21,26	49,68	22,56	19,38	47,57	24,71	21,19	45,90	24,63	21,87
M56	51,96	25,12	17,23	51,27	21,03	17,38	48,02	26,76	19,43	47,49	25,22	19,19
M57	52,35	20,67	20,55	49,22	23,15	19,76	53,15	19,06	19,73	46,01	26,21	17,26
M60	52,46	19,89	17,08	51,07	21,34	17,01	49,45	23,18	19,58	48,35	23,87	19,94
M61	49,78	20,87	15,07	44,08	26,50	21,43	51,84	19,2	15,87	47,76	22,84	20,40

M1 için karanlık ve pH 6 olan ortamda sentezlenen pigmentlerin L, a, b değerlerinin pH 5,5 olan ortama göre daha yüksek tespit edilmesi, pH'nın 6 olduğu ortamda sentezlenen M1 pigmentlerinin kırmızılık değerinin fazla, sarılık değerinin düşük ve daha açık renkte olduğunu ifade etmektedir. Aynı ortamlarda çalkalama hızı 180 rpm olan ortam değerleri de 150 rpm olan ortam değerlerine göre fazla bulunmuştur. Aydınlık olan ortamda ise pH 5,5 olan ortamda pH 6 olan ortama göre a ve b değerlerinin daha yüksek, L değerinin daha düşük tespit edilmesi, pH'nın 5,5 olduğu bu ortamda kırmızılık değerinin fazla, sarılık değerinin düşük ve daha koyu olduğunu ifade etmektedir.

M48 için aydınlık ve pH değeri 6 olan ortamda b değerinin besiyerin pH'sının 5,5 olan ortama göre daha düşük olarak belirlenmesi pH'nın yüksek olduğu ortamda sentezlenen pigmentin M48 mayası için daha sarı olduğunu ifade etmektedir. Karanlık olan ortamda ise pH değerinin 6 olduğu ortamda a değerlerinin pH 5,5 olan ortama göre daha yüksek olarak belirlenmesi pH 6 olan ortamda sentezlenen M48 pigmentlerinin daha yüksek kırmızılık değeri olduğunu ifade etmektedir.

M56 için aydınlık ve pH değeri 6 olan ortamda sentezlenen pigmentlerin, pH 5,5 olan ortama göre a değerleri daha düşük, b değerleri ise daha yüksek tespit edilmiştir. Buna göre pH 5,5 olan ortamda sentezlenen pigmentlerin kırmızılık değeri

yüksek, sarılık değeri ise düşüktür. Aynı ortamın çalkalama hızının 180 rpm olduğu ortamlarda 150 rpm olan ortamlara göre a ve b değerlerinin daha yüksek tespit edilmesi, 180 rpm'de sentezlenen pigmentlerin kırmızılık değerlerinin daha yüksek olduğunu ifade etmektedir. M56'nın karanlık ortamlarda sentezlediği pigmentler için ise 180 rpm de ölçülen L ve a değerlerinin 150 rpm'e göre düşük olması, bu ortamda sentezlenen pigmentlerin daha koyu ve kırmızılık değerinin yüksek olduğunu ifade etmektedir. M56 tarafından karanlık ve pH 6 olan ortamda üretilen pigmentlerin a değerlerinin pH 5,5 olan ortama göre daha düşük olması kırmızılık değerlerinin daha düşük olduğunu ifade etmektedir.

M57 için, aydınlık ve pH 6 olan ortamda sentezlenen pigmentlerin pH 5,5 olan ortama göre L ve b değerlerinin daha düşük, a değerinin daha yüksek tespit edilmesi bu pigmentlerin daha koyu, kırmızılık ve sarılık değerlerinin daha yüksek olduğunu ifade etmektedir. Aynı ortamda çalkalama hızı 180 rpm olan ortamda sentezlenen pigmentlerin b değerlerinin 150 rpm olan ortamdan daha düşük olması, 180 rpm'deki pigmentlerin sarılık değerlerinin daha yüksek olduğunu ifade etmektedir. M57 için karanlık ve pH 6 olan ortamda sentezlenen pigmentlerin a ve b değerlerinin, pH 5,5 olan ortamda sentezlenen pigmentlerin a değerinden yüksek, b değerinden ise düşük olması bu pigmentlerin kırmızılık ve sarılık değerlerinin yüksek olduğunu ifade etmektedir. Aynı şekilde bu pigmentlerin 180 rpm'de sentezlenen pigmentlerin a ve b değerleri 150 rpm'de tespit edilen değerlere göre a değeri daha yüksek, b değeri daha düşük olarak tespit edilmiştir.

M60 için aydınlık ve pH değeri 6 olan ortamda sentezlenen pigmentlerin, pH 5,5 olan ortama göre a değerleri daha yüksek, L değerleri ise daha düşük tespit edilmiştir. Buna göre pH 6 olan ortamda sentezlenen pigmentlerin kırmızılık rengi yüksek ve daha açıktır. Aynı ortamın çalkalama hızının 180 rpm olduğu ortamlarda 150 rpm olan ortamlara göre b değerinin daha düşük tespit edilmesi, 180 rpm'de sentezlenen pigmentlerin sarılık değerlerinin daha yüksek olduğunu ifade etmektedir. M60 için karanlık olan ortamlarda pH değeri 6 olan ortamda sentezlenen pigmentlerin, pH 5,5 olan ortama göre a ve b değerleri daha yüksek tespit edilmiştir. Buna göre pH 6 olan ortamda sentezlenen pigmentlerin kırmızılık ve sarılık değeri daha yüksektir. Aynı ortamın çalkalama hızının 180 rpm olduğu ortamlarda 150 rpm

olan ortamlara göre L değerinin daha düşük, a değerinin daha yüksek olarak tespit edilmesi, 180 rpm'de sentezlenen pigmentlerin daha açık ve kırmızılık değerlerinin daha yüksek olduğunu ifade etmektedir.

M61 için aydınlık ve pH değeri 6 olan ortamda sentezlenen pigmentlerin, pH 5,5 olan ortamsa sentezlenen pigmentlere göre b değerleri daha yüksek, L değerleri ise daha düşük tespit edilmiştir. Buna göre pH 6 olan ortamda sentezlenen pigmentler daha açık ve sarılık değerleri daha düşüktür. Aynı ortamın çalkalama hızının 180 rpm olduğu ortamlarda 150 rpm olan ortamlara göre L ve b değerinin daha düşük, a değerinin daha yüksek tespit edilmesi, 180 rpm'de sentezlenen pigmentlerin açık ve sarılık değerlerinin daha yüksek, kırmızılık değerlerinin ise yüksek olduğunu ifade etmektedir. M60 için karanlık olan ortamlarda pH değeri 6 olan ortamda sentezlenen pigmentlerin, pH 5,5 olan ortama göre b değeri daha yüksek, L değeri daha düşük tespit edilmiştir. Buna göre pH 6 olan ortamda sentezlenen pigmentler daha açık ve sarılık değeri daha düşüktür. Aynı ortamın çalkalama hızının 180 rpm olduğu ortamlarda 150 rpm olan ortamlara göre L ve b değerinin daha düşük olarak tespit edilmesi, 180 rpm'de sentezlenen pigmentlerin daha açık ve sarılık değerlerinin daha yüksek olduğunu ifade etmektedir.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Mayalardan özellikle daha önce yapılan çalışmalarla karotenoid üretim verimi yüksek olduğu belirlenen ***Rhodotorula*** spp.'nin farklı ortamlarda geliştirilerek bu değişkenlerin (pH, çalkalama hızı, aydınlatma) pigment üretimi üzerine etkisi araştırılmıştır.

pH'nın 5,5 ve 6'ya ayarlanmış şekilde olduğu besiyerlerinde üretilen toplam karotenoid miktarları incelendiğinde en fazla karotenoid üretimine göre sırasıyla ***R. glutinis***, ***R. mucilaginosa*** ve ***R. graminis*** olmuştur. ***R. glutinis***'in pH 6'da geliştirilerek 4,46 mg/L toplam karotenoid sentezlediği, ***R. mucilaginosa***'nın pH 6'da geliştirilerek 4,11 mg/L toplam karotenoid sentezlediği, ***R. graminis***'in pH 6'da geliştirilerek 3,87 mg/L toplam karotenoid sentezlediği tespit edilmiştir.

Çalkalama hızının 150 ve 180 rpm olarak ayarlandığı inkübatörlerde geliştirilen mayaların sentezledikleri toplam karotenoid içeriği maya suşuna göre ve bulundukları ortam koşullarına göre farklılık göstermektedir. En fazla karotenoid üretiminin gözlendiği mayalardan olan ***R. glutinis***, ***R. mucilaginosa ve R. graminis***'in gelişme ortamlarının çalkalama hızları 180 rpm olarak tespit edilmiştir.

Değişik aydınlatma şartlarının toplam karotenoid üretimini tespit etmek amacıyla yapılan karanlık ve 3 adet lamba kullanılarak ışıklı ortamlarda sentezlenen karotenoid miktarı maya suşuna ve ortam koşullarına göre değişmekle birlikte genel olarak aydınlık ortamlarda daha fazla bulunmuştur. En fazla karotenoid sentezlediği tespit edilen mayalardan olan ***R. glutinis***, ***R. mucilaginosa*** ve ***R. graminis***'in ışıklı gelişme ortamında karanlık ortama göre daha fazla karotenoid sentezlediği tespit edilmiştir.

Sonuç olarak karotenoidlerin elde edilmesinde doğal bir kaynak olarak mayaların kullanılabileceği ve çeşitli faktörlerle (çalkalama hızı:180 rpm, pH:6, ışıklı ortamda) mayaların ürettiği karotenoid miktarının arttırılabileceği belirlenmiştir.

Mayanın ürettiği karotenoid miktarını arttırmak amacı ile bu çalışmada sınırlı düzeyde yapılan gelişme koşulları ile ilgili optimizasyon çalışmaları genişletilerek tekrarlanmalıdır. Bu kapsamda farklı gelişme koşullarının etkisi (inkübasyon sıcaklığı ve süresi, katkı maddesi ilavesi, besiyeri içeriği, ışık süresi, iz element

ilavesi vb.) araştırılmalıdır. Gıda sanayi atıklarının (peyniraltı suyu, üzüm şırası, glikoz şurubu, pancar melası, mısır unu ekstraktı vb.) substrat olarak kullanılarak maliyetin düşürülmesi ve atıkların değerlendirilmesi üzerine çalışmalar yapılmalıdır. Ayrıca çalışmada elde edilen karotenoidlerin in vivo olarak gıda ortamında kullanılması ve o gıda ürününün çeşitli özellikleri (duyusal özellikler, aromatik özellikler, besin değeri, raf ömrü özellikleri vb.) üzerine etkisi değerlendirilmelidir.

KAYNAKLAR

ACHEAMPONG, E. A. ve MARTIN, A. M., 1995. Kinetic studies on the yeast *Phaffia rhodozyma*. Journal of Basic Microbiology, 35 (3), 147-155 s.

ADHIKARI, D. K., SAXENA, V., SHARMA, C. D., BHAGAT, S. D. ve SAINI, V. S., 1998. Lipid and Fatty Acid Biosynthesis by *Rhodotorula minuta*. Journal of Oil & Fat Industries, March.

AGUILAR, C. N., HERNÁNDEZ-ALMANZA, A., MONTANEZ, J. C., AGUILAR-GONZÁLEZ, M. A., MARTÍNEZ-ÁVILA, C. ve RODRÍGUEZ-HERRERA, R., 2014b. *Rhodotorula glutinis* as source of pigments and metabolites for food industry. Food Bioscience 5, 64–72.

AGUILAR, C.N., RODRIGUEZ-HERRERA, R., MARTINEZ-AVILA, C., MONTANEZ-SAENZ, J. ve HERNANDEZ-ALMANZA, A., 2014a. Carotenoid production by *Rhodotorula glutinis* YB-252 in solid-state fermentation. Food Bioscience, Volume 7, 31-36.

AHN, G. H., 1996. Asthaxantin Production from the Red Yeast *Phaffia rhodozyma*. Microorganisms and Industry, 22(2),128-136 s.

AKSU, Z. ve EREN, A. T., 2005. Carotenoids production by the yeast *Rhodotorula mucilaginosa*: Use of agricultural wastes as a carbon source. Process Biochemistry, Volume 40, Issue 9, Pages 2985–2991.

AKSU, Z. ve EREN, A. T., 2007. Production of carotenoids by the isolated yeast of *Rhodotorula glutinis*. Biochemical engineering journal, 35(2), 107-113.

ALVAREZ, R. M., RODRIGUEZ, B., ROMANO, J. M., DIAZ, A. O., OMEZ, E., MIRO, D., NAVARRO, L., SAURA, G., ve GARCIA, J. L., 1992. Lipid accumulation in *Rhodotorula glutinis* on sugar cane molasses in single-stage continuous culture. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 8, 214–215.

ANONYMOUS, 2005d. http://www.nutrasanus.com/carotenoid.html (01.05.2015)

ANONYMOUS, 2013. http://www.alternatifterapi.com/icerik/karotenoidler (01.05.2015)

ANONYMOUS, 2015a. http://en.wikipedia.org/wiki/Rhodotorula (01.05.2015)

ANONYMOUS,2015b. http://www.mycology.adelaide.edu.au/Fungal_Descriptions/Yeasts/Rhodotorula/(01.05.2015)

ARTIK, N., 2007. Türkiye'deki Başlıca İncir Çeşitlerinin Karotenoid ve Antosiyanin İçerikleri ve Kurutma Prosesinde Değişimleri. Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri, 17s., Ankara.

ARUN, N. ve SINGH, D. P., 2013. Differential response of *Dunaliella salina* and *Dunaliella tertiolecta* isolated from brines of Sambhar Salt Lake of Rajasthan (India) to salinities: A study on growth, pigment and glycerol synthesis. J. Mar. Biol. Ass. India, 55 (1), 65-70, January-June.

ASHLEY, J. N., RAISTRICK, H. ve RICHARDS, T., 1939. Studies in the biochemistry of micro-organisms: The crystalline colouring matters of species in the *Aspergillus glaucus* series. Part II, Biochemical Journal 33.8: 1291.

ASKER, D., ve OHTA, Y., 2002. Production of canthaxanthin by *Haloferax alexandrinus* under non-aseptic conditions and a simple, rapid method for its extraction. Appl Microbiol Biotechnol 58:743–750.

BARNETT, J.A., PAYNE, R.W. ve YARROW, D., 1990. Yeasts Characteristics and Identification, Cambridge University Press, Cambridge, London, Newyork, 887.

BENDICH, A., ve OLSON, J. A., 1989. Biological Actions of Carotenoids. The FASEB Journal. June, Vol:3, 1927-1933.

BHOSALE, P. ve GADRE, R. V., 2001. Production of b-carotene by a mutant of *Rhodotorula glutinis.* Applied Microbiology and Biotechnology, 55, 423–427.

BHOSALE, P. ve GADRE, R. V., 2002. Manipulation of temperature and illumination conditionsfor enhanced B-carotene production by mutant 32 of *Rhodotorula glutinis*. Letters in Applied Microbiology, 34, 349-353s.

BHOSALE, P., 2004. Environmental and cultural stimulants in the production of carotenoids from microorganisms. Appl. Microbiol. Biotechnol; 63: 351-361.

BHOSALE, P., JOGDAND, V. V. ve GADRE, R. V., 2003. Stability of b-carotene in spray dried preparation of *Rhodotorula glutinis* mutant 32. Journal of Applied Microbiology, 95, 584–590.

BINDU, S., SOMASHEKAR, D. ve JOSEPH, R., 1998. A Comparative Study on Permeabilization Treatments for Phytse of *Rhodotorula gracilis.* Lett. Appl. Microbiol. 27, 336-340.

BORENSTEIN, B. ve BUNNEL, R. H., 1966. Carotenoids. Properties Occurrence and Utilization in Foods. Advences in Food Research. Academic Press Inc., New York and London. Vol. 15, 195-276.

BRIDLE, P. ve TIMBERLAKE, C.F., 1997. Anthocyanins as natural food colour selected aspects. Food Chem; 58: 103-109.

BRITIGH, A., JOHANNSEN, M., BRUNNER, G., 1995. Supercritical-fluid Extraction of Oil-Palm Components. The Journal of Supercritical Fluids. 8:46-50.

BRITTON, G., 1992. Carotenoids. Natural Food Colorants, Edited by G.A.F. Hendry and J.D. Houghton, Published in USA, by avi. An Imprint of Van Nostrand Rainhold New York.

BUZZINI, P. ve MARTINI, A., 2000. Production of carotenoids by strains of *Rhodotorula glutinis* cultured in raw materials of agro-industrial origin. Bioresource Technology, 71(1), 41-44.

BUZZINI, P., 2000. An optimization study of carotenoid production by *Rhodotorula glutinis* DBVPG 3853 from substrates containing concentrated rectified grape must as the sole carbohydrate source. Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology, 24(1), 41-45.

BUZZINI, P., MARTINI, A., GAETANI M., TURCHETTIA, B., PAGNONI, U., M. ve DAVOLI, P., 2005. Optimization of carotenoid production by *Rhodotorula graminis* DBVPG 7021 as a function of trace element concentration by means of response surface analysis. Enzyme and Microbial Technology 36, 687–692.

BÜYÜKSIRIT, T. ve KULEAŞAN, H., 2013. Farklı Kaynaklardan Doğal Renk Maddesi Üreten Mikroorganizmaların İzolasyonu, Tanısı ve Elde Edilen Pigmentlerin Karakterizasyonu. Gıda 38 (4): 199-206.

CADEZ, N., ZUPAN, J. ve RASPOR, P., 2010. The effect of fungicides on yeast communities associated with grape berries. FEMS Yeast Res 10, 619–630.

CARREIRA, A., FERREIRA, L. M. ve LOUREIRO, V., 2001. Production of brown tyrosine pigments by the yeast *Yarrowia lipolytica*, Journal of Applied Microbiology, 90, 372±379.

CERIKCIOGLU, N., TETIK, C. ve MULAZIMOGLU, L., 2005. *Rhodotorula minuta*: uncommon yeast isolated as the causative agent of a right hip joint infection. . Journal of Medical Mycology, Volume 15, Issue 1, March, Pages 52–55.

CHANDI, G. K. ve GILL, B. S., 2011. Production and characterization of microbial carotenoids as an alternative to synthetic colors: a review. International Journal of Food Properties 14.3: 503-513.

CHÁVEZ, R., FIERRO, F., GARCÍA-RICO, R.O. ve LAICH, F., 2011. Mold-fermented foods: *Penicillium* spp. as ripening agents in the elaboration of cheese and meat products. Mycofactories, 73.

CHEIRSILP, B., SUWANNARAT, W. ve NIYOMDECHA, R., 2011. Mixed culture of oleaginous yeast *Rhodotorula glutinis* and microalga *Chlorella vulgaris* for lipid production from industrial wastes and its use as biodiesel feedstock. New Biotechnology, 28(4), 362-368.

CHEIRSLIP, B., KITCHA, S. ve TORPEE, S., 2012. Co-culture of an oleaginous yeast *Rhodotorula glutinis* and a microalga *Chlorella vulgaris* for biomass and lipid production using pure and crude glycerol as a sole carbon source. Annals of Microbiology, 62, 987–993.

CHENG, M. S. ve TSENG, Y. Y., 1989. Efficacy of antimicrobial substances from Monascus metabolites on preservation of meat. Abs. Of the 35th Inter. Congress on Meat. Copenhagen (20-25.08.1989)

CHI, Z. M., ZHAO, C. H., ZHANG, T. ve LI, M., 2010. Single cell oil production from hydrolysates of inulin and extract of tubers of Jerusalem artichoke by *Rhodotorula mucilaginosa* TJY15a. Process Biochemistry Volume 45, Issue 7, Pages 1121–1126.

CHOUDHARI, S.M., LAXMI, A. ve SINGHAL, R.S., 2008. Use of metabolic stimulators and inhibitors for enhanced production of B-carotene and lycopene by *Blakeslea trispora* NRRL2895 and 2896. Bioresource Technology, 99, 3166-3173.

CHUCK, C. J., SARGEANT, L. A., MARDELL, M., SAAD-ALLAH, K. M., HUSSEIN, A. M., WHIFFIN, F. ve SANTOMAURO, F., 2015. Production of lipid from depolymerised lignocellulose using the biocontrol yeast, *Rhodotorula minuta*: The fatty acid profile remains stable irrespective of environmental conditions Eur. J. Lipid Sci. Technol., 117, 0000–0000.

CHUNG, J. W., KIM, B. N. ve KIM, Y. S., 2002. Central venous catheter-related *Rhodotorula rubra fungemia*. J Infect Chemother 8:109–110.

COMPAGNO, C., GALAFASSI, S., CUCCHETTI, D., PIZZA, F., FRANZOSI, G. ve DANIELE BIANCHI, 2012. Lipid production for second generation biodiesel by the oleaginous yeast *Rhodotorula graminis*. Bioresource Technology 111:398-403.

DAĞBAĞLI, S., GÜVENÇ, U. VE GÖKSUNGUR, Y., 2008. Mikrobiyal Bir Polisakkarit: Pullulan. Akademik Gıda 6(3) 42 – 48.

DAVOLI, P. ve WEBER, R. W. S., 2002. Carotenoid pigments from the red mirror yeast, *Sporobolomyces roseus*. Mycologist, Volume 16, Issue 03, August, pp 102 – 108.

DAVOLI, P., MIERAU, V. ve WEBER, R. W. S., 2004. Carotenoids and fatty acids in red yeast *Sporobolomyces roseus* and *Rhodotorula glutinis*. Applied Biochemistry and Microbiology, 40(4), 392–397.

DE LIBERO, G., GOBER, H. J., KISTOWSKA, M., ANGMAN, L., JENÖ, P. ve MORI, L., 2003. Human T Cell Receptor γδ Cells Recognize Endogenous Mevalonate Metabolites in Tumor Cells. J. Exp. Med. The Rockefeller University Press, Volume 197, Number 2, January 20, 163–168.

DÖNMEZ, D., 2010. Gıdalarda Bozulma Etkeni Olan Bazı Fungusların *Debaryomyces hansenii* ile Biyokontrolü. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoteknoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, 21s.

DUERRE, J. A. ve BUCKLEY, P. J., 1965. Pigment production from tryptophan by an *Achromobacter* species. J Bacteriol. Dec, 90 (6):1686-91.

DUFOSSE, L., 2004. Pigments in Food, More than Colours. Université de Bretagne Occidentale Publ. Quimper, France.

DURÁN, M., PONEZI, A. N., FALJONI-ALARIO, A., TEIXEIRA, M. F., JUSTO G. Z. ve DURÁN N., 2012. Potential applications of violacein: a microbial pigment. Medicinal Chemistry Research 21.7: 1524-1532.

EASTERLING, E. R., FRENCH, W. T., HERNANDEZ, R. ve LICHA, M. 2009. The effect of glycerol as a sole and secondary substrate on the growth and fatty acid composition of *Rhodotorula glutinis.* Bioresource Technology, 100, 356–361.

EL-BANNA, A. A., EL-RAZEK, A. M. A. ve EL-MAHDY, A. R., 2012. Some Factors Affecting the Production of Carotenoids by *Rhodotorula glutinis* var. *glutinis*. Food and Nutrition Sciences, 3, 64-71.

EL-RHMAN EL-BANNA, A. A., EL-RAZEK, A. M. A. ve EL-MAHDY, A. R., 2012. Isolation, identification and screening of carotenoid-producing strains of *Rhodotorula glutinis*. Food and Nutrition Sciences, 3, 627-633.

ERDAL, P. ve ÖKMEN, G., 2013. Gıdalarda Kullanılan Mikrobiyal Kaynaklı Pigmentler. Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi 6 (2): 56-68, 2013.

ERGINKAYA, Z., SÖZÜBATMAZ, B., YURDAKUL, N. E. ve AKSAN, E., 2006. *Rhodotorula* spp.'den Ekstrakte Edilen Karotenoidlerin Antibakteriyel Etkisi. Türkiye 9. Gıda Kongresi; 24-26 Mayıs, Bolu.

FEOFILOVA, E. P., 2001. The Kingdom Fungi: Heterogeneity of Physiological and Biochemical Properties and Relationships with Plants, Animals, and Prokaryotes (Review)., Applied Biochemistry and Microbiology, Vol. 37, No. 2, pp. 124–1371.

FUHRMANN, H., VALLENTIN, G., SURMANN, P. ve KAISER, P., 2007. A small-scale method for quantitation of carotenoids in bacteria and yeasts. Journal of Microbiological Methods, Volume 70, Issue 1, July, 142–149.

GADRE, R. V. ve BHOSALE, P., 2001. Production of b-carotene by a *Rhodotorula glutinis* mutant in sea water medium. Bioresource Technology 76, 53±55.

GALAUP, P., SUTTHIWONG, N., LECLERCQ-PERLAT, M. N., VALLA, A., CARO, Y., FOUILLAUD, M., GUERARD, F. ve DUFOSSE, L., 2015. First isolation of *Brevibacterium* sp. pigments in the rind of an industrial red-smear-ripened soft cheese. International Journal of Dairy Technology 68.1: 144-147.

GURPREET, K. C. ve BALMEET, S. G., 2011. Production and Characterization of Microbial Carotenoids as an Alternative to Synthetic Colors: a Review. International Journal of Food, 14: 503–513.

GUYOMARC'H, F., BINET, A. ve DUFOSSE, L., 2000. Production of carotenoids by *Brevibacterium linens*: variation among strains, kinetic aspects and HPLC profiles. Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology 24.1: 64-70.

HERZ, S., WEBER, R. W., ANKE, H., MUCCI, A. ve DAVOLI, P., 2007. Intermediates in the oxidative pathway from torulene to torularhodin in the red yeasts *Cystofilobasidium infirmominiatum* and *C. capitatum* (Heterobasidiomycetes, Fungi). Phytochemistry 68, 2503–2511.

HOUBRAKEN, J., FRISVAD, J. C., SEIFERT, K. A., OVERY, D. P., TUTHILL, D. M., VALDEZ, J. G. ve SAMSON, R. A., 2012. New penicillin-producing *Penicillium* species and an overview of section Chrysogena, Persoonia. Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi 29:78

HOWARTH, S. ve DEDMAN, M. D., 1964. Pigmentation variants of *Pseudomonas aeruginosa*. Journal of bacteriology 88.2: 273-278.

HUANG, P. C., 1964. Recombination and complementation of albino mutants in Neurospora. Genetics 49: 453-469 March.

ICHIYAMA, S., SHIMOKATA, K. ve TSUKAMURA, M., 1989. Carotenoid Pigments of Genus *Rhodococcus*. Microbiology and immunology, 33.6:503-508.

IRAZUSTAA, V., NIETO-PENALVER, C. G., CABRAL, M. E., AMOROSO, M. J. ve DE FIGUEROA, L. I. C., 2013. Relationship among carotenoid production, copper bioremediation and oxidative stress in *Rhodotorula mucilaginosa* RCL-11. Process Biochemistry 48; 803–809.

JEEVARATNAM, K., LATHA, B. V., MURALI, H. S. ve MANJA, K. S., 2005. Influence of growth factors on carotenoid pigmentation of *Rhodotorula glutinis* DFR-PDY from natural source. Indian Journal of Biotechnology, Vol. 4, pp. 353-357.

JOHNSON, E. A. ve LEWIS, M. J., 1979. Astaxanthin formation by the yeast *Phaffia rhodozyma*. J Gen Microbiol, 115, 173-183.

JOHNSON, E. A., 2003. *Phaffia rhodozyma*: colorful odyssey. International Microbiology, 6.3: 169-174.

JOHNSON, E. A., VILLA, T. G., LEWIS, M. J. ve PHAFF, H. J., 1978. Simple method for the isolation of astaxanthin from the basidiomycetous yeast *Phaffia rhodozyma*. Applied and environmental microbiology, 35(6), 1155-1159.

JOSHI, V. K., ATTRI, D., BALA, A. ve BHUSHAN, S., 2003. Microbial pigments. Indian Journal of Biotechnology Vol 2, pp 362-369.

KAVAK, F., 2006. Making fountain pen ink from logwood leaves by extraction method, Gaziosmanpasa University Graduate School of Natural and Applied Science Department of Chemistry Masters Thesis, Tokat, Turkey.

KHANEJA, R., PEREZ-FONS, L., FAKHRY, S., BACCIGALUPI, L., STEIGER, S., TO, E., SANDMANN, G., DONG, T. C., RICCA, E., FRASER, P. D. ve CUTTING, S. M., 2010. Carotenoids found in *Bacillus*. Journal of applied microbiology 108.6: 1889-1902.

KIM, C., JUNG, H., KIM, J. H. ve SHIN, C. S., 2006. Effect of *Monascus* pigment derivatives on the electrophoretic mobility of bacteria, and the cell adsorption and antibacterial activities of pigments. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 47(2), 153-159.

KOMEMUSHI, S., SAKAKI, H., YOKOYAMA, H. ve FUJITA, T., 1994. Effect of barium and other metals on the growth of a d-lactic assimilating yeast *Rhodotorula glutinis* no. 21. J Antibact Antifung Agents;22:583–7.

LEE, H. S. ve CASTLE, W. S., 2001. Seasonal Changes of Carotenoid Pigments and Color in Hamlin, Earlygold, and Budd Blood Orange Juices. J. Agric. Food Chem. 49; 877-88.

LOPES DA SILVA, T., FEIJAO, D., ROSEIRO, J. C. ve REIS, A., 2011. Monitoring *Rhodotorula glutinis* CCMI 145 physiological response and oil production growing on xylose and glucose using multi-parameter flow cytometry. Bioresource Technology, 102, 2998–3006.

MALGALITH, P. Z., 1992. Pigment Microbiology, Chapman & Hall, London, 152s.

MALISORN, C. ve SUNTORNSUK, W., 2008. Optimization of β-carotene production by *Rhodotorula glutinis* DM28 in fermented radish brine, Bioresource Technology, Volume 99, Issue 7, May, Pages 2281-2287.

MAPARI, S. A. S., MEYER, A. S., THRANE, U. ve FRISVAD, J. C., 2009. Identification of potentially safe promising fungal cell factories for the production of polyketide natural food colorants using chemotaxonomic rationale. Microbial Cell Factories, 8:24.

MARCHAL, L., UNGUREANU, C., CHIRVASE, A. A. ve FOUCAULT, A., 2013. Centrifugal partition extraction, a new method for direct metabolites recovery from culture broth: Case study of torularhodin recovery from *Rhodotorula rubra*. Bioresource Technology, 132, 406-409.

MAROVA, I., CARNECKA, M., HALIENOVA, A., CERTIK, M., DVORAKOVA, T. ve HARONIKOVA, A., 2012. Use of several waste substrates for carotenoid-rich yeast biomass production. Journal of Environmental Management, 95, 338-342.

MARTIN, A. M., LU, C. ve PATEL, T. R., 1993. Growth Parameters for the Yeast *Rhodotorula rubra* Grown in Peat Extracts. Journal of Fermentation and Bioengineering, 76(4): 321-325.

MILLER, M. W., YONEYAMA, M. ve SONEDA, M., 1976. *Phaffia*, a new yeast genus in the Deuteromycotina (Blastomycetes). Int J Syst Evol Microbiol, April, 26: 286-291.

MOORE, M. M., BREEDVELD, M. W. ve AUTOR, A. P., 1989. The role of carotenoids in preventing oxidative damage in the pigmented yeast, *Rhodotorula mucilaginosa*. Archives of Biochemistry and Biophysics. Volume 270, Issue 2, 1 May, Pages 419–431.

MUKHERJEE, G. ve SINGH, S. K., 2011. Purification and characterization of a new red pigment from Monascus purpureus in submerged fermentation. Process Biochemistry, 46, 188–192.

NEIDIGH, J. W., DARWANTO, A., WILLIAMS, A. A., WALL, N. R. ve SOWERS, L. A., 2009. Cloning and characterization of *Rhodotorula glutinis* thymine hydroxylase. Chemical Research in Toxicology, 22, 885–893.

ÖKMEN, G. ve IŞIK, D., 2014. Doğal Pigment Adayı Streptomisetlerin Gelişimlerine Çevresel Faktörlerin Etkisi. Biyoloji Bilimleri Araştırma Dergisi 7 (1): 37-41.

ÖZDAMAR, K., 2011. Paket programlar ile istatiksel veri analizi. Kaan Kitabevi, Eskişehir, 535 s.

PACKER, L., 1992. Carotenoids Part A. Chemistry, Separation, Quantification and Antioxidation. Methods in Enzimology. Vol. 213, Academic Press, Inc.

PALANICHAMY, V., HUNDET, A., MITRA, B. ve REDDY, N., 2011. Optimization of cultivation parameters for growth and pigment production by *Streptomyces* spp. ısolated from marine sediment and rhizosphere soil. International Journal of Plant, Animal and Environmental Sciences, Volume-1, Issue-3.

PAPAPARASKEVAS, D., CHRISTAKOPOULOS, P., KCKOS, D. ve MACRIS, B. J., 1992. Optimizating production of extracellular lipase from *Rhodotorula glutinis.* Biotechnology Letters, 14(5), 397–402.

PARAJÓ, J. C., SANTOS, V. ve VÁZQUEZ, M., 1998. Optimization of carotenoid production by *Phaffia rhodozyma* cells grown on xylose. Process Biochemistry, Vol. 33, No. 2, pp. 181-187.

REED, G. ve NAGODAWITHANA, T. W., 1991. Yeast Technology. Van Nostrand Reinhold, New York, 466s.

ROADJNAKAMOLSON, M. ve SUNTORNSUK, W., 2010. Production of β-carotene-enriched rice bran using solid-state fermentation of *Rhodotorula glutinis*. Journal of Microbiology and Biotechnology, 20(3), 525–531.

RYMBAI, H., SHARMA, R. R. ve SRIVASTAV, M., 2011. Biocolorants and its implications in Health and Food Industry - A Review. Int.J. PharmTech Res., 3(4).

SAENGE, C., CHEIRSILP, B., SUKSAROGE, T. T. ve BOURTOOM, T., 2011. Potential use of oleaginous red yeast *Rhodotorula glutinis* for the bioconversion of crude glycerol from biodiesel plant to lipids and carotenoids. Process Biochemistry, 46, 210–218.

SAKAKI, H., NOCHIDE, H., KOMEMUSHI, S. ve MIKI, W., 2002. Effect of active oxygen species on the productivity of torularhodin by *Rhodotorula glutinis* No. 21. Journal of Bioscience and Bioengineering, Vol. 93, No. 3,338-340.

SAKAKI, H., NOCHIDE, H., NAKANISHI, T., MIKI, W., FUJITA, T. ve KOMEMUSHI, S., 1999. Effect of Culture Condition on the Biosynthesis of Caroteaoids in *Rhodotorula glutinis* No. 21. Abstracts of the Articles Printed in Seibutsu-kogaku Kaishi, Vol. 77, No. 2, 3.

SAMPAIO, J. P., 1999. Utilization of low molecular weight aromatic compounds by heterobasidiomycetous yeasts: taxonomic implications. Canadian Journal of Microbiology, 45(6): 491-512, 10.1139/w99-020.

SAMPAIO, J. S., 2011. *Rhodotorula* Harrison (1928). The Yeasts: A Taxonomic Study, Elsevier, London, Pages 1873-1927.

SEDMAK, J. J., WEERASINGHE, D. K. E. ve JOLLY, S. O., 1990. Extraction and quantitation of astaxanthin from *Phaffia rhodozyma*. Biotechnol. Tech. 4: 107-112.

SHEU, J. R., HSIAO, G., FONG, T. H., TZU, N. H., LIN, K. H. ve CHOU, D. S. 2004. A potent antioxidant, lycopene, affords neuroprotection against microglia activation and focal cerebral ischemia in rats. In Vivo, volume 18, Issue 3, May, Pages 351-356.

SHIVALKAR YADAV, K. ve PRABHA, R., 2014. Extraction of Pigments from *Rhodotorula* Species of Dairy Environment, Indian Journal of Science and Technology, Vol 7(12), 1973–1977.

SHIVALKAR YADAV, K., MANJUNATHA, H., RAMACHANDRA, B., ve PRABHA, R., 2014. Extraction of Pigments from the *Rhodotorula* species of Dairy Origin. National Conferecne on Microbial Technology for Sustainable Development.

SIMOVA, E. D., FRENGOVA, G. I. ve BESHKOVA, D. M., 2004. Synthesis of carotenoids by *Rhodotorula rubra* GED8 co-cultured with yogurt starter cultures in whey ultrafiltrate. Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology, 31, 115-121. sodium chloride on *Rhodotorula glutinis* metabolism. Mikrobiologiya. 53, 16-20.

SOLAIMAN, D., ASHBY, R. ve CROCKER, N. V., 2015. High-Titer Production and Strong Antimicrobial Activity of Sophorolipids from *Rhodotorula bogoriensis*. Biotechnol. Prog., 2015, Vol. 00, No. 00.

SOMASHEKAR, D. ve JOSEPH, R., 2000. Inverse relationship between carotenoid and lipid formation in *Rhodotorula gracilis* according to the C/N ratio of the growth medium. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 16.5: 491-493.

SÖZÜBATMAZ, B., 2005. *Rhodotorulum glutinis*'den ekstrakte edilen karotenoidlerin antimikrobiyel etkisi. Çukurova Üniversitesi Fen bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi.

TAN, T., ZHANG, X. ve ZHANG, Z., 2014. Lipid and carotenoid production by *Rhodotorula glutinis* under irradiation/high-temperature and dark/low-temperature cultivation. Bioresource Technology, 157, 149-153.

TAŞKIN, M., 2012. Co-production of tannase and pectinase by free and immobilized cells of the yeast *Rhodotorula glutinis* MP-10 isolated from tann-rich persimmon (Diospyros kaki L.) fruits. Bioprocess and Biosystems Engineering, 36(2), 165–172.

TAŞKIN, M., ŞİŞMAN, T., ERDAL, S. ve KURBANOĞLU, E. B., 2011. Use of waste chicken feathers as pepone for production of carotenoids in submerged culture of *Rhodotorula glutinis* MT-5. European Food Research and Technology, 233, 657–665.

THORNBURG, L. D., LAI, M. T., WISHNOK, J. S. ve STUBBE, J., 1993. A non-heme iron proteins with heme tendencies: An investigation of the substrate specificity of thymine hydroxylase. Biochemistry, 32, 14023–14033.

TOKATLI, M. ve ÖZÇELİK, F., 2008. Mikrobiyal Kaynaklardan Gıda Renklendiricisi Üretimi. 10. Gıda Kongresi, 1155s., Erzurum.

TÜRKKAN, E. ve ERGINKAYA, Z., 2008. Antibacterial effects against *Staphylococcus aureus* of carotenoids extracted from *Rhodotorula glutinis*. Turkey 10. Food Congress; 21-23 May, Erzurum.

TÜRKKAN, E., 2007. *Rhodotorula glutinis*'den elde edilen karotenoidlerin bazı gıda patojenleri üzerine antibakteriyal etkisi. Çukurova Üniversitesi Fen bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi.

UNGUREANU, C., FERDES, M., CHIRVASE, A. A. ve MOCANU, E., 2011. Method for Torularhodin Separation and Analysis in the Yeast *Rhodotorula Rubra* Aerobically Cultivated in Lab Bioreactor, Icheap-10: 10th Int. Conf. on Chemical and Process Engineering, Pts.

UNGUREANU, C., MARCHAL, L., CHIRVASE, A. A. ve FOUCAULT, A., 2013. Centrifugal partition extraction, a new method for direct metabolites recovery from culture broth: Case study of torularhodin recovery from *Rhodotorula rubra*. Bioresource technology, 132, 406-409., 2013.

VANDAMME, E. J., 1992. Production of Vitamins, Coenzymes and Related Biochemicals by Biotechnologycal Processes. Journal of Chemical Technical Biotechnology, 53, 313-327.

VEGA, P. J., BALABAN, M. O., O-KEEFE, S. F. ve CORNELL, J. A., 1996. Supercritical Carbondioxide Extraction Efficiency for Carotenes from Carrots by RSM. J. of Food Sci., 61(4):757-765.

VILLAR, J. M., VELASCO, C. G., ve DELGADO, J. D. J., 2012. Fungemia due to *Rhodotorula mucilaginosa* in an immunocompetent, critically ill patient. Journal of Infection and Chemotherapy, 18(4), 581-583.

WIEBE, M. G., ANDERSEN, D. ve RENSHAW, J. C., 2003. Rhodotorulic acid production by *Rhodotorula mucilaginosa*. Mycological Research, Volume 107, Issue 8, Pages 949–956.

WISSGOTT, U. ve BORTLIK, K., 1996. Prospects for new natural food colorants. Trends Food Sci. Technol., 7:298–302.

YADAV, S., MANJUNATHA, K. H., RAMACHANDRA, B., SUCHITRA, N. ve PRABHA, R., 2014. Characterization of pigment producing *Rhodotorula* from dairy environmental samples. Asian Journal of Dairying & Foods Research, 33(1), 1-4.

YILMAZ, İ., 2010. Karotenoidler. İnönü Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Farmakoloji Anabilim Dalı, Malatya.

YURKOV, A. M., VUSTIN, M. M., TYAGLOV, B. V., MAKSIMOVA, I. A. ve SINEOKIY, S. P., 2008. Pigmented basidiomycetous yeasts are a promising soruce of carotenoids and ubiquinone Q10. Microbiology, 77(1), 1-6.

ZALASHKO, M.V., SALOKHINA, G.A. ve SHAMGINA, T.V., 1984. Effect of

ZHANG, J., SAERENS, K. M. J., BOGAERT I. N. A. V. ve SOETAERT, W., 2011. Vegetable oil enhances sophorolipid production by Rhodotorula bogoriensis. Biotechnol Lett 33:2417–2423.

ZHAO, S. ve CHI Z., 2003. A New Pullulan-Producing Yeast and Medium Optimization for Its Exopolysaccharide Production. Journal of Ocean University of Qingdao (Oceanic and Coastal Sea Research) ISSN 1671-2463, Vol.2, NoA, pp.53-57.

ZHOU, J., CHEN, M., CHEN, H., PAN, W. ve LIAO, W., 2014. *Rhodotorula minuta* as onychomycosis agent in a Chinese patient: first report and literature review. Mycoses, 57, 191–19.

ZIEGLER, R. G., 1991. Vegetables, Fruits and Carotenoids and the Risk of Cancer. Am. J. Clin. Nutr., 53: 251-259s.

ZOZ, L., CARVALHO, J. C., SOCCOL, V. T., CASAGRANDE, T. C. ve CARDOSO, L., 2015. Torularhodin and Torulene: Bioproduction, Properties and Prospective Applications in Food and Cosmetics - a Review. Brazilian Archives of Biology and Technology, Vol.58, n.2: pp. 278-288.

ÖZGEÇMİŞ

16/08/1988 yılında Adana'da doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini Adana'da tamamladı. 2007 yılında başladığı Çukurova Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü'nden 2012 yılında mezun oldu. Aynı yıl Gıda Mühendisliği Anabilim Dalında yüksek lisans öğretimine başladı.