

**FARKLI GIDA ATIKLARINDAN ELDE EDİLEN BESİN
ORTAMLARINDA FUNGAL *Monascus purpureus*
PİGMENT ÜRETİMİNİN İNCELENMESİ**

**INVESTIGATION OF PIGMENT PRODUCTION BY
FUNGAL *Monascus purpureus* IN NUTRIENT MEDIA
OBTAINED FROM DIFFERENT FOOD WASTES**

İREM KALEBOZAN

PROF. DR. ZÜMRİYE AKSU

Tez Danışmanı

Hacettepe Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin

Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı için Öngördüğü

Yüksek Lisans TEZİ olarak hazırlanmıştır.

2024

Her koşulda yanımda olan aileme...

ÖZET

FARKLI GIDA ATIKLARINDAN ELDE EDİLEN BESİN ORTAMLARINDA FUNGAL *Monascus purpureus* PİGMENT ÜRETİMİNİN İNCELENMESİ

İrem KALEBOZAN

Yüksek Lisans, Kimya Mühendisliği Bölümü

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Zümriye AKSU

Temmuz 2024, 73 sayfa

Bu tez çalışmasında kesikli karıştırmalı kapta *Monascus purpureus* küf mantarından melastan hazırlanan doğal sıvı besin ortamında, portakal ve üzüm atıklarından kaynar suyla ekstraksiyonla elde edilen şekerleri içeren doğal sıvı besin ortamlarında ve referans olarak karşılaştırma amaçlı glikoz içeren yapay besin ortamında hücre dışı olarak salgılanan sarı ve kırmızı pigmentlerin üretimi incelenmiştir.

Çalışmalarda öncelikle glikoz içeren yapay besin ortamında sarı ve kırmızı pigmentlerin üretim hız ve verimine başlangıç pH'nın ve başlangıç glikoz derişiminin etkileri araştırılmıştır. Her iki pigment için de başlangıç pH'ı 4 değerinde en yüksek üretim hız ve verim değerleri elde edilmiştir. pH 4'te başlangıç glikoz derişiminin 40 g/L'ye kadar artmasıyla sarı pigment üretiminin 8,68 g/L'ye, başlangıç glikoz derişiminin 60 g/L'ye kadar artmasıyla da kırmızı pigment üretiminin 14,04 g/L'ye arttığı gözlenmiştir.

Çalışmaların daha sonraki aşamasında melastan hazırlanan besin ortamında pH 4'te *M. purpureus*'tan sarı ve kırmızı pigment üretim hızı ve verimine başlangıç sakkaroz derişiminin etkisi 10-40 g/L derişim aralığında incelenmiş, 30 g/L sakkaroz derişiminde en yüksek sarı pigment üretimi 0,96 g/L, 40 g/L sakkaroz derişiminde en yüksek kırmızı pigment üretimi 3,35 g/L olarak saptanmıştır.

Çalışmaların bir sonraki aşamasında pH 4'te posalı portakal kabuğu atığından farklı atık/sıvı (A/S) oranlarında elde edilen ve 10-60 g/L aralığında değişen toplam indirgen şeker (TİŞ) derişimi içeren besin ortamlarında başlangıç substrat derişiminin *Monascus* pigmentlerinin üretimi üzerine etkileri araştırılmış ve 60 g/L TİŞ derişiminde en yüksek sarı pigment üretimi 0,82 g/L, 40 g/L TİŞ derişiminde en yüksek kırmızı pigment üretimi 2,13 g/L olarak bulunmuştur.

Çalışmaların son aşamasında, pH 4'te atık üzüm posasından iki farklı atık/sıvı (A/S) oranında elde edilen ve 10 ve 20 g/L değişen toplam indirgen şeker (TİŞ) derişimi içeren besin ortamlarında başlangıç substrat derişiminin *Monascus* pigmentlerinin üretimi üzerine etkileri araştırılmış ve 20 g/L TİŞ derişiminde en yüksek sarı pigment üretimi 0,57 g/L, en yüksek kırmızı pigment üretimi 1,72 g/L olarak tespit edilmiştir.

Deneyisel sonuçlar *Monascus purpureus*'un her iki pigmentin üretiminde de en yüksek hız ve verim değerlerine glikozlu besin ortamında ulaştığını, çalışılan tüm besin ortamlarında kırmızı pigment üretiminin sarı pigment üretiminden daha yüksek olduğunu, glikozlu besin ortamında pigment üretiminin genellikle üstel üreme evresinde, ancak diğer doğal besin ortamlarında substrat derişimine bağlı olarak durgun evrede gerçekleştiğini göstermiştir.

Bu tez çalışması ile şeker endüstrisi yan ürünü melastan ve ayrıca gıda endüstrisi atıklarından posalı portakal kabuğu ve üzüm posasından elde edilen sıvı besin ortamlarında, *Monascus purpureus* küf mantarıyla düşük maliyetli ve çevre dostu bir

yöntemle katma değeri yüksek, çok amaçlı kullanımlar için uygun sarı ve kırmızı pigmentlerin üretimi gerçekleştirilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Gıda atıkları, şeker endüstrisi yan ürünü, *Monascus purpureus*, fermantasyon, sarı ve kırmızı *Monascus* pigmentleri, melas, portakal atığı, üzüm atığı

ABSTRACT

INVESTIGATION OF PIGMENT PRODUCTION BY FUNGAL *Monascus purpureus* IN NUTRIENT MEDIA OBTAINED FROM DIFFERENT FOOD WASTES

İrem KALEBOZAN

Master, Department of Chemical Engineering

Supervisor: Prof. Dr. Zümriye AKSU

July 2024, 73 pages

In this thesis study, the production of yellow and red pigments secreted extracellularly by the *Monascus purpureus* fungus in batch stirred vessel was investigated in natural liquid nutrient media prepared from molasses and those containing sugars extracted with hot water from orange and grape waste, as well as in a synthetic nutrient medium containing glucose used as a reference for comparison.

In the studies, first of all, the effects of initial pH and initial glucose concentration on the production rate and efficiency of yellow and red pigments in artificial nutrient medium containing glucose were investigated. For both pigments, the highest production rate and efficiency values were obtained at an initial pH of 4. At pH 4, it was observed that increasing the initial glucose concentration up to 40 g/L resulted in yellow pigment

production reaching 8,68 g/L, while increasing the initial glucose concentration up to 60 g/L led to red pigment production reaching 14,04 g/L.

In the following step of the studies, at pH 4, the effect of initial sucrose concentration on the production rate and yield of yellow and red pigment production from *M. purpureus* in the nutrient medium prepared from molasses was investigated, within an initial sucrose concentration range of 10-40 g/L, at 30 g/L sucrose concentration, the highest yellow pigment production was observed 0,96 g/L, at 40 g/L sucrose concentration, the highest red pigment production was observed 3,35 g/L.

In the next stage of the studies, the effects of initial substrate concentration on the production of *Monascus* pigments were investigated in nutrient media at pH 4, obtained from pulpy orange peel waste different waste/liquid (A/S) ratios, containing total reducing sugar (TİŞ) concentration ranging from 10-60 g/L and at 60 g/L TİŞ concentration highest yellow pigment production was found to be 0,82 g/L, and at 40 g/L TİŞ concentration, the highest red pigment production was found to be 2,13 g/L.

In the final stage of the studies, the effects of the initial substrate concentration on the production of *Monascus* pigments were investigated in nutrient media obtained from waste grape pulp at pH 4 in two different waste/liquid (A/S) ratios, containing 10 and 20 g/L total reducing sugar (TİŞ) concentrations and at 20 g/L TİŞ concentration, the highest yellow pigment production was found to be 0,57 g/L and the highest red pigment production was found to be 1,72 g/L.

Experimental results showed that *Monascus purpureus* reached the highest rate and efficiency values in the production of both pigments in glucose nutrient medium, the red pigment production was higher than yellow pigment production in all nutrient media studied, pigment production in a glucose nutrient medium generally occurred in the exponential growth phase, while in other nutrient media it occurred in the stationary phase depending on the substrate concentration.

In this thesis, the production of yellow and red pigments with high added value, suitable for multi-purpose uses, with a low-cost and environmentally friendly method, using the *Monascus purpureus* mold fungus, in liquid nutrient media obtained from molasses, a by-product of the sugar industry, as well as pulpy orange peel and grape pomace from food industry wastes.

Keywords: Food waste, sugar industry by-product, *Monascus purpureus*, fermentation, yellow and red *Monascus* pigments, molasses, orange waste, grape waste

TEŞEKKÜR

Tezimin hazırlanmasında bana yol gösteren, bilgi ve tecrübesiyle ışık tutan, sabırla bana her daim destek olan ve akademik gelişimimde büyük rol oynayan değerli danışmanım Prof. Dr. Zümriye Aksu'ya en içten teşekkürlerimi sunarım. Kendisi, sadece bir öğretmen değil, aynı zamanda bir rehber ve ilham kaynağı olmuştur. Her zaman yanımda olup beni cesaretlendirdiği, bilimsel araştırmalarımda bana doğru yolu gösterdiği ve kendimi geliştirmem için sunduğu sayısız fırsat için minnettarım. Onun özverisi ve rehberliği olmadan, bu çalışmanın tamamlanması mümkün olmazdı.

Tezimin her aşamasında bana sürekli destek sağlayan, yönlendirmeleriyle yol gösteren ve her zaman moral ve motivasyon kaynağım olan doktor öğretim üyesi değerli hocam Hande Günan Yücel'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Mikroorganizmanın temininde ve üretiminde bana büyük yardımı dokunan Hacettepe Üniversitesi Biyoloji Bölümü öğretim üyesi sayın Doç. Dr. Gözde Koşarsoy Ağçeli'ye ve Iğdır Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü doktor öğretim üyesi sayın Mehmet Selim Şılbır'a içtenlikle teşekkür ederim.

Laboratuvar çalışmalarım sırasında desteğini ve yardımını esirgemeyen, her zaman yanımda olan kıymetli arkadaşım Duygu Şafak'a, dostluğu ve yardımlarıyla her zaman yanımda olan, tez sürecimdeki moral ve motivasyon desteği için değerli arkadaşım Şadi Kerim Bağlan'a teşekkürlerimi sunarım. Gösterdiğiniz anlayış ve destek için minnettarım.

Son olarak, hayatım boyunca bana destek olan ve hep yanımda olan sevgili aileme en derin teşekkürlerimi sunarım. Onların sevgisi, desteği ve inancı, bu yolculukta en büyük motivasyon kaynağım oldu. Varlığınız, bu çalışmanın arkasındaki gerçek güçtür.

İrem KALEBOZAN

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT	iv
TEŞEKKÜR	vii
İÇİNDEKİLER	viii
ŞEKİLLER	xii
ÇİZELGELER	xiv
SİMGELER VE KISALTMALAR	xv
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Pigmentler	4
2.1.1. Pigmentlerin Genel Özellikleri	4
2.1.2. Mikrobiyal Pigmentler	6
2.2. Mikroorganizmalar	8
2.2.1. Mikroorganizmaların Genel Özellikleri	8
2.2.2. Mikrobiyal Üreme ve Üremeyi Etkileyen Faktörler	9
2.2.3. Mikrobiyal Üreme Eğrisi	10
2.2.4. Küf Mantarları	11
2.2.4.1. <i>Monascus</i> Türü Küf Mantarları	12
2.2.4.2. <i>Monascus</i> Pigmentleri	13
2.2.4.3. <i>Monascus</i> Pigmentlerinin Üretimi	15
2.2.4.4. <i>Monascus</i> Pigmentlerinin Kullanım Alanları	16
2.3. Gıda Endüstrisi Atıkları	17
2.3.1. Sebze ve Meyve Endüstrisi Atıkları	17

2.3.1.1. Portakal Atıkları.....	21
2.3.1.2 Üzüm Atıkları	22
2.3.2. Gıda Endüstrisi Yan Ürünleri	24
2.3.2.1 Şeker Endüstrisi Yan Ürünleri	24
2.3.2.2 Melas.....	25
2.3.3 Gıda Atıklarının Mikrobiyal Üretimde Kullanılması	26
2.4. <i>Monascus purpureus</i> Küf Mantarıyla Gıda Atıklarından Pigment Üretimi.....	27
3. DENEY SİSTEMİNİN MATEMATİKSEL TANIMLANMASI.....	29
3.1. Kesikli Karıştırmalı Kapta Mikrobiyal Üremenin ve Pigment Üretiminin Matematiksel Tanımlanması	29
3.1.1. Mikroorganizmanın Özgül Üreme Hızı	29
3.1.2. Mikroorganizmanın Pigment Üretim Hızı	29
3.1.3. Pigment Verimi.....	30
3.1.3.1. Glikozdan ve Gıda Yan Ürünü/Atıklarından Elde Edilen Besin Ortamlarında Başlangıç Substrat Derişimine Bağlı Pigment Verimi	30
3.1.3.2. Gıda Yan Ürünü/Atıklarından Elde Edilen Besin Ortamlarında Başlangıç Atık/Sıvı Oranına Bağlı Pigment Verimi.....	31
4. DENEY SİSTEMİ VE YÖNTEMLERİ	32
4.1. <i>Monascus purpureus</i> 'un <i>Monascus</i> Pigment Üretimi İçin Hazırlanması.....	32
4.2. Deneysel Çalışmalarda Kullanılan Gıda Yan Ürünü Melas ve Posalı Portakal Kabuğu ve Üzüm Posası Atıkları ve Besin Ortamlarında Kullanılmaları için Yapılan Ön İşlemler	32
4.3. <i>Monascus</i> Pigment Üretim Çalışmaları.....	33
4.4. Analiz Yöntemleri	34
4.4.1. Mikroorganizma Derişimi Tayini	34
4.4.2. Sarı ve Kırmızı <i>Monascus</i> Pigmentlerinin Derişimlerinin Tayini	34
4.4.3. Toplam İndirgen Şeker Derişimi Tayini	35

5. DENEYSEL SONUÇLAR	36
5.1. Glikoz İçeren Yapay Besin Ortamında <i>M. purpureus</i> 'tan Sarı ve Kırmızı Pigmentlerin Üretimi Çalışmaları	36
5.1.1. 20 g/L Glikoz İçeren Yapay Besin Ortamında <i>Monascus purpureus</i> 'un Üreme Eğrisinin Elde Edilmesi	36
5.1.2. Başlangıç pH'ının <i>Monascus</i> Pigmentlerinin Üretim Hızı ve Verimine Etkisi	37
5.1.3. Başlangıç Glikoz Derişiminin <i>Monascus</i> Pigmentlerinin Üretim Hızı ve Verimine Etkisi	39
5.2. Melas İçeren Besin Ortamında <i>M. purpureus</i> 'tan Sarı ve Kırmızı Pigmentlerin Üretimi Çalışmaları.....	42
5.2.1. 40 g/L Melas (20 g/L Sakkaroz) İçeren Besin Ortamında <i>Monascus purpureus</i> 'un Üreme Eğrisinin Elde Edilmesi	42
5.2.2. Başlangıç Melas (Başlangıç Sakkaroz) Derişiminin <i>Monascus</i> Pigmentlerinin Üretim Hızı ve Verimine Etkisi.....	42
5.3. Portakal Atığından Elde Edilen Doğal Besin Ortamında <i>M. purpureus</i> 'tan Sarı ve Kırmızı Pigmentlerin Üretimi Çalışmaları.....	45
5.3.1. A/S=42,5 g Portakal Atığı/L Sudan Elde Edilen ve 20 g/L Toplam İndirgen Şeker (TİŞ) İçeren Doğal Besin Ortamında <i>Monascus purpureus</i> 'un Üreme Eğrisinin Elde Edilmesi.....	45
5.3.2. Portakal Atığından Elde Edilen (TİŞ İçeren) Besin Ortamında Başlangıç Toplam İndirgen Şeker Derişiminin <i>Monascus</i> Pigmentlerinin Üretim Hızı ve Verimine Etkisi	46
5.4. Üzüm Atığından Elde Edilen Doğal Besin Ortamında <i>M. purpureus</i> 'tan Sarı ve Kırmızı Pigmentlerin Üretimi Çalışmaları.....	49
5.4.1. A/S=28 g Üzüm Atığı/L Sudan Elde Edilen ve 20 g/L Toplam İndirgen Şeker (TİŞ) İçeren Doğal Besin Ortamında <i>Monascus purpureus</i> 'un Üreme Eğrisinin Elde Edilmesi.....	49

5.4.2. Üzüm Atığından Elde Edilen (TİŞ İçeren) Besin Ortamında Başlangıç Toplam İndirgen Şeker Derişiminin <i>Monascus</i> Pigmentlerinin Üretim Hızı ve Verimine Etkisi	50
6. SONUÇLAR VE TARTIŞMA.....	53
7. KAYNAKLAR.....	61
EKLER.....	68
ÖZGEÇMİŞ	73

ŞEKİLLER

Şekil 2.1. Görünür ışık da dahil olmak üzere elektromanyetik spektrumun emilen ve gözlenen renkler arasındaki farklar	5
Şekil 2.2. Mikrobiyal Üreme Eğrisi (1. Gecikme evresi, 2. Logaritmik evre, 3. Duraklama evresi, 4. Sabit evre, 5. Ölüm Evresi)	11
Şekil 2.3. Sarı, turuncu ve kırmızı <i>Monascus</i> pigmentlerinin kimyasal yapıları ve bunlara karşılık gelen UV-Visible spektrumları	14
Şekil 2.4. <i>Monascus</i> pigmentlerinin tahmini biyosentezi	15
Şekil 4.1 Glikoz içeren sıvı besin ortamında üretilmiş <i>Monascus purpureus</i>	32
Şekil 5.1. 20 g/L glikoz içeren yapay besin ortamında elde edilen <i>M. purpureus</i> 'un üreme eğrisi (T=30°C, başlangıç pH'ı=4, KH=150 rpm).....	37
Şekil 5.2. 20 g/L başlangıç glikoz derişiminde <i>M. purpureus</i> 'tan sarı pigment üretiminde farklı başlangıç pH değerlerinde elde edilen pigment üretim üretim eğrileri (T=30°C, KH=150 rpm)	38
Şekil 5.3. 20 g/L başlangıç glikoz derişiminde <i>M. purpureus</i> 'tan kırmızı pigment üretiminde farklı başlangıç pH değerlerinde elde edilen pigment üretim üretim eğrileri (T= 30°C, KH=150 rpm).....	38
Şekil 5.4. Glikoz içeren yapay besin ortamında farklı başlangıç glikoz derişimlerinde elde edilen sarı <i>Monascus</i> pigmentinin üretim eğrileri (T=30°C, başlangıç pH'ı=4, KH=150 rpm).....	40
Şekil 5.5. Glikoz içeren yapay besin ortamında farklı başlangıç glikoz derişimlerinde elde edilen kırmızı <i>Monascus</i> pigmentinin üretim eğrileri (T=30°C, başlangıç pH'ı=4, KH=150 rpm).....	41
Şekil 5.6. 40 g/L melas (20g/L sakkaroz) içeren besin ortamında elde edilen <i>M. purpureus</i> 'un üreme eğrisi (T=30 °C, başlangıç pH'ı=4, KH=150 rpm).....	42
Şekil 5.7. Melas (Sakkaroz) içeren besin ortamında farklı başlangıç sakkaroz derişimlerinde elde edilen sarı <i>Monascus</i> pigmentinin üretim eğrileri (T=30°C, başlangıç pH'ı=4, KH= 150 rpm).....	44
Şekil 5.8. Melas (Sakkaroz) içeren besin ortamında farklı başlangıç sakkaroz derişimlerinde elde edilen kırmızı <i>Monascus</i> pigmentinin üretim eğrileri (T=30°C, başlangıç pH'ı=4, KH=150 rpm).....	44

Şekil 5.9. A/S=42,5 g portakal atığı/L sudan elde edilen ve 20 g/L TİŞ içeren doğal besin ortamında elde edilen <i>M. purpureus</i> 'un üreme eğrisi (T=30°C, Başlangıç pH'ı=4, KH=150 rpm).....	46
Şekil 5.10. Portakal atığından değişen A/S oranlarında elde edilen besin ortamlarında farklı başlangıç TİŞ derişimlerinde elde edilen sarı <i>Monascus</i> pigmentinin üretim eğrileri (T=30°C, başlangıç pH'ı=4, KH=150 rpm)	47
Şekil 5.11. Portakal atığından değişen A/S oranlarında elde edilen besin ortamlarında farklı başlangıç TİŞ derişimlerinde elde edilen kırmızı <i>Monascus</i> pigmentinin üretim eğrileri (T=30°C, başlangıç pH'ı=4, KH=150 rpm)	48
Şekil 5.12. A/S=28 g üzüm atığı/L sudan elde edilen ve 20 g/L TİŞ içeren doğal besin ortamında elde edilen <i>M. purpureus</i> 'un üreme eğrisi (T=30°C, başlangıç pH'ı=4, KH=150 rpm).....	49
Şekil 5.13. Üzüm atığından değişen A/S oranlarında elde edilen besin ortamlarında farklı başlangıç TİŞ derişimlerinde elde edilen sarı <i>Monascus</i> pigmentinin üretim eğrileri (T=30°C, başlangıç pH'ı=4, KH=150 rpm).....	51
Şekil 5.14. Üzüm atığından değişen A/S oranlarında elde edilen besin ortamlarında farklı başlangıç TİŞ derişimlerinde elde edilen kırmızı <i>Monascus</i> pigmentinin üretim eğrileri (T=30°C, başlangıç pH'ı=4, KH=150 rpm).....	51
Şekil 6.1. 20 g/L glikoz içeren, 40 g/L melas (20 g/L sakkaroz) içeren, 42,5 g portakal atığı ve 28 g üzüm atığınının 1 L kaynar suyla ekstraksiyonundan elde edilen ve 20 g/L TİŞ içeren besin ortamlarında elde edilen <i>M. purpureus</i> 'un üreme eğrilerinin karşılaştırılması (T=30°C, başlangıç pH'ı=4, KH=150 rpm).....	54
Şekil 6.2. <i>M. purpureus</i> 'tan sarı pigment üretiminde çalışılan tüm besin ortamlarında 20 g/L substrat derişiminde (20 g/L glikoz içeren, 40 g/L melas (20 g/L sakkaroz) içeren, portakal ve üzüm atıklarından elde edilen ve 20 g/L TİŞ içeren) pigment üretiminin zamanla değişim eğrilerinin karşılaştırılması (T=30°C, başlangıç pH'ı=4, KH=150 rpm).....	57
Şekil 6.3. <i>M. purpureus</i> 'tan kırmızı pigment üretiminde çalışılan tüm besin ortamlarında 20 g/L substrat derişiminde (20 g/L glikoz içeren, 40 g/L melas (20 g/L sakkaroz) içeren, portakal ve üzüm atıklarından elde edilen ve 20 g/L TİŞ içeren) pigment üretiminin zamanla değişim eğrilerinin karşılaştırılması (T=30°C, başlangıç pH'ı=4, KH=150 rpm)	57

ÇİZELGELER

- Çizelge 5.1. 20 g/L başlangıç glikoz derişiminde *M. purpureus*'tan sarı ve kırmızı pigment üretimlerinde farklı başlangıç pH değerlerinde elde edilen en yüksek pigment derişimi, pigment üretim hızı ve pigment verim değerlerinin karşılaştırılması..... 39
- Çizelge 5.2 Farklı başlangıç glikoz derişimlerinde elde edilen en yüksek sarı ve kırmızı pigment derişimleri, pigment üretim hızları ve pigment verim değerlerinin karşılaştırılması..... 41
- Çizelge 5.3. Farklı başlangıç melas (sakkaroz) derişimlerinde *M. purpureus* 'tan sarı ve kırmızı pigment üretimlerinde elde edilen en yüksek pigment derişimi, pigment üretim hızı ve pigment verim değerlerinin karşılaştırılması.....45
- Çizelge 5.4. Portakal atığından elde edilen ve farklı başlangıç TİŞ derişimleri içeren besin ortamlarında *M. purpureus* 'tan sarı ve kırmızı pigment üretimlerinde elde edilen en yüksek pigment derişimi, pigment üretim hızı ve pigment verim değerlerinin karşılaştırılması 48
- Çizelge 5.5. Üzüm atığından elde edilen ve farklı başlangıç TİŞ derişimleri içeren besin ortamlarında *M. purpureus* 'tan sarı ve kırmızı pigment üretiminde elde edilen en yüksek pigment derişimi, pigment üretim hızı ve pigment verim değerlerinin karşılaştırılması..... 52
- Çizelge 6.1. Glikozlu, melas(sakkaroz)tan hazırlanan ve portakal ve üzüm atıklarından elde edilen ve TİŞ içeren besin ortamlarında farklı substrat derişimlerinde bulunan en yüksek sarı ve kırmızı pigment derişimlerinin ve sarı ve kırmızı pigment verim değerlerinin karşılaştırılması 55
- Çizelge 6.2. Tez çalışmasından elde edilen sonuçların literatürde yer alan *Monascus* küf mantarlarından pigment üretim çalışmalarıyla karşılaştırılması..... 58

SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

P	<i>Monascus</i> pigment derişimi (g <i>Monascus</i> pigmenti/L)
P _{sarı}	Sarı <i>Monascus</i> pigment derişimi (g sarı <i>Monascus</i> pigmenti/L)
P _{kırmızı}	Kırmızı <i>Monascus</i> pigment derişimi (g kırmızı <i>Monascus</i> pigmenti/L)
P _m	En yüksek <i>Monascus</i> pigment derişimi (g <i>Monascus</i> pigmenti/L)
P _{m,sarı}	En yüksek sarı <i>Monascus</i> pigment derişimi (g <i>Monascus</i> pigmenti/L)
P _{m,kırmızı}	En yüksek kırmızı <i>Monascus</i> pigment derişimi (g <i>Monascus</i> pigmenti/L)
S _o	Başlangıç substrat derişimi (g/L)
S _{Go}	Sentetik besin ortamındaki başlangıç glikoz derişimi (g glikoz/L)
S _{So}	Melas içeren besin ortamındaki başlangıç sakkaroz derişimi (g sakkaroz/L)
S _{TİŞo}	Gıda atığından elde edilen besin ortamındaki başlangıç toplam indirgen şeker derişimi (g TİŞ/L)
t	Zaman (gün)
T	Sıcaklık (°C)
X ₀	Besin ortamında başlangıçtaki kuru mikroorganizma derişimi (g kuru mikroorganizma/L)
X	Mikroorganizmanın üremesinde herhangi bir zamandaki kuru mikroorganizma derişimi (g kuru mikroorganizma/L)
X _m	Üstel üreme evresi sonunda elde edilen en yüksek kuru mikroorganizma derişimi (g kuru mikroorganizma/L)
X _y	Yaş mikroorganizma ağırlığı (g yaş mikroorganizma)

$Y_{P/A}$	Birim atık miktarı başına elde edilen <i>Monascus</i> pigment miktarı (g <i>Monascus</i> pigmenti/g atık)
$Y_{P/A,sarı}$	Birim atık miktarı başına elde edilen sarı <i>Monascus</i> pigment miktarı (g <i>Monascus</i> pigmenti/g atık)
$Y_{P/A,kırmızı}$	Birim atık miktarı başına elde edilen kırmızı <i>Monascus</i> pigment miktarı (g <i>Monascus</i> pigmenti/g atık)
$Y_{P/S}$	Birim substrat miktarı başına elde edilen <i>Monascus</i> pigment miktarı (g <i>Monascus</i> pigmenti/g substrat)
$Y_{P/S,sarı}$	Birim substrat miktarı başına elde edilen sarı <i>Monascus</i> pigment miktarı (g <i>Monascus</i> pigmenti/g substrat)
$Y_{P/S,kırmızı}$	Birim substrat miktarı başına elde edilen kırmızı <i>Monascus</i> pigment miktarı (g <i>Monascus</i> pigmenti/g substrat)
μ	Üstel üreme bölgesinde mikroorganizmanın özgül üreme hızı (gün ⁻¹)
v	<i>Monascus</i> pigment üretim hızı (g <i>Monascus</i> pigmenti/L gün)
$v_{sarı}$	Sarı <i>Monascus</i> pigment üretim hızı (g sarı <i>Monascus</i> pigmenti/L gün)
$v_{kırmızı}$	Kırmızı <i>Monascus</i> pigment üretim hızı (g kırmızı <i>Monascus</i> pigmenti/L gün)

Kısaltmalar

A/S	Başlangıç atık/sıvı oranı (g kuru atık/L su)
KH	Karıştırma hızı
m.o.	Mikroorganizma
TİŞ	Toplam İndirgen Şeker

1. GİRİŞ

Artan nüfusla birlikte gıda tüketimi ve bunun sonucu olarak da gıda atıklarının oluşumu artmaktadır. Gıda ve içecek endüstrilerinde üretim sonucunda fazla miktarda oluşan atığın sürdürülebilirlik açısından etkin kullanımı ve değerlendirilmesi sadece çevre kirliliğini önlemek açısından değil, aynı zamanda bu atıklardan elde edilen ürünlerin çeşitlendirilmesi ve katma değerinin artırılması gibi yönlerden de önemlidir [1].

Gıda atıklarının çekirdek, kabuk ve posalarında fazla miktarda, çeşitli karbohidratlar (nişasta, beş ve altı karbonlu şekerler vb.), proteinler, lifler, vitaminler ve mineraller bulunmaktadır. Ayrıca içeriklerindeki yağ asitleri, fenolik bileşikler ve biyoaktif moleküller bu atıkları oldukça önemli kılmaktadır. Bu bileşenler çeşitli fiziksel ve kimyasal işlemler sonrasında geri dönüştürülüp kullanılabilirdiği gibi, uygun koşullar altında mikroorganizma üretimi için besin ortamı olarak kullanılmaları da mümkündür [2, 3].

Gıda katkı maddeleri ürüne istenilen görünüş, kalite, tat, koku, uzun süreli koruma gibi özellikleri kazandıran kimyasal maddelerdir. Gıda boyası ürünün duyu özelliklerini etkileyen önemli bir etmendir. Şekerli ürünlerde ve içeceklerde kullanılan sentetik renklendiricilerin çoğunun çocuklarda hiperaktivite ve dikkat eksikliğiyle ilişkilendirilebileceğini kanıtlayan birçok bilimsel araştırmanın ardından, parlak mavi (E133), tartrazin (E102), kinolon sarısı (E104), gün batımı sarısı FCF (E110), karmoisin/azorubin (E122), ponceau 4R (E129) ve allura kırmızısı AC (E129) gibi sentetik renklendiricilerin kullanımı AB tarafından kısıtlanmıştır. Sentetik gıda renklendiricilerinin sağlık üzerindeki olumsuz etkileri nedeniyle, bir alternatif olarak bu pigmentlerin mikrobiyal üretimi tercih edilmektedir [4, 5].

Doğal gıda pigmentlerin üretiminde küf mantarları, mayalar ve bakteriler kullanılabilir. Doğal yolla pigment üretimi sentetik pigment üretime göre daha yüksek verimli ve ekonomiktir. Mikroorganizmalar düşük maliyetli kültür ortamlarında hızla üreyebilen, iklim koşullarına bağlı olmaksızın gelişebilen canlılardır. Buna ek

olarak ürettikleri pigmentlerde de renk ve ton çeşitliliği bulunmaktadır. Mikrobiyal doğal pigmentlerin biyolojik olarak parçalanabilir ve çevre dostu olmaları, antioksidan, antikanser ve antiproliferatif özelliklerinin bulunması bu pigmentlerin gıda endüstrisinde kullanımı açısından önemli ve tercih edilebilir kılmaktadır [6,7].

Funguslar organik substratları çeşitli metabolitlere dönüştürebilir. Bunlara örnek olarak; pigmentler, alkoller, antibiyotikler, enzimler, yağ asitleri, aroma bileşikleri, topaklaştırıcılar, ketonlar, organik asitler, vitaminler ve antioksidanlar verilebilir. Doğal pigment üretimine yönelik olarak filamentli bir fungus olan *Monascus*, pigment üreten organizmalar içerisinde önemli bir yere sahiptir. Bu pigmentler renklendirici olarak dünya çapında ilgi görmektedir ve yüksek ekonomik değere sahiptir. *Monascus* fungusuyla pigment üretiminin, mikrobiyal üretimde substratlarının rahat bulunabilir ve ucuz olması, mikroorganizmanın kolayca üreyebilmesi ve üretiminin güvenli olması, fungal pigmentin su ve etanolde iyi çözünmesi gibi birçok avantajı bulunmaktadır [8, 9].

Monascus türleri tarafından sekonder metabolit olarak üretilen çeşitli renk pigmentleri arasında turuncu renkli olanlara Rubropunctatine ($C_{21}H_{22}O_5$), Monascorubrine ($C_{23}H_{26}O_5$); sarı renkte olanlara Monascine ($C_{21}H_{26}O_5$), Ankaflavine ($C_{23}H_{30}O_5$); kırmızı renkte olanlara Monascorubramine ($C_{23}H_{27}O_4N$) ve N-glutarylubropunctamine ($C_{26}H_{29}NO_8$) örnek verilebilir. Bu pigmentler poliketone yapıda olup, gıda endüstrisinde gıda katkı maddesi olarak, et ürünlerinde nitrit kaynağı, kozmetik ve tekstil endüstrilerinde ise renklendirici olarak kullanılmaktadır. Ayrıca bu pigmentler terapötik kullanım potansiyeline sahiptirler [10].

Bu tez çalışmasında şeker endüstrisi yan ürünü melastan ve ayrıca gıda endüstrisi atıklarından posalı portakal kabuğu ve üzüm posasından elde edilen sıvı besin ortamlarında, *Monascus purpureus* küf mantarıyla hücre dışı olarak salgılanan kırmızı ve sarı renk pigmentlerin üretimi incelenmiştir. Referans olarak alınan glikoz içeren yapay besin ortamında pigment üretimine başlangıç pH'nın etkisi araştırılmış, bulunan optimum pH'ta atığın türü ve şeker derişimi gibi parametrelerin mikroorganizmanın üremesine ve pigment üretim hızı ve verimine etkileri araştırılmıştır. Böylece gıda

endüstriyi yan ürünleri ve atıklarının değerlendirilmesiyle düşük maliyetli, katma değeri yüksek ürünler olan sarı ve kırmızı pigmentlerin üretimi gerçekleştirilmiştir. Sonuç olarak 'atık değerlendirilmesi', 'sürdürülebilirlik', 'sıfır atık' ve 'katma değeri yüksek ürün üretimi' konularında yeni veriler sunularak literatüre katkıda bulunulmuştur.

2. GENEL BİLGİLER

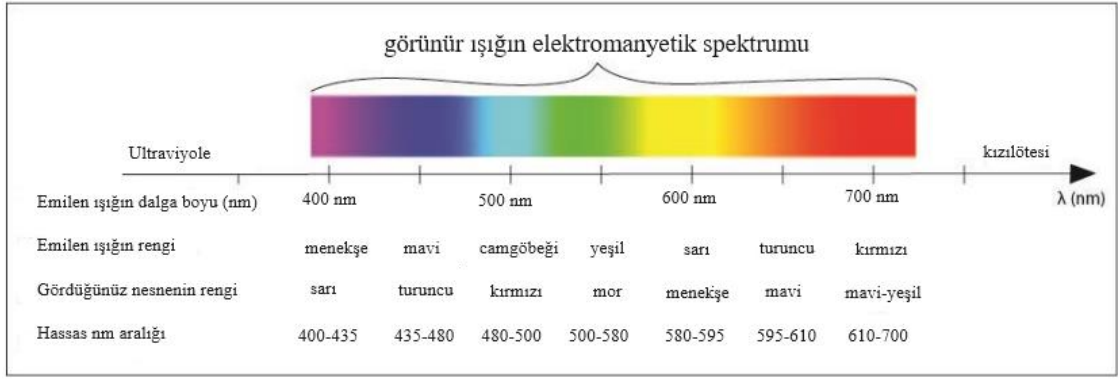
2.1. Pigmentler

2.1.1. Pigmentlerin Genel Özellikleri

Yüzyıllardır insan hayatının bir parçası olan renk, birçok ürünün çekiciliğini arttırmaktadır ve gıda, tarım, kozmetik, tekstil, ilaç gibi sektörlerde önemli bir pazar potansiyeline sahiptir. Renklendiriciler herhangi bir maddenin rengini değiştirmek amacıyla eklenen bileşiklerdir ve bunlar boyalar ya da pigmentler olabilirler. Boyalar ve pigmentler arasında önemli farklılıklar bulunmaktadır. Pigmentler genellikle ilave edildikleri ortamda kolaylıkla çözünmeyen, fiziksel ve kimyasal yapıları değişmeyen organik ya da inorganik bileşikler iken, boyalar ilave edildikleri ortamda çözünebilen ve yapılarındaki bazı özellikleri değişebilen bileşiklerdir. [3, 11].

Pigment kelimesi Latince kökenli olup 'pigmentum'dan gelmektedir ve başlangıçta, renkli madde anlamında kullanılmıştır. İlerleyen yıllarda pigment, bitki, sebze ve meyve özütlerinin gıdaları renklendirmesindeki kullanımını tanımlamıştır. Modern anlamda pigment kelimesinin tanımlanması ise yirminci yüzyılda ortaya çıkmıştır ve uygulanan alanda çözünmeyen, renklendirici, koruyucu veya manyetik özellikleri nedeniyle kullanılan küçük parçacıklardan oluşan maddedir [11, 12].

Pigmentler ayrıca görünür bölgedeki ışığı farklı dalga boylarında absorbe eden bileşiklerdir. Pigmentlerden yansıyan ışık, ışığın absorbe edilmeyen rengi olarak insan gözü tarafından görülür. Pigmentlerin ışığı absorbe etme ve böylece gözlemciye renkli görünme yeteneği, pigmentin kimyasal yapısına, daha ileri açıklamak gerekirse, kromofor olarak bilinen konjuge çift bağ sistemine bağlıdır. Konjuge bir sistemde çift bağlar ortaya çıktığında, elektronlar üst üste binen p-orbitalleri sistemi boyunca yer değiştirebilirler. Elektronlar ışığa maruz kaldığında konjuge çift bağ sisteminin boyutuna bağlı olarak belirli dalga boylarında fotonları absorbe edebilirler, böylece sadece bazı dalga boyları yansıyarak molekülün renkli görünmesine yol açar. Şekil 2.1'den de görüldüğü üzere, örneğin 480-500 nm arasında pigment tarafından absorbe edilen ışık rengi camgöbeği iken gözlemcinin algıladığı renk kırmızıdır [13].



Şekil 2.1. Görünür ışık da dahil olmak üzere elektromanyetik spektrumun emilen ve gözlenen renkler arasındaki farklar [13]

Pigmentler elde edildikleri kaynaklara göre doğal ya da sentetik olarak üretilmektedirler. Sentetik pigmentler ucuz ve kararlı yapıda oldukları için endüstride tercih edilmektedir, ancak bazı sentetik pigmentler toksik, alerjen, mutajen, kanserojen özelliklere sahiptir ve kirletici emisyonları nedeniyle ekolojiye zararlıdır. Sentetik pigmentlerin olumsuz etkileri sağlıklı, zararsız bir alternatif olan doğal pigmentlere ilgiyi arttırmıştır. Kimyasal yapılarına göre sınıflandırılan doğal pigmentler aşağıda sıralanmıştır: [14, 15].

Antosiyantinler: Antosiyoninler ikincil bitki metaboliti olan polifenolik yapıdaki flavonoid türevlerinden olup, bitkilere canlı kırmızıdan maviye renk veren, suda çözünebilir pigmentlerin önemli bir alt sınıfıdır.

Karotenoidler: İzoprenoid türevi olan karotenoidler doğada yaygın olarak dağılmış, yağda çözünebilir, sarıdan turuncuya, kırmızıya kadar değişen renklere sahip pigmentlerdir ve bitkiler, bakteriler, mantarlar, mayalar, kuşlar ve böcekler dahil olmak üzere doğada yaygın olarak bulunmaktadır.

Klorofiller: Pirel türevi olan klorofiller temelde fitol eki ve merkezi magnezyum iyonu ile bulunan simetrik bir siklik tetrapirel olan bir porfin halkasıdır ve yeşil renktedir.

Betalainler: Azot-Heterosiklik türevi olan betalainler, betalamik asidin sarı ve kırmızı tonlarındaki renk pigmentleridir.

Bu pigmentlerin dışında karminik asit, gossipol, *Monascus* pigmentleri gibi pigmentler de doğal pigmentlere örnek olarak verilebilir [16].

Doğal pigmentler çoğunlukla bitkilerden, hayvanlardan ve mikroorganizmalardan elde edildikleri için insan tüketimine uygundur. Ayrıca doğal pigmentler antikanser, antioksidan, antibakteriyel ve antiviral özellikler dahil olmak üzere sağlık açısından birçok faydaya sahiptir. Ayrıca biyolojik olarak parçalanabildiklerinden çevre dostudur. Doğal pigment üretiminde pigment kaynağı yaygın olarak bitkiler ve mikroorganizmalar iken, mikrobiyal pigmentler bitkisel pigmentlere göre daha kararlı, düşük maliyetli ve yüksek verimlidir. Mikroorganizmalar tarafından üretilen doğal pigmentlere β -karoten, astaksantin, melanin, riboflavin, *Monascus* pigmentleri gibi pigmentler örnek gösterilebilir [14, 15, 17].

2.1.2. Mikrobiyal Pigmentler

Mikroorganizmalar, kimyasal bileşimleri, işlevleri, kararlılıkları ve çözünürlükleri açısından farklılık gösteren birçok doğal pigment üretebilmektedir. Mikroorganizmalardan elde edilen doğal pigmentlere ‘mikrobiyal pigmentler’ denilmektedir. Bakteriler, algler ve funguslar çeşitli mikrobiyal pigmentler üretmektedir. İkincil metabolit olan mikrobiyal pigmentler, ısıya, ışığa ve pH 11’e kadar kararlı olmalarının yanı sıra kanser önleyici ve pro-vitamin kaynağı olmaları gibi arzu edilen özelliklere de sahiptir. Mikrobiyal pigment üretiminin hava şartlarından bağımsız, kolay ve hızlı olması gibi birçok faydası vardır. Ayrıca mikrobiyal pigment üretiminin üretilen pigmentlerdeki renk çeşitliliği, üretim ortamının düşük maliyetli olması ve üretimin kontrollü koşullar altında hızlı olması gibi nedenlerle diğer doğal pigment üretim yöntemlerine göre de birçok avantajı bulunmaktadır [18, 19].

Gıda endüstrisinde kullanılan renklendiricilerin gıdanın tadıyla uyumlu, güvenli, uygun besin değerine sahip ve maliyetinin düşük olması gerektiğinden, mikrobiyal renk

pigmentleri tercih edilmektedir. Mikrobiyal pigmentler inorganik veya organik olabilir, ancak organik pigmentler gıda renklendiricisi olarak daha kullanışlıdır. Gıda renklendiricisi olarak kullanılan mikrobiyal pigmentlerden bazıları kantaksantin, astaksantin, prodigiosin, fikosiyenin, viyolasin, riboflavin, beta-karoten, melanin ve likopendir. [20]

Antioksidan ve yaşlanma karşıtı etkileri sayesinde mikrobiyal pigmentlerin kozmetik sektöründe kullanımı dikkat çekmektedir ve pigmentlerin canlı renkleri kozmetik ürünler için tercih edilme nedenidir. Ek olarak, mikrobiyal pigmentlerin melanogenezi inhibe edici ve fotokoruyucu özellikleri kozmetik sektörü için parlak bir gelecek vadetmektedir. [21]

Sentetik boyaların ışığa, ağartıcılara ve ter gibi parametrelere karşı arttırılmış dayanıklılığa sahip olmalarıyla birlikte atıksularda varlıklarını sürdürdükleri ve çevrede kalıntı oluşturdukları da bilinmektedir. Çevre dostu olan doğal renklendiriciler ise biyolojik olarak parçalanabilen, toksik ve kanserojen olmayan bileşiklerdir. Son yıllarda doğal renklendiricilerden olan mikrobiyal pigmentler tekstil endüstrisinde farklı tekstil kumaşlarının/liflerinin boyanmasında da kullanım alanı bulmaktadır. Örneğin tekstil endüstrisinde elyafli malzemeleri ve naylon ürünleri renklendirmek için *Chromobacterium* ve *Janthinobacterium*'dan elde edilen karakteristik mor tonu violacein kullanır. Violaceinin aynı zamanda *E. coli*, *C. albicans*, *C. parapsilosis*, ve *S. aureus* gibi çeşitli bakteri ve mantar türlerine karşı antimikrobiyal etki gösterdiği de bilinmektedir [22].

Mikrobiyal pigmentler, aynı zamanda biyo-indikatör olarak da kullanılmaktadır. Bakterilerden elde edilen floresan pigmentler, belirli reaksiyonların ilerlemesini kontrol etmek için kullanılabilir. Örneğin, insan plazmasındaki peroksi radikal temizleme oranını tahmin etmek için fikoeritrin kullanılmaktadır. Pigment başlangıçta floresan ışık saçar, ancak pigmentin serbest radikallerle reaksiyona girdiği yerde koyu lekeler ortaya çıkar. Ayrıca mikrobiyal pigmentler ağır metal iyonlarını tespit etmek için de kullanım alanı bulmaktadır. Örneğin, *Vogesella indigofera* normal çevresel büyüme koşulları altında mavi pigment üretir; ancak altı değerlikli krom gibi ağır metal iyonlarına maruz

kaldığında pigment üretimi gözlemlenmez. Ayrıca, sıcaklık değişimini izlemek için de mikrobiyal pigmentler de kullanılabilir. *Pantoea* kümeleri 10°C sıcaklıkta ve altında koyu mavi pigment üretir, bu nedenle gıda ve klinik materyallerin düşük sıcaklıkta depolama yönetimi için sıcaklık göstergesi olarak kullanılabilir [23].

Farmakoloji alanında antioksidan, antimikrobiyal, antikanser, immün düzenleyici ve antiinflamatuvar özelliklere sahip *Monascus*, *Rhodotorula*, deniz aktinomisetleri, deniz *Pseudoalteromonas*'ları ve deniz siyanobakterileri gibi çok çeşitli mikroorganizmalar tarafından üretilen pigmentlerin ilaç endüstrisinde çeşitli hastalıkların tedavisinde etkin olarak kullanılabileceği gösterilmiştir [22].

2.2. Mikroorganizmalar

2.2.1. Mikroorganizmaların Genel Özellikleri

Hayvanlar, bitkiler ve mikroorganizmalar olmak üzere üç gruptan oluşan canlılar aleminde mikroorganizmalar en küçük yapı taşı olarak kabul edilmektedir. Ribozomal RNA analizine göre mikroorganizmalar prokaryotlar ve ökaryot olmak üzere iki kısma ayrılır. Prokaryotlar görünüş olarak çeşitli şekillere sahiptir ve en ilkel tek hücreli canlılardır. Prokaryotik hücreler hızlı büyür ve ikiye katlanma süreleri tipik olarak yarım saatten birkaç saate kadar değişir. Ek olarak prokaryotlar, karbonhidratlar, hidrokarbonlar, proteinler ve CO₂ dahil olmak üzere çeşitli besin maddelerini karbon kaynağı olarak kullanabilirler. En bilindikleri bakteriler ve siyanobakterilerdir. Ökaryotlar ise prokaryotlardan daha büyük ve kompleks yapıda, gelişmiş canlılardır. Mantarlar (mayalar, küf mantarları ve şapkalı mantarlar), algler ve protozoalar ökaryotik mikroorganizmalardır [24, 25].

Mikroorganizmaların yaşayabildikleri ortamlar çok çeşitlidir. Mikroorganizmalar su bulunan hemen hemen her yerde, okyanusun derinliklerindeki kaplıcalarda, atmosferin üst katmanlarındaki bölümlerinde, yer kabuğunun iç kısmındaki kayaların derinliklerinde, canlıların bağırsaklarında ve derilerinde yaşayabilmektedir. Bazı mikroorganizmalar olağan üstü koşullarda da yaşamlarını sürdürebilmektedir, örneğin çok sıcakta, çok asidik ortamlarda ve hatta yüksek tuz derişimlerinde yaşayan mikroorganizmalar mevcuttur.

Mikroorganizmaların ekosistemin işleyişinde etkili olmalarının yanı sıra, günümüzde, atıksuların arıtımı, ilaç endüstrisi, gıda endüstrisi, kozmetik endüstrisi, tarım endüstrisi gibi birçok alanda da etkin biçimde kullanılmaktadır [24, 25].

2.2.2. Mikrobiyal Üreme ve Üremeyi Etkileyen Faktörler

Mikroorganizmaların üremesi için besin ve enerjiye ihtiyaçları bulunmaktadır. Her mikroorganizmanın kendine özgü besin gereksinimi vardır. Karbon, azot, mineral bileşikler besin kaynağı olarak kullanıldığından, türleri ve miktarları mikroorganizmaların üremesinde etkilidir. Glikoz, fruktoz, sakkaroz, arabinoz ve ksiloz gibi 5-6 karbonlu şekerler karbon kaynağı olarak kullanılırken, NH_4^+ ve NO_3^- iyonları ya da pepton, maya özütü gibi bileşikler azot kaynağı olarak kullanılabilir. Ayrıca besin ortamında mineral kaynağı olarak Ca, Mg, Fe, O, H, P, S, K gibi elementlerin kullanılması mikroorganizmaların üremesini olumlu etkilemektedir [26].

Besin kaynaklarına ek olarak mikrobiyal üremeyi sınırlayan ve düzenleyen çok sayıda biyotik ve abiyotik faktör vardır. Bu faktörler mikrobiyal üremenin aktivasyonu veya inhibisyonu ile sonuçlanan stres durumlarına neden olabilir ve farklı mikrobiyal türler arasında farklı etkiler gösterebilir. Mikroorganizmaların üremelerini sınırlayan biyotik faktörlere mikroorganizmaların aynı besin için rekabeti, abiyotik faktörlere ise pH, sıcaklık, çözülmüş oksijen ihtiyacı, inhibitör maddelerin varlığı örnek gösterilebilir [27, 28].

Mikroorganizmanın üremeyebilmesi için bulunduğu ortamın o mikroorganizmaya özgü bir pH ve sıcaklıkta olması gerekmektedir. Besin ortamının sıcaklığı ve pH değeri, mikroorganizmanın besin kullanımındaki verimine etki eden parametrelerdendir. Besinlerin hücre zarından taşınmasını sağlayan enzimler ve diğer hücre içi enzimler optimal pH ve sıcaklık değerlerinde çalışırlar. Hem daha düşük hem de daha yüksek pH seviyeleri ve sıcaklıklar, bu enzimlerin aktivitesinin azalmasına neden olmaktadır [28].

Aerobik mikroorganizmaların büyümesi için oksijene ihtiyaç vardır. Oksijen besin ortamının yüzeyine difüzyonla transfer olmaktadır, dolayısıyla ortama sürekli karıştırma

uygulamak substratın oksijenle temasını arttırmaktadır. Anaerobik mikroorganizmalarda ise oksijen, enzimleri bloke eder ve inhibitör özelliği gösterir [25, 28].

Besin ortamındaki fenoller, pestisitler gibi kimyasallar veya yüksek konsantrasyondaki substratlar ve ürünler inhibitör olarak adlandırılır ve bunlar mikroorganizmanın üreme hızını ve verimini olumsuz yönde etkiler [25, 28].

2.2.3. Mikrobiyal Üreme Eğrisi

Mikrobiyal üreme, mikroorganizmanın hücre bileşenlerinin düzenli artışıyla büyüyen hücrenin bölünmesi şeklinde tanımlanabilir. Kesikli sistemde mikrobiyal üreme süreci besin ortamına üremesi istenen mikroorganizma kültürünün eklenmesiyle başlar ve beş aşamadaki üreme evreleriyle devam eder. Bu evreler Şekil 2.2.'de gösterilmiştir [26]:

1. Gecikme evresi: Kültürün ortama eklenmesinden hemen sonra başlayan bu süreçte hücreler yeni ortama uyum sağlar ve hücre sayısında artış gözlenmez.

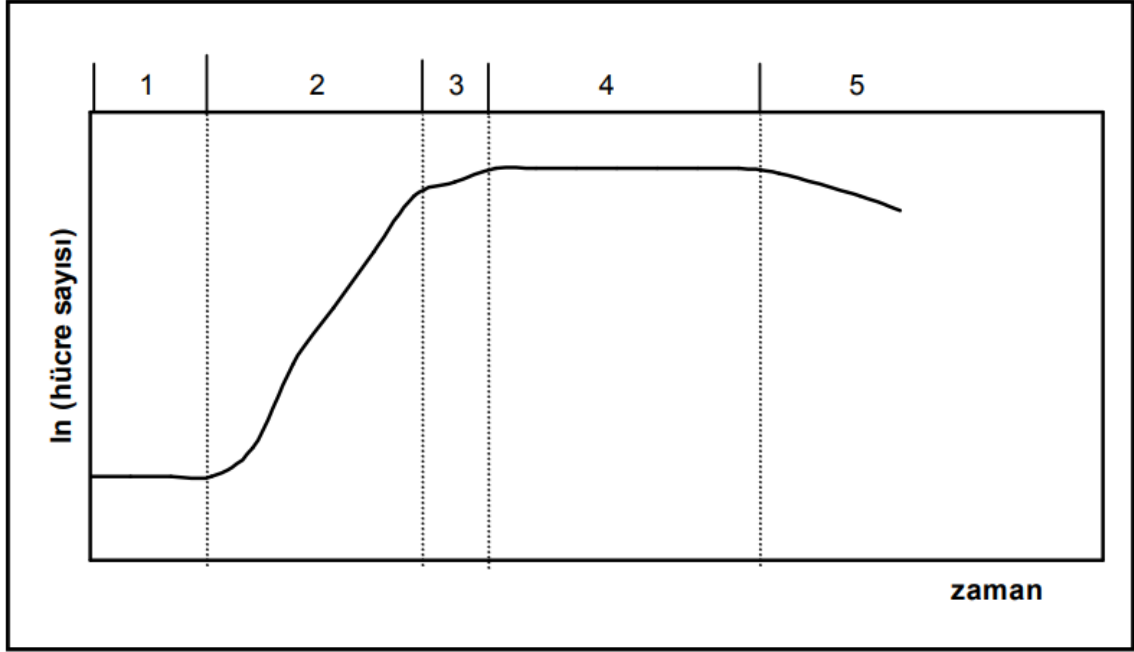
2. Üstel üreme evresi: Logaritmik üreme evresi olarak da adlandırılan bu aşamada hücreler yeni ortamlarına uyum sağlar. Hücrenin en hızlı büyüdüğü evredir. Bu evrede üstel olarak, hücre sayısı ve kütlesi artmaktadır.

3. Duraklama evresi: Besin ortamındaki bir ya da daha fazla besin maddesinin tükenmesi veya üretilen toksik yan ürünlerin birikimi sebebiyle bu evrede mikroorganizmaların büyümesi yavaşlamaktadır.

4. Durağan evre: Mikroorganizmanın üreme hızı ile ölüm hızına birbirine eşit olduğu evredir. Hücre sayısında net bir azalış ya da artış yoktur, net büyüme hızı sıfırdır.

5. Ölüm evresi: Sürecin son kısmı olan evredir. Üreme için gerekli olan besin maddeleri tükenmiş ve mikroorganizmanın yan ürün olarak ürettiği toksik maddeler çoğalmıştır. Bu

evrede mikroorganizmanın ölüm hızı üreme hızına göre oldukça yüksek olduğundan ortamdaki hücre derişimi hızla azalır. [26, 29]



Şekil 2.2. Mikrobiyal Üreme Eğrisi (1. Gecikme evresi, 2. Logaritmik evre, 3. Duraklama evresi, 4. Sabit evre, 5. Ölüm Evresi) [28]

2.2.4. Küf Mantarları

Küf mantarları, iç içe geçmiş, dallanan, kıl benzeri filamentlerden oluşan kompakt kütleler halinde büyüyen ökaryotik, çok hücreli, çok çekirdekli mantar ailesine mensup organizmalardır. Küf mantarları genellikle makroskobik boyuta ulaşabilir ve çıplak gözle görülebilir. Küf mantarlarının filamentlerine hif adı verilir. Hifler çıplak gözle görülebilecek kadar çok olduklarında miselyumları oluşturur. Hifler küf mantarlarının üremesini sağlayan sporları üretmektedir. Günlük hayatımızda karşılaştığımız, genellikle eşyaların ya da yiyeceklerin çürümesine sebep olan yapılar miselyumlardır [30, 31].

Küf mantarları hem eşeyli hem de eşeysiz üreyebilir. Eşeysiz üremede miselyumların bazı dalları havada büyür ve aseksüel sporları üretir. Mikroskobik yapıdaki sporlar küresel, çok hafif, kuru ve genellikle pigmentlidir. Kolay ıslanmadıkları, toz parçacıklarına tutunma eğiliminde oldukları ve toz parçacıkları gibi davrandıkları için, bu sporlar

kolaylıkla hava yoluyla taşınarak yeni yüzeylere ve yaşam alanlarına yayılır. Bu sporlar büyümeye uygun bir yere yerleştiklerinde hızla çimlenerek yeni bir küf kolonisi oluşturmaya başlar. Küf mantarlarının eşeyli üremesi ise iki farklı haploit gametin bir araya gelerek çiftleşmesiyle gerçekleşir. Eşeyli üreme askospor, zigospor, oospor ve basidiosporlar adlı spor türleri sayesinde gerçekleşir [24, 30-32].

Küf mantarları zorlu yaşam koşullarını tolere edebilir ve stres koşullarına uyum sağlayabilir. Bakteri veya mayalara göre daha az neme ihtiyaç duyar ve bakterilerin tolere edemeyeceği yoğunlukta şeker veya tuz içeren substratlarda çoğalabilir. Yüksek asitliği de içeren geniş bir pH aralığında (pH 2'den 9'a kadar) büyüyüp üreyebilirler. Ancak sorbik asit, sorbatlar, propionik asitler ve tuzları küf gelişimini engellemektedir. Küf mantarlarının çoğu aerobiktir, yani büyüme için oksijene ihtiyaç duyarlar ve oksijenin ortamda bol olması büyümeyi olumlu etkiler. Karbondioksit oluşumu küf mantarları için inhibitör işlevi görürken, bazı küf mantarları yüksek karbondioksit derişimlerine adapte olabilir. Küf mantarları geniş bir sıcaklık aralığında büyürler, ancak çoğunun optimum büyüme sıcaklıkları 25-35°C arasındadır. Bazı küfler 0-5°C'ye kadar düşük sıcaklıklarda gelişebilir ve hatta bazıları donma noktasının altında bile yaşamlarını sürdürebilir. Bazı küf mantarları ise 60°C'nin üzerinde gelişebilir [30, 33].

Küf mantarları beslenme gereksinimleri için karbon ve azot kaynaklarına ihtiyaç duyarlar. Kendi vitaminlerini ve büyüme faktörlerini kendileri sentezleme yeteneğine sahiptirler. Küf mantarları, glikoz gibi basit karbon kaynaklarının yanı sıra nişasta ve selüloz gibi karmaşık karbonhidratları da kolaylıkla kullanabilir. Küf mantarları ayrıca azot ve amonyum tuzları formundaki inorganik azotun yanı sıra proteinler, amino asitler ve nükleik asitlerde bulunan organik azotu da kullanabilir [30].

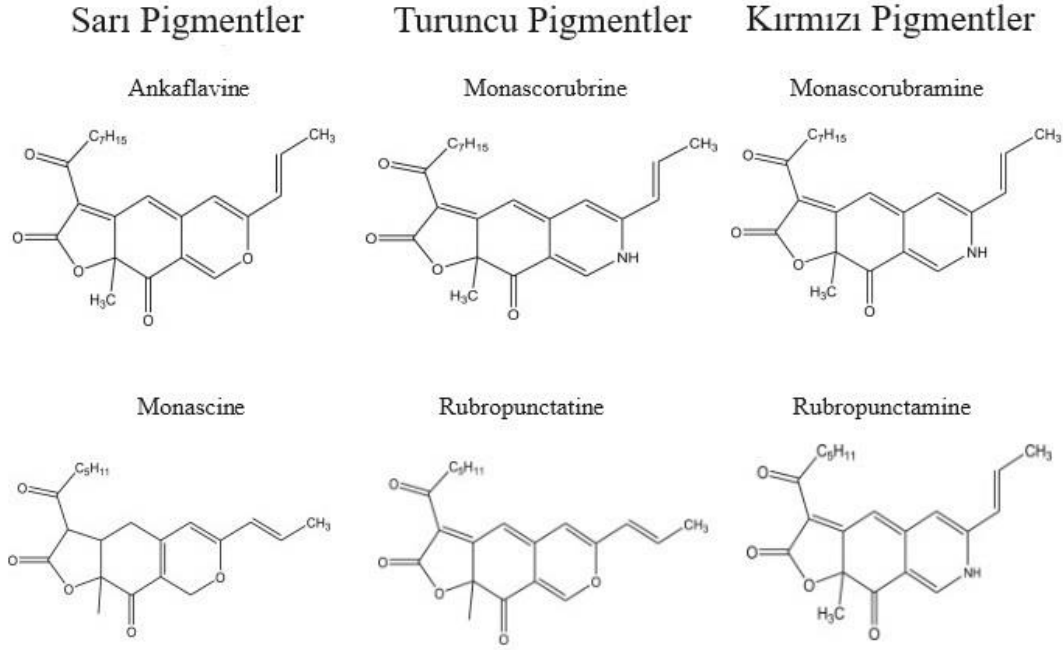
2.2.4.1. *Monascus* Türü Küf Mantarları

Monascus türü küf mantarları, Ascomycetes sınıfına ve Monascaceae familyasına ait mikroorganizmalardır. Görüntüsü renksizden kahverengiye doğru çeşitlilik göstermektedir. *Monascus* türleri askosporlarıyla ayırt edilmektedir, bu yapılar genellikle küresel ya da ovaldir. Mikroorganizmanın gelişiminin erken dönemlerinde miselyumu

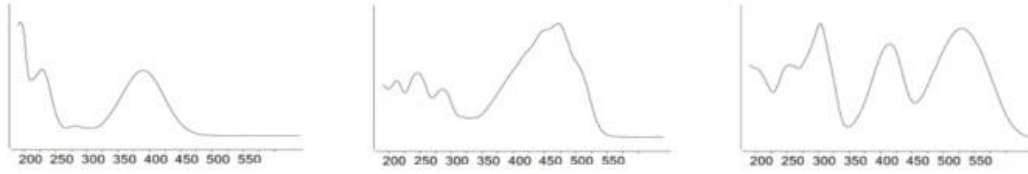
beyaz olmasına karşın ilerleyen zamanlarda hızla turuncuya ve sonrasında belirgin bir şekilde kırmızıya dönüşmektedir. Kültür yaşlandıkça alt tabakada koyu kırmızı bir renk bulunur. Literatürde yirmiden fazla *Monascus* türü yer almaktadır, ancak yalnızca dokuz tanesinin kullanımı uluslararası olarak tanınmıştır. Tanınan türlere *M. argentinensis*, *M. eremophilus*, *M. ruber*, *M. lunisporas*, *M. pilosus*, *M. purpureus*, ve *M. sanguineus* örnek verilebilir [34, 35].

2.2.4.2. *Monascus* Pigmentleri

Monascus türü küf mantarları tarafından fermantasyon yoluyla üretilen ve ikincil metabolit olarak sentezlenen *Monascus* pigmentleri azofilon grubuna aittir. Aminofiller olarak da adlandırılan bu pigmentler sarı, turuncu ve kırmızı renkte olabilirler. Sarı olanlara örnek ankaflavin ($C_{23}H_{30}O_5$) ve monascin ($C_{21}H_{26}O_5$), turuncu olanlara örnek, monascorubin ($C_{23}H_{26}O_5$) ve rubropunctatin ($C_{12}H_{22}O_5$); kırmızı olanlara örnek, monoscorubramine ($C_{23}H_{27}NO_4$) ve rubropunctamine ($C_{21}H_{23}NO_4$) verilebilir (Şekil 2.3). *Monascus* pigment üretimi için kullanılan türler arasında *M. purpureus*, *M. ruber* ve *M. anka* sayılabilir. [9, 13, 34].

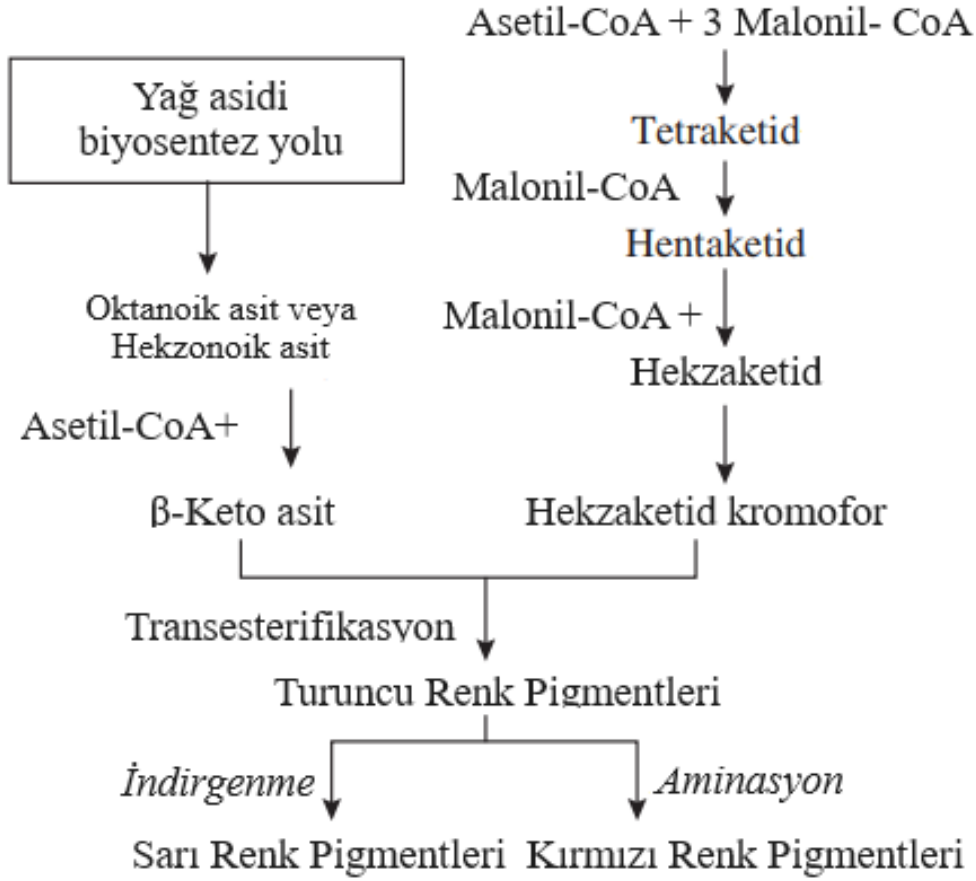


Sırasıyla Sarı, Turuncu ve Kırmızı Pigmentler İçin mAU'ya karşı dalga boyu grafikleri (nm)



Şekil 2.3. Sarı, turuncu ve kırmızı *Monascus* pigmentlerinin kimyasal yapıları ve bunlara karşılık gelen UV-Visible spektrumları [10, 13]

Şekil 2.4'te gösterildiği üzere *Monascus* pigmentleri poliketid sentezi ve keto asit sentezi sonucu oluşmaktadır. 1 mol asetatın 5 mol malonatla birleşmesiyle heksaketid kromofor adı verilen poliketid yapı meydana gelir. Ayrıca oktanoik asit veya hekzonoik asit gibi orta zincirli yağ asitleri β -keto asite dönüşerek transesterifikasyon reaksiyonu yoluyla turuncu bir pigment olan monaskorubrini oluşturmak üzere poliketid kromoforuna bağlanır. Turuncu pigment daha sonra bir hidrojenasyon reaksiyonu yoluyla sarı pigmente (monascin ve ankaflavin) oksitlenir. Aynı zamanda, turuncu pigment ve amino asitler, aminasyon reaksiyonu yoluyla kırmızı pigmentleri (monaskorubramin ve rubropunktamin) oluşturur. Sonuç olarak kırmızı ve sarı pigmentlerin turuncu pigmentin indirgenmiş versiyonları olduğu söylenebilir. [35, 36].



Şekil 2.4. *Monascus* pigmentlerinin tahmini biyosentezi [55]

Monascus pigmentleri renk pigmentlerinden ankaflavine ($C_{23}H_{30}O_5$), monascin ($C_{21}H_{26}O_5$), rubropunctatine ($C_{12}H_{22}O_5$), monascorubrine ($C_{23}H_{26}O_5$), rubropunctamine ($C_{21}H_{23}NO_4$) ve monascorubramine ($C_{23}H_{27}NO_4$) alkolde, N-glutarylrubropunctamine ($C_{26}H_{29}NO_8$), N-glutarylmonascorubramine ($C_{28}H_{33}NO_8$), N-glucosylrubropunctamine ($C_{27}H_{33}NO_9$) ve N-glucosylmonascorubramine ($C_{29}H_{37}NO_9$) ise suda çözünmektedir [14].

2.2.4.3. *Monascus* Pigmentlerinin Üretimi

Monascus küf mantarları kullanılarak pigment üretimi katı ya da sıvı besin ortamlarında fermantasyonla gerçekleştirilir. Substratın katı olduğu katı hal fermantasyonunda ortam düşük miktarda su içerdiğinden, yüksek hacimsel üretkenlik, konsantrasyon hedef bileşikler, yüksek substrat derişimine tolerans ve daha az atık ve su üretimi sağlanır. Öte yandan katı

hal fermantasyonunda, ölçek büyütme ve pH, ısı, nem ve besin homojenizasyonu gibi proses parametrelerinin kontrolü zordur. Ek olarak ürünün saflığıyla ilgili problemler, ortamın heterojenliği ve kullanılan matrisin karmaşıklığı nedeniyle geri kazanım ve saflaştırma maliyetleri de önem kazanır [37].

Sıvı besin ortamında gerçekleşen batık kültür fermantasyonunda ise, ölçek büyütme ve pH, ısı, nem, gibi proses parametrelerinin kontrolü daha kolaydır. Besin homojenizasyonu ise bir diğer avantajdır. Fermantasyon ortamına salgılanan pigmentler santrifüjleme veya basit çözücü ekstraksiyonu gibi bir ayırma adımında geri kazanılır. Fermantasyon için seçilen yöntem bakılmaksızın, seçilen ortamdaki besinlerin mevcudiyeti ve fermantasyon koşulları, kullanılan mantar türlerine göre pigmentlerin sentezini doğrudan etkilemektedir [37].

Pigment üretimini etkileyen başlıca parametreler, karbon kaynağı, azot kaynağı, sıcaklık ve pH'tır. Karbon ve azot kaynakları hücre büyümesinde, kalitesinde, çoğalmasında ve pigment üretiminde önemli rol oynamaktadır. Pigment üretiminde laktoz, fruktoz, maltoz, galaktoz ve glikoz gibi çeşitli karbon kaynakları kullanılabilir. Pigment üretimi için azot kaynakları arasında amonyum nitrat ve glutamattan sonra amonyum klorür sayılabilir. [38].

Monascus türü küf mantarları genellikle 18-45°C arasında büyüebilir ve en uygun üreme sıcaklığı 30-38°C aralığıdır. Mikroorganizmanın büyümesi ve mikrobiyal pigment üretimi ortam pH'ından da büyük ölçüde etkilenmektedir. Düşük pH'larda sarı renk pigmentler, daha yüksek pH'larda ise kırmızı renk pigmentler sentezlenmektedir. [38, 39]

2.2.4.4. *Monascus* Pigmentlerinin Kullanım Alanları

Doğu Asya'da 1000 yıldır güvenilir gıda renklendiricileri olarak kullanılan *Monascus* pigmentleri, antimikrobiyal özellikleri ve çekici renkleri nedeniyle günümüzde, içeceklerde, et ürünlerinde, şekerlemelerde ve daha birçok gıda maddesinde yaygın olarak kullanılmaktadır. *Monascus* pigmentleri gıda katkı maddesi olarak kullanıldığında gıda üzerinde olumlu etkiler göstermektedir. Örneğin buğday ununa *Monascus* pigmentlerinin

eklenmesi daha yüksek amilaz enzimatik aktivitesi ve su tutma kapasitesi sağlamış ve somunların mayalanma süresini kısaltmıştır [40].

Monascus pigmentleri ve türevlerinin farmasötik uygulamaları oldukça çeşitlidir. Bu pigmentler antikanser, antidiyabetik, antiinflamatuvar, antimikrobiyal, antiobezite, antioksidatif, nörositoprotektif, antihipertansif, hepatoprotektif ve antiaterosklerotik aktiviteler sergiler. Örneğin rubropunctatini, lipozomal nanopartikülleri dağıtım aracı olarak kanser tedavisinde kullanılmıştır. [41, 42].

Monascus pigmentlerinin kozmetik, deri, tekstil ve baskı gibi birçok endüstriyel alanda kullanımı da giderek yaygınlaşmaktadır. Ayrıca literatür çalışmalarına dayanarak pigmentlerin kullanımının, gıda ambalajı, patojenlerin azaltılması ve hatta endüstriyel atık su yönetimi gibi uygulama alanlarına kadar genişletilebileceği düşünülmektedir [40].

2.3. Gıda Endüstrisi Atıkları

Geçtiğimiz yıllarda gıda endüstrisi önemli ölçüde ilerleme kat ederek dünya genelinde en hızlı gelişen sektörlerden biri haline gelmiştir. Bu endüstrinin bel kemiği olan gıda fabrikalarında, gıda üretim süreci sonucunda büyük miktarlarda gıda atığı oluşmaktadır ve bu atıkların büyük bir kısmı üretimle eş zamanlı olarak değişik yöntemlerle imha edilmektedir. İmha edilmeyen atıklar ise hayvan yemi, gübre gibi ekonomik değeri daha az olan ürünlerin üretiminde kullanılmaktadır. Gıda endüstrisi kaynaklı atıkların değerlendirilmesi çevre kirliliğinin önlenmesi, katma değeri yüksek ürünlerin üretimi ve çeşitli ürün üretimi ve sürdürülebilirlik açısından önemlidir [1, 43].

2.3.1 Sebze ve Meyve Endüstrisi Atıkları

Büyük ekonomik kayıplara sebep olabilecek milyonlarca ton atık sebze ve meyve endüstrisinde üretilmektedir. Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü sebze ve meyvelerdeki israfın diğer gıdalarla karşılaştırıldığında en yüksek seviyede olduğunu ve bu oranın %60 'a kadar çıkabileceğini tahmin etmektedir [44, 45].

Gıda atıkları temelde posa, çekirdek ve kabuktan oluşmaktadır ve büyük miktarlarda karbonhidrat, azotlu bileşikler, yağlar, mineraller ve karotenoidler, polifenoller, diyet lifleri, vitaminler, antioksidanlar ve enzimleri içermektedir. Örneğin, meyve atıklarından üzüm çekirdeğiyle kabuğu zengin antosiyanin ve diğer fenolik maddeleri, elma posası polifenolleri, turunçgil posası flavanoid ve fenolik asitleri ihtiva etmesi nedeniyle çok önemli antioksidan kaynaklarıdır. Bu tür biyoaktif bileşiklerin gıda atıklarının kullanımıyla üretilmesi veya geri kazanılması sürdürülebilirlik ve atık yönetimi açısından önemli bir adım olarak görülmektedir [1, 25, 45].

Meyve ve sebze atıklarının yapısında bulunan basit şekerlerin doğrudan suya ekstraksiyonuyla elde edilebilmesi gibi, bu atıkların yapısında bulunan ve suda çözünmeyen polisakkaritlerinin asidik, bazik ve enzimatik hidroliz vb. çeşitli ön işlemlerle parçalanmasıyla da basit şekerler elde edilebilmektedir. Bu işlemler uygun koşullar altında gerçekleştirilirse, elde edilen şeker açısından zengin çözeltide ayrıca yer alan vitaminler, yağ asitleri ve mineraller gibi birçok değerli bileşen, yüksek katma değerli ürünlerin fermantasyonu için elverişli bir besin ortamı olarak kullanılabilir [26].

Meyve ve sebzelerin bileşimleri yetiştirildikleri bölgenin iklim ve çevre koşullarına, toprağın niteliğine, toplanan ürünün olgunluk düzeyine ve yetiştirme tekniğine bağlı olarak farklılık gösterir. Meyve ve sebzelerin içeriğinde su, karbonhidratlar, yağlar, proteinler, vitaminler ve mineral maddeler bulunur. Besin ögeleri bakımından sebzelerin genel bileşiminde %90-95 su en yüksek oranda, %1-3 azotlu maddeler, %1'den az yağ, %3-7 karbonhidrat ve %1-2 mineral madde bulunmaktadır. Meyvelerin genel bileşimini ise; %80-85 su en yüksek oranda, %0,2-1,0 azotlu maddeler, %0,1-0,3 yağ, %3-18 karbonhidrat ve %0,3-0,8 mineral maddelerden oluşturmaktadır [26, 46].

Karbonhidratlar: Esas olarak karbon, hidrojen ve oksijen elementlerini içeren bileşiklerdir. Sebze ve meyvelerin kuru ağırlığının yaklaşık %50-80'ini oluşturdukları tahmin edilen karbonhidratlar, meyve ve sebzelerin kokusuna, aromasına, rengine ve besin değerine katkı sağlamaktadır. Moleküler yapılarına bağlı olarak karbonhidratlar 3 grupta toplanmaktadır:

1. Monosakkaritler: Daha küçük karbonhidratlara hidrolize edilemedikleri için en basit karbonhidratlardır. Monosakkaritlerin dört karbonlu olanına tetroz, beş karbonlu olanına pentoz, altı karbonlu olanına ise heksoz denir. Meyve ve sebzelerdeki en önemli monosakkaritler glikoz ve fruktozdur. Diğer monosakkaritler arasında mannoz, galaktoz, ksiloz ve arabinoz yer almaktadır. Suda çözünebilen monosakkaritler bazı sebze ve meyvelerde çok yüksek oranlarda bulunmaktadır.

2. Oligosakkaritler: Glikozidik bağlarla bağlanan 2-10 ünite monosakkaritten oluşan karbonhidratlardır. Disakkaritler, trisakkaritler, tetrasakkaritler ve pentasakkaritler bu gruba aittir. Laktoz, glikoz ve galaktozun disakkarit yapıdadır ve iki molekül glikoz maltozu, glikoz ve fruktoz ise fruktozu oluşturmaktadır. Suda çözünebilen disakkaritler, ananas, kayısı, şeftali, havuç, şeker kamışı ve şeker pancarı gibi pek çok sebze ve meyvede yüksek oranda bulunmaktadır.

3. Polisakkaritler: Polimerik yapıda olan polisakkaritler monosakkaritlerin glikozit bağı ile birleşmesiyle oluşur. Nişasta, sebze ve meyvelerdeki ana rezerv polisakkarittir. Yapısal polisakkaritler (selüloz, hemiselüloz ve pektinler) genellikle hücre duvarında bulunur ve özellikle bitki hücrelerinin dokusu ve sertliği açısından oldukça önemlidirler. Parçalanmaya karşı oldukça dirençli olan selüloz ve hemiselüloz suda çözünmez. Kivi, elma, muz, mısır, patates, bezelye, havuç gibi pek çok sebze ve meyve polisakkaritleri yüksek oranda içermektedir [26, 47].

Proteinler: Bitki büyümesi ve gelişiminin her yönüne katılan önemli makromoleküllerdir. Yapıtaşları aminoasitlerdir. Kimyasal reaksiyonlarda biyokatalizör olarak kullanılması, membrandan taşınmanın kolaylaştırılması, hücre içi yapının korunması gibi birçok süreçte ve ayrıca elektron taşınmasını içeren enerji üreten reaksiyonlarda rol alırlar. Bitkilerde protein sentezi için başlangıçta azot asimile edilir ve bitki içinde önemli azot taşıyıcılarını oluşturan glutamin, glutamat, asparajin ve aspartata organik olarak dahil edilir. Bu birincil amino asitler, birçok bitkideki toplam serbest amino asit havuzunun ana bileşikleridir ve diğer amino asitlerin sentezi için kullanılır. Protein sentezinin gerçekleşebilmesi için

amino asitlerin temininin, gerekli proteinleri oluşturmaya yeterli olması gerekir. Bitkilerde çoğu bitki yapısının karbonhidrat içeriğinin fazla olması nedeniyle protein varlığı düşüktür. Ancak sert kabuklu meyveler ve baklagillerde protein içeriği yüksektir. [26, 47]

Enzimler: Protein yapıdaki molekül ya da bileşiklerdir. Meyve ve sebzelerde çeşitli enzimler bulunmaktadır. Bunların arasında karbonhidratların parçalanmasında (sellülazlar, sakkarazlar, amilazlar, vb.) veya lipidlerin parçalanmasında (lipazlar vb.) ya da proteinlerin parçalanmasında (proteazlar ve transminazlar vb.) rol alan enzimler ile esterazlar, peroksidazlar ve katalazlar sayılabilir. Bazı enzimler son aşamada ürünün kalitesini olumsuz yönde etkileyebilirler. Polifenol oksidaz, peroksidaz ve askorbik asit oksidaz gibi enzimler, oksidatif bozunmalar yoluyla üründe kötü tat, kötü koku ve renk bozulmasına neden olurken, pektinaz, poligalakturonaz ve pektin metil esteraz enzimleri dokuları yumuşatır. [26, 48]

Lipitler: Sebze ve meyvelerin yapı taşlarından olan lipitler, suda çözünmezler. Lipitler, basit lipitler (gliseridler, mumlar, alkollerin esterleri vb.) fosfor ve azot içeren lipitler (gliserin fosfatitler, asetal fosfatitler vb.), lipit türevleri (steroller, lipovitaminler, hidrokarbonlar vb.) ve bileşik lipitler (sakkarolipitler ve lipoproteinler) şeklinde sınıflandırılırlar [26, 49].

Katı ve sıvı yağlar birçok organizmada depolanan enerjinin ana formlarıdır; fosfolipitler ve steroller ise biyolojik membranların ana yapısal bileşenleridir. Diğer lipitler, nispeten küçük miktarlarda bulunmalarına karşın, enzim kofaktörleri, elektron taşıyıcıları, ışık emici pigmentler, proteinler için hidrofobik çapalar, membran protein katlanmasına yardımcı olan “şaperonlar”, sindirim kanalındaki emülsifiye edici maddeler ve hormonlar olarak önemli roller oynarlar. Gliseritler, sfingolipitler, yağ asitleri, steroller, prenol lipitleri bitkiler tarafından sentezlenmektedir. [49].

Vitaminler: Meyve ve sebzeler, vitaminler, diyet lifleri ve fitokimyasallar dahil olmak üzere birçok sağlıklı bileşenin ana kaynağıdır. Vitaminler, hem suda çözünen (B ve C

vitaminleri) hem de yağda çözünen (A, D, E ve K vitaminleri) olmak üzere güçlü antioksidan potansiyeline sahip temel biyoaktif bileşiklerdir ve kanser, kardiyovasküler hastalıklar gibi çeşitli kronik hastalıkların riskini sınırladıkları düşünülmektedir. Vitamin olarak adlandırılan 18'den fazla bitki besin bileşiği bulunmaktadır. Bunlar yağda çözünenler (A, D, E ve K vitaminleri) ve suda çözünenler (B1, B2, B3, B5, B6, B7 vitaminleri, B9 veya folik asit, B12 ve C) olarak sınıflandırılır [47].

Vitaminler, redoks kimyası ve bitkinin hayatta kalması için çok önemli olan birçok reaksiyonda kofaktör olarak rol almaları nedeniyle bitki gelişimi için hücrel metabolizmanın önemli düzenleyicileridir. Bunların çoğu (karotenoidler (provitamin A), askorbik asit (C vitamini), tokoferoller (E vitamini), B1 vitamini (tiamin), B6 vitamini, B9 vitamini (folik asit) ve K1 vitamini (filokinon)) bitki hücresinde güçlü bir antioksidan kapasiteye sahiptir. Havuç, patates, kayısı kavun vb. sarı renkli meyve ve sebzelerde önemli miktarda provitamin A niteliğinde karotenoid; biber, kivi, frenk üzümü, brokoli, ıspanak, çilek gibi sebze meyvelerde C vitamini; zeytin, fındık, yer fıstığı, avokadoda ve bademde ise yüksek miktarda E vitamini bulunmaktadır [26, 47].

Mineral Maddeler: Meyve ve sebzelerdeki minerallerin büyük kısmını potasyum (K) oluşturmaktadır. Ayrıca meyve ve sebzelerde Ca, Mg, P, S, Cl ve düşük miktarda Na, Fe gibi elementler ve Zn, Cu, Mn, Co, Mo ve I iz elementler bulunmaktadır [50].

2.3.1.1. Portakal Atıkları

Portakal, mandalina, limon gibi çeşitli bitki türlerinin ağacı ve meyvesi turunçgil olarak adlandırılmaktadır. 2022-2023 pazarlama verileri göz önüne alındığında, dünyadaki 100 milyon tonluk turunçgil üretiminin %47'sini portakal oluşturmaktadır. Brezilya, Çin ve AB en önemli üretici ülkelerdir. Ülkemizde portakalın üretim alanlarının Akdeniz ve Ege bölgelerinin daha çok kıyı şeridinde olduğu görülmektedir. 2022 yılında 1,3 milyon ton portakal üretimi yapılmıştır ve üretimde önde gelen iller sırasıyla Antalya, Adana, Muğla ve Hatay'dır [51, 52].

100 g portakal meyvesinde 11,75 g karbonhidrat, 2,40 g diyet lifi, 0,94 g protein, 0,12 g toplam yağ, 181 mg potasyum, 40 mg kalsiyum, 53,20 mg C vitamini, 0,18 mg E vitamini, 225 IU A vitamini, bulunmaktadır. Ayrıca portakal antioksidan özelliğe sahip α -karoten, β -karoten, β -kriptoksantin ve ksantofiller gibi bileşenleri içermektedir [53]. Literatürde, portakal kabuğunun %23 şeker, %22 selüloz, %25 pektin ve %11 hemiselüloz içerdiği belirtilmiştir. Ancak bu içerik portakalın türüne ve yetiştirme koşullarına göre farklılık gösterebilmektedir [54].

En çok yetiştirilen ağaç meyvesi olan portakal; kurutulmuş ürünler, marmelatlar, reçel, portakal suyu, aroma maddeleri gibi birçok ürünün üretiminde yaygın olarak kullanılıp işlenmektedir. Portakal işleme prosesinde meyve ağırlığının yaklaşık olarak yarısı meyve suyuna dönüşürken, geriye kalan kısım; kabuk, küspe, çekirdek, vb. şeklinde posalı atık olarak kalmaktