

## Çeşitli Tarımsal Atık ve Yan Ürünlerin Katı Kültür Fermantasyonu ile Laktik Asit Üretiminde Kullanılabilirliklerinin İncelenmesi<sup>1</sup>

Sayit SARGIN<sup>2</sup>

Yekta GÖKSUNGUR<sup>3</sup>

**Öz:** Bu çalışmada, *Rhizopus oryzae*-NRL 395 suşu kullanılarak katı kültür fermantasyonu yöntemi ile laktik asit üretimi yapılmıştır. Değişik tarımsal atıklar ve yan ürünler karbon kaynağı ya da destek materyali olarak kullanılmış ve laktik asit üretim verimleri belirlenmiştir. Bu substratlar içerisinde glukoz-buğday kepeği karışımında en yüksek laktik asit verimi elde edilmiştir. Optimum koşullarda üretim ortamında ağırlıkça %23 glukoz konsantrasyonu, %50 nem ve %15 (hacim/ağırlık) aşılama oranı ile üretimin 5. gününde elde edilen maksimum laktik asit miktarı 88.12±2.44 mg/g glukozdur.

**Anahtar kelimeler:** Laktik asit, katı kültür fermantasyonu, *Rhizopus oryzae*, tarımsal atıklar.

### Examination of Using Different Agricultural Wastes and By-Products for Production of Lactic Acid by Solid State Fermentation

**Abstract:** In this study, *Rhizopus oryzae* NRL 395 strain was used for the production of lactic acid by solid state fermentation. Various agricultural wastes and by-products were used either as a carbon source or as a support material and they were evaluated in terms of their lactic acid yield. The maximum lactic acid yield in these substrates was obtained in glucose-wheat bran mixture. Under optimum conditions, with the production medium containing 23 % (w/w) glucose concentration, 50 % (v/w) moisture content and 15 % (v/w) inoculation ratio the maximum amount of lactic acid obtained was 88.12±2.44 mg/g mg lactic acid/g glucose on the 5th day of cultivation.

**Key words:** Lactic acid, solid state fermentation, *Rhizopus oryzae*, agricultural wastes.

<sup>1</sup> Bu çalışma E.Ü Araştırma Fonu tarafından desteklenip tamamlanan 2004/MÜH/004 no'lu projeden özetlenmiştir.

<sup>2</sup> Yrd. Doç. Dr., Ege Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Biyomühendislik Bölümü, Bornova-İzmir, e-posta: sayit.sargin@ege.edu.tr

<sup>3</sup> Doç. Dr., Ege Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü, Bornova-İzmir.

## Giriş

Laktik asit, ekşi tatta, kokusuz, zayıf bir organik asittir ve eczacılık, kimya, plastik, tekstil ve gıda alanlarında yaygın olarak kullanılmaktadır. Özellikle gıda sanayinde kokusuz olması, hafif ekşilikte olması ve kullanıldığı gıdanın lezzetini değiştirmemesi gibi sebeplerle asitliği düzenleyici ve koruyucu olarak geniş bir kullanım alanına sahiptir. Son yıllarda çevre duyarlılığının artması nedeniyle biyolojik olarak parçalanabilen materyallerin üretimi önem kazanmıştır. Biyolojik olarak parçalanabilir plastiğin (polilaktikasit) başlangıç maddesini oluşturan laktik asitin düşük maliyetler ile üretimi bu polimerin daha yaygın olarak kullanımına da imkan sağlayacağı belirtilmektedir (Bulut ve ark. 2004; Vaidya ve ark. 2005).

Dünyada laktik asit tüketimi 2002 yılı verilerine göre 380000 ton/yıl olarak gerçekleşmiştir. Global pazar payı ise 700 milyon \$ dır. Laktik asidin yaklaşık yarısı fermantasyon yolu ile, diğer yarısı ise kimyasal sentez yolu ile elde edilmektedir. Günümüzde sanayide kullanılan ve endüstriyel olarak önem taşıyan laktik asit bakterilerinin büyük kısmı homofermentatif *Lactobacillus* cinsindedir. Ancak *Rhizopus* cinsi bazı küfler, özellikle *Rhizopus oryzae* L(+)-laktik asit üretiminde kullanılabilir (Vaidya ve ark. 2005).

Ülkemizde domates konservesi, margarinler, et ürünleri, reçel, jöle ve marmelatlar, şekerlemeler, turşu ve zeytin salamuraları, deniz ürünleri ve bira sanayinde kullanılan laktik asitin tümü ithalatta karşılanmaktadır (Göksungur,1998).

Diğer tüm mikrobiyal metabolitlerin üretiminde başlıca temel unsur ve mühendislik problemi, mümkün olan en düşük maliyetle en yüksek verimi elde edebilmektir. Bu amaçla laktik asit üretiminde de farklı alternatiflerin denenmesi önem taşımaktadır. Katı kültür fermantasyonu, kullanılan substratların ucuz olması, üretim ekipmanlarının kompleks olmaması, düşük nem içeriği nedeniyle bakteriyel kontaminasyon riskinin az olması ve üretim sonrası ayırma ve saflaştırma işlemlerinin maliyetinin düşük olmasına bağlı çeşitli ekonomik ve mühendislik üstünlükleri nedeni ile çeşitli üretim çalışmalarında son yıllarda önem kazanmıştır (Raimbault, 1998; Pandey ve ark. 2001; Sargın ve Öngen 2004).

Bu çalışmada, *Rhizopus oryzae* NRLL -395 suşu kullanılarak katı kültür fermantasyonu ile laktik asit üretiminde çeşitli tarımsal atık ve yan ürünler ve bu ürünlerin çeşitli substratlar ile karışımları karşılaştırılmış ve uygun substrat seçimi hedeflenmiştir. Ayrıca

başlangıç nem oranı, aşılama oranı gibi üretim parametrelerinin optimum değerlerinin elde edilmesi de amaçlanmıştır.

## **Materyal ve Yöntem**

### **Materyal**

Laktik asit üretimi için *Rhizopus oryzae* NRLL-395 suşu kullanılmıştır. Fungal kültür, Patates Dekstroz Agar (PDA) (Oxoid Ltd., England) içeren eğik agarlarda +4 °C'de stok kültür olarak depolanmıştır. Üretimlerde kullanılan buğday kepeği Altınbaşak Un A.Ş, elma kabukları Bornova'da faaliyet gösteren lokal marketten, buğday ruşeym yağı ekstraksiyonu sonrasında geriye kalan buğday ruşeym küspesi, Aydın Söke'de bulunan Setfors Ltd. işletmesinden, melas, İzmir Kemalpaşa'da faaliyet gösteren Pakmaya A.Ş'den, peynir altı suyu tozu, Pınar Süt A.Ş. İzmir Pınarbaşı tesisinden ve fındık kabukları Gıda Mühendisliği Bölümü Biyoteknoloji laboratuvarlarından temin edilmiştir.

### **Yöntem**

#### **Substratlara Uygulanan Ön İşlemler**

Üretimlerde kullanılan, fındık kabukları Moulinex marka değirmenden geçirilerek boyut küçültme işlemine tabi tutulmuştur. Elma kabukları ise 80 °C'de 1 gün süre ile kurutulduktan sonra değirmenden geçirilerek boyutları küçültülmüştür. Buğday ruşeymi ve elma kabuklarının toplam şeker içeriği fenol sülfürik asit metodu ile belirlenmiştir (Anonymous, 1990).

#### **Üretim Ortamının Hazırlanması**

Tüm üretimlerde 500 ml hacimli erlenler kullanılmıştır. Buğday kepeği-nişasta, buğday kepeği-peynir altı suyu tozu, buğday kepeği-glukoz, buğday kepeği-melas, fındık kabukları-buğday ruşeym küspesi ve buğday kepeği-elma kabuğu substrat karışımları, toplam ağırlıkları 10 g olacak şekilde tartılmışlar ve Çizelge 1'de verilen besin elementleri ile nemlendirilerek erlenlerin içerisine aktarılmışlardır. Nemlendirme sıvılarının pH ayarlamalarında 1 N HCl ve 1 N NaOH çözeltileri kullanılmıştır. Erlenler pamuk tıpa ile kapatıldıktan sonra alüminyum folyo ile kaplanmış ve 121°C'de 30 dakika süre ile sterilize edilmişlerdir. Sterilizasyon bitiminde erlenler oda sıcaklığında bekletilerek soğutulmuş ve aşılama işlemine hazır hale getirilmişlerdir.

Çizelge 1. Laktik asit üretim ortamında kullanılan nemlendirme sıvısı içerisinde yer alan besin elementleri.

Besin elementi	Miktar (g/l)
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	9.0
MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	0.1
ZnSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	0.03
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	1.7

### Aşılama

*Rhizopus oryzae* NRLL -395 PDA içeren kültür şişelerinde 28 °C 'de 7 gün süre ile inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresi sonunda agar yüzeylerine 10 ml % 0.2 (hacim/hacim) steril Tween 80 eklenmiştir. Sporlar öze yardımıyla agar yüzeyinden kazınmış ve steril bir erlenmayer içerisinde spor süspansiyonları toplanmıştır. Üretim ortamı içeren erlenmayerlerin her birine aseptik koşullarda bu spor süspansiyonundan % 10 (hacim/ağırlık) oranında transfer edilmiştir.

### Üretim Koşulları ve Örnek Alma

İnokulasyon işlemi tamamlanan erlenmayerler 28 °C'de Sanyo marka inkübatörde üretime alınmışlardır. Her bir üretim için 3 tekrar yapılmıştır. Fermantasyon, her gün 1 adet erlenin açılarak gerekli analizlerin yapılması şeklinde takip edilmiştir.

### Üretim Sonrası İşlemler

#### Ekstraksiyon

Üretim sırasında alınan her 1 kısım örneğe 5 kısım % 0.2 (hacim/hacim) Tween 80 içeren çözelti eklenmiş ve erlenler 25 °C'de 1 saat süre ile bekletilmişlerdir. Bu süre içerisinde her 15 dakika süre ile cam baget yardımıyla karıştırılmışlardır. Daha sonra ortam, bir tülbent bezinden filtre edilmiş ve sıvı kısım Hettich marka soğutmalı santrifüjde +4°C'de 10000 devir/dakika dönme hızında 15 dakika süre ile santrifüjlenmişlerdir. İşlem sonrasında elde edilen supernatantlar (laktik asit ekstraktları) cam tüplere aktarılmış ve -18 °C'de depolanmışlardır.

### Laktik Asit Tayini

Laktik asit tayininde Kimberley ve Taylor (1996) tarafından belirtilen spektrofotometrik yöntem kullanılmıştır.

Tüm denemeler 3 tekrar olarak yapılmıştır. Şekil ve çizelgelerde verilen değerlerde standart sapma % 10'un altında olan ortalamalardır.

### Araştırma Bulguları

Katı kültür fermantasyonu ile laktik asit üretiminde çeşitli karbon kaynakları ve tarımsal ürünler kullanılmıştır. Yapılan ön denemelerde yalnızca buğday kepeği kullanıldığında laktik asit üretimi olmamıştır. Ancak fungal üreme için uygun partikül boyutu sağlaması sebebi ile diğer karbon kaynaklarına dayanak materyali olarak kullanılmıştır.

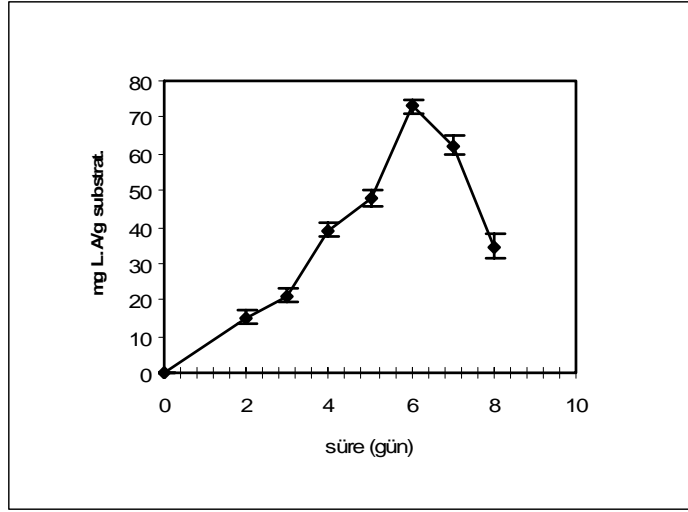
Buğday ruşeym küspesinin kullanıldığı ön denemelerde ise bu substratın tek başına kullanımının uygun olmadığı görülmüştür. Buğday ruşeymi nemlendirme sıvısı ile nemlendirildiğinde topaklaşma eğilimi göstermiş ve yapışkan bir özellik kazanmıştır. Buğday ruşeymi küspesinin direkt olarak kullanılması durumunda tekrarlanabilir sonuç elde etmek mümkün olmamıştır. Buğday kepeği ile karıştırıldığında topaklaşma sorunu önemli derecede artmıştır. Bu nedenle daha sert bir destek materyali ile birlikte kullanılması gerekliliği ortaya çıkmıştır. Bu sorunu aşabilmek amacıyla buğday ruşeym küspesi boyutları küçültülmüş fındık kabukları ile karışım halinde laktik asit üretiminde kullanılmıştır. Fındık kabukları ile desteklenmiş bu üretimlerde tekrarlanabilir sonuçlar elde edilebilmiştir. Tüm üretimler % 65 başlangıç nem oranı, başlangıç pH değeri 5.5 ve 28°C’ de yapılmıştır. Kullanılan substratlar: buğday kepeği-nişasta, buğday kepeği-peynir altı suyu tozu, buğday kepeği-glukoz, buğday kepeği-melas ve fındık kabukları-buğday ruşeym küspesi ve buğday kepeği-elma kabuğu karışımlarıdır. Bu substratlar, üretim ortamlarına %3.5 toplam şeker içerecek şekilde eklenmişler ve zamana karşı laktik asit üretiminde kullanılmışlardır.

Denemeye alınan tüm substratlar ve elde edilen maksimum laktik asit verimleri Çizelge 2’de sunulmuştur.

Çizelge 2. Kullanılan substratların laktik asit verimleri.

Substrat	Verim (mg laktik asit/g substrat)	Üretim süresi
Buğday kepeği+ nişasta	42.82±2.43	5. gün
Buğday kepeği+ Peynir altı suyu tozu	68.35±2.86	5. gün
Buğday kepeği+ Glukoz	73.18±2.84	6. gün
Buğday kepeği+ Melas	38.80±2.67	6. gün
Fındık kabukları+Buğday ruşeym küspesi	36.40±2.98	6. gün
Buğday kepeği+ Elma kabuğu	67.8±2.22	8.gün

Çizelge 2’ de görüldüğü gibi kullanılan substratlar içerisinde en yüksek laktik asit verimi glukoz bulunan üretim ortamında elde edilmiştir. Glukozu, sırasıyla peynir altı suyu tozu, elma kabuğu, nişasta, melas ve buğday ruşeym küspesi izlemektedir. Buğday kepeği-glukoz karışımı ile yapılan üretimde zamana karşı laktik asit verimi Şekil 1’de sunulmuştur. Elde edilen bu sonuçlara göre peynir altı suyu ve elma kabuklarının kullanıldığı üretimlerde elde edilen laktik asit miktarları glukoz kullanılan üretime yakın değerlerde olsa da elma kabukları ile maksimum verimin 8. günde elde edilmiş olması ve peynir altı suyu tozunun artan konsantrasyonlarının üretim ortamında topaklaşma sorununa yol açması nedeniyle optimum koşulların belirlenmesi denemelerine glukoz kullanılarak devam edilmiştir.

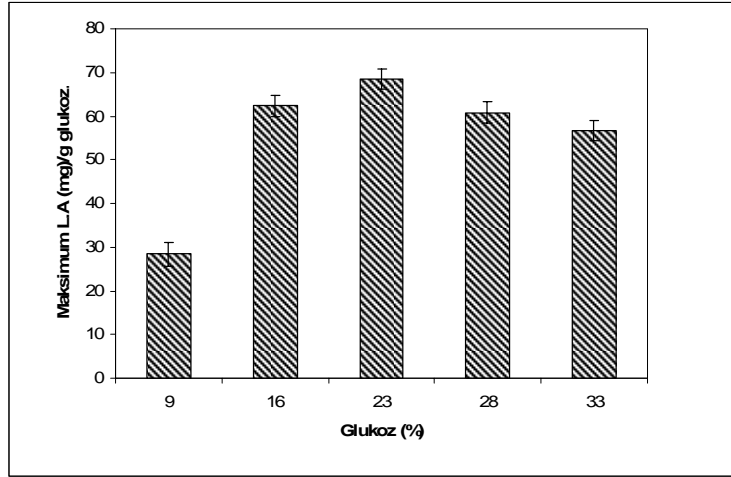


Şekil 1. Buğday kepeği-glukoz karışımı ile maksimum laktik asit (LA) verimlerinin zamana karşı değişimi

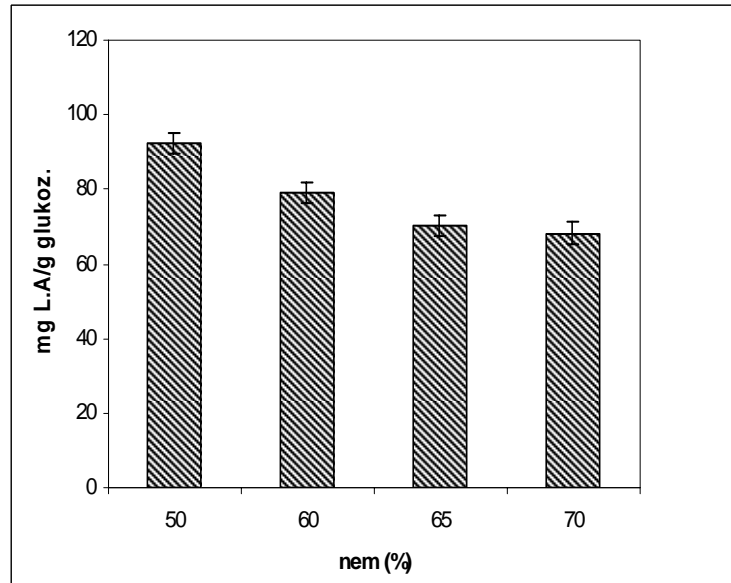
Değişik glukoz konsantrasyonlarının laktik asit verimlerine etkisini incelemek üzere 10 g buğday kepeği bulunan ortama sırasıyla 1, 2, 3, 4, 5 g glukoz ilavesi ile üretim ortamları hazırlanmış ve zamana karşı laktik asit verimleri incelenmiştir (Şekil 2). Üretim ortamında yer alan bu glukoz miktarları ağırlıkça sırasıyla % 9, % 16, % 23, % 28 ve % 33 glukoz konsantrasyonlarına karşılık gelmektedir.

Bu üretimler sonucunda % 9 ve % 33 glukoz içeren buğday kepekli karışımlarda maksimum laktik asit verimleri 5. günde elde edilirken diğer konsantrasyonlarda üretimin 6. gününde elde edilmiştir. Maksimum verim % 23 glukoz konsantrasyonunda elde edilmiştir. Bu sebeple denemelere bu konsantrasyon kullanılarak devam edilmiştir.

Denemelerin substrat seçimi ve glukoz konsantrasyonlarının incelendiği aşamalarında başlangıç nem oranı % 65 olarak ayarlanmıştır. Bu aşama ise bu nem oranının altında ve üstündeki nem oranlarının üretime etkisini incelemek amacıyla sırasıyla nemlendirme sıvısının miktarı ayarlanarak %50, % 60, % 70 başlangıç nem oranında glukoz içeren üretim ortamları hazırlanmış ve laktik asit üretim verimleri incelenmiştir (Şekil 3).



Şekil 2. Değişik glukoz konsantrasyonlarında elde edilen maksimum laktik asit (LA) verimleri.



Şekil 3. Farklı başlangıç nem oranlarının laktik asit üretimine etkisi.

Farklı başlangıç nem oranlarıyla yapılan üretimler sonucunda %50 nem oranında diğer nem oranlarına göre laktik asit verimi daha yüksek olarak elde edilmiştir. % 65-70 nem oranlarında ise laktik asit üretiminde düşüş gözlenmiştir.

Üretim denemelerinde %10 olarak sabit tutulan aşılama oranının değişiminin laktik asit verimi üzerine etkisi incelenmiştir. (Çizelge 3). %5, %10 ve %15 aşılama oranlarının uygulandığı üretimlerde, laktik asit veriminde bir değişiklik olmadığı, maksimum laktik asit miktarının %5 ve %10 aşılama oranlarında 6.günde, %15 aşılama oranında ise 5. günde elde edildiği belirlenmiştir.

Çizelge 3. Farklı aşılama oranlarının laktik asit üretimine etkisi.

İnokulasyon oranı (%)	Laktik asit verimi (mg/g glukoz)
5	85.12±2.12
10	90.45±2.34
15	88.12±2.44

### Tartışma ve Sonuç

Buğday kepeği, katı kültür fermantasyonlarında çok yaygın olarak kullanılan bir substrattır (Moo-Young, ve ark. 1983; Murthy ve ark. 1993; Raimbault, 1998; Mitchell ve Berovic 1998). Bunun nedeni, bu substratın hem içerik hem de nem tutma kapasitesi ve partikül dağılımı gibi fiziksel özellikler açısından da oldukça elverişli bir substrat ve dayanak materyali olmasıdır (Pandey, 1991). Bu çalışmada, laktik asit üretimi için yapılan ön denemelerde yalnızca buğday kepeği kullanıldığında laktik asit üretimi olmamasına rağmen, yukarıda sayılan fiziksel özellikleri sebebi ile diğer karbon kaynaklarına dayanak materyali olarak kullanılmıştır.

Yapılan tüm üretimlerde elde edilen laktik asit verimi derin kültürde elde edilen verilerle karşılaştırıldığında oldukça düşük bir seviyede olduğu görülmektedir. Derin kültürde yapılan çalışmalarda laktik asit verimleri kullanılan şeker üzerinden %70-90 arasında değişmektedir (Bulut ve ark. 2004; Ruengruglikit ve Hang 2003; Bai ve ark. 2003; Park ve Okuda, 2004). Oysa çalışmamızda maksimum dönüşüm verimi % 9.2 oranındadır. Dönüşüm veriminin düşük seviyede gerçekleştirilmesinin sebepleri arasında substratın ve mikroorganizmanın özellikleri başlıca önemli faktörlerdir. Katı kültür fermantasyonu ile yapılan üretimlere genel olarak bakıldığında,



kullanılan substratlarda üretimi direkt olarak etkileyen çeşitli özelliklerin bulunması gerektiği görülür. Bunlardan bir kısmı substratın maliyeti ve bulunabilirliği gibi önemli ekonomik özelliklerdir. Bu özelliklerin yanı sıra substratın çeşitli fiziksel ve yapısal özelliklerinin de bulunması gerekmektedir (Pandey ve ark. 2001). Katı kültür fermantasyonunda kullanılan ideal bir substratın, mikrobiyal kültür için besin elementlerini sağlamanın yanında aynı zamanda mikroorganizmanın bu besin elementlerine kolay ulaşabileceği bir fiziksel yapıda olması önem taşımaktadır. Buna uygun olmayan ya da kısmen uygun olan substratlar için çeşitli mekanik ve kimyasal ön işlemler uygulanması gerekmektedir. Ancak bu tür ön işlemlerin üretim maliyetlerini de arttıracığı göz önüne alınmalıdır (Pérez-Guerra ve ark. 2003).

Mikrobiyal üreme ve metabolit üretimi için önem taşıyan çok çeşitli faktörler vardır. Ancak bunlar içerisinde en önemlisi kullanılan substratın partikül boyutu ve nem tutma özelliğidir. Substrat partikül boyutlarının küçük olması yüksek yüzey alanı sağlması nedeniyle istenen bir durumdur. Ancak çok küçük substrat boyutu havalandırma ve mikrobiyal solunum için uygun olmamakta ve düşük düzeyde bir üreme görülmektedir. Substrat partiküllerinin büyük olması durumunda ise yüzey alanı azalacağından buna bağlı olarak mikrobiyal faaliyet alanı da azalmış olmaktadır. Ancak büyük partikül boyutu uygun partiküller arası alan yaratması nedeniyle solunum ve havalandırma açısından elverişli olmaktadır. Dolayısıyla partikül boyutunun üretimlerdeki rolü önemlidir (Desgranges ve Durand 1990; Mitchell ve Berovic, 1998; Pérez-Guerra, ve ark. 2003).

Partikül boyutu yönünden bakıldığında, buğday ruşeym küspesi katı kültür fermantasyonlarının en yaygın substratı olan buğday kepeği ile eşdeğer bir partikül boyutuna sahiptir. Ancak nemlendirme sonrasında buğday kepeği nemlendirmede kullanılan sıvıyı absorplarken, buğday ruşeym küspesi topaklaşma eğilimi göstermektedir. Bu durum yukarıda belirtildiği gibi büyük partiküllerin oluşmasına ve yetersiz üremeye sebep olmaktadır. Yapılan üretimlerde bu sorunu aşmak üzere buğday ruşeymi fındık kabukları ile birlikte kullanılarak partiküller arası alan yaratılmaya çalışılmıştır. Ancak substratın nem tutma kapasitesinde homojenite olmaması nedeniyle yapılan tüm üretimlerde, içerdiği besin maddeleri ile orantılı bir verim elde edilememiştir. Bu sorun ölçek büyüdüğünde daha önemli boyutlara ulaşmaktadır. Topaklaşma eğiliminin olduğu bu tür substratlarda üretim sırasında çok ciddi boyutlarda kütle ve ısı transfer sorunları yaşanmaktadır (Murthy ve ark. 1993; Mitchell ve ark. 2000). Benzer sorunlar melas ve nişasta ve

peyniraltı suyu tozu kullanılan üretimlerde de yaşanmıştır. Bu substratların kullanıldığı üretimlerde de topaklaşma eğilimi gözlenmiştir.

Glukozun kullanıldığı üretimlerde en yüksek oranda laktik asit elde edilmesinin gerekçesinin, mikroorganizmanın bu substratı diğerlerine oranla daha kolay ulaşılabilir bir fiziksel ortamda bulması olduğu sonucuna varılmıştır. Üretim ortamında buğday kepeği ile karışım olarak hazırlanan glukoz oranı, 10 g buğday kepeği başına maksimum 5 g glukoz kullanılarak yapılmıştır. Yüzdesel olarak % 33 lük bir orana karşılık gelen bu substrat miktarını artırmanın fiziksel olarak mümkün olmadığı belirlenmiştir.

Katı kültür fermantasyonunda bir diğer önemli parametre başlangıç nemidir. Genel olarak üretimlerde ortam nemi %30-75 aralığında değişmektedir (Pérez-Guerra, ve ark., 2003). Çalışmamızda da % 50-70 nem aralığı laktik asit üretimi için denenmiştir. % 50-60 nem oranı aralığında laktik asit veriminin diğer nem oranlarına kıyasla daha yüksek olduğu görülmüştür. Bu durum üretim açısından önem taşımaktadır. Düşük nem oranlarında bakteriyel kontaminasyon riski oldukça azalmaktadır (Mitchell ve Berovic, 1998). Aşılama oranı mikrobiyal üretimlerde adaptasyon safhasını kısaltarak verimliliği artırmak ve kontaminasyon riskini azaltmak açısından önem taşımaktadır. Üretimlerimizde artan aşılama oranı ile üretim süresi 1 gün kısalmıştır. Bu açıdan %15 aşılama oranı üretim açısından uygun aşılama oranıdır. Ancak üretimlerde ölçek büyüdükçe yüksek aşılama oranlarının getireceği ek maliyetler göz önüne alınmalıdır.

Tüm sonuçlar değerlendirildiğinde yukarıda belirtilen kısıtlamalar nedeniyle laktik asit üretimi düşük bir seviyede elde edilmiştir. Bu sorunların aşılabilmesi ve bu çalışma kapsamında denemeye alınan ve özellikle zengin içeriği ile önem taşıdığı düşünülen buğday ruşeym küspesinin yarı-katı kültürde laktik asit üretimi için denenmesi bir alternatif olabilir.

Bu çalışma, katı kültür fermantasyonu ile laktik asit üretiminde çeşitli sorunların gözlenmesi açısından faydalı olmuş ve önemli ölçüde veri sağlanmıştır. Bu verilerin bundan sonra yapılması planlanan yarı katı kültür fermantasyon denemelerine de ışık tutacağı düşünülmektedir.

### **Kaynaklar**

- Anonymous, 1990. Official Methods Of Analysis Of The Association Of Official Analytical Chemists edit. W.Horwitz 12 th edition, Washington D.C., USA.
- Bai, D-M., Jia, M-Z., Zhao, X.M., Ban, R., Shen, F., Li, X-G., Xu, S-M. 2003. L-(+)-lactic acid production by pellet-form *Rhizopus oryzae* R 1021 in a stirred tank reactor. Chemical Engineering Science. 58, 785-791.

- Bulut, S., Elibol, M., Ozer, D. 2004. Effect of different sources on L(+)-lactic acid production by *Rhizopus oryzae*. *Biochem. Eng J.* 21, 33–37.
- Desgranges, C., and Durand, A. 1990. Effect of pCO<sub>2</sub> on growth, conidiation and enzyme production in solid state culture on *Aspergillus niger* and *Trichoderma viride* TS, *Enzyme and Microbial Technology*, 12: 546-551.
- Göksungur, Y. 1998. Melastan laktik asit üretiminde farklı üretim tekniklerinin kullanılabilirliği ve ortam şartlarının optimizasyonu, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Bornova, İzmir, 72 s.
- Kimberley, A. C., Taylor, C. A. 1996. A simple calorimetric assay for muramic acid and lactic acid. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 56, 49-58.
- Mitchell, D. and Berovic, M. 1998. Solid State Fermentations. *Bioprocess Engineering Course*, Edt M Berovic, National Institute of Chemistry, Slovenia, 128-167.
- Mitchell, D., Krieger, N., Stuart, D. and Pandey, A. 2000. New developments in solid state fermentation II. Rational approaches to design, operation and scale-up of bioreactors, *Process Biochemistry*, 35 : 1211-1215.
- Moo-Young, M., Moreira, A.R. and Tengerdy, R.P. 1983. Heat and mass transfer effects in solid state fermentations, *Applied and Environmental Microbiology*, 25: 929-938.
- Murthy, M.V., Karanth, N.G. and Raghava, K.S. 1993. Biochemical engineering aspects of solid state fermentation. *Advanced and Applied Microbiology*, 38: 99-147.
- Pandey, A. 1991. Effect of particle size of substrate on enzyme production in solid state fermentation, *Bioresource Technology*, 37: 169-172.
- Pandey, A., Sccol, C., Leon, J.A. and Nigam, P. 2001. *Solid State Fermentation In Biotechnology: Fundamentals And Applications*, Asiatech Publishers, Inc, New Delhi, pages 221.
- Park, E.Y., and Okuda, N. 2004. Bioconversion of waste office paper to L(+)-lactic acid by the filamentous fungus *Rhizopus oryzae*. *Bioresource Technology*, 93 77-83
- Pérez-Guerra, N., Torrado-Agrasar, A., López-Macias, C., Pastrana, L. 2003. Main characteristics and applications of solid substrate fermentation. *Electron. J. Environ. Agric. Food Chem.*, 2 (3), 343-350.
- Raimbault, M. 1998. General and microbiological aspects of solid substrate fermentation, *Electronic Journal of Biotechnology*, 1 (3) : 1-16.
- Ruengruglikit, C., Hang, Y. D. 2003. L(+) lactic acid production from corncobs by *Rhizophus oryzae* NRLL-395. *Lebensm-Wiss.u Technol.*, 36, 573-575.
- Sargin, S. ve Öngen, G. 2003. Kanatlı yemi katkıları olarak kullanılan ksilanaz enziminin katı kültür fermantasyon yöntemi ile üretiminde ölçek büyütme çalışmaları, *E.Ü Ziraat Fakültesi Dergisi*, 40 (3) 145-152.
- Vaidya, A. N., Pandey R. A, S. Mudliar, Suresh Kumar M., Chakrabarti T., and S. Devotta 2005. Production and recovery of lactic acid for polylactide—an overview. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 35:429–467.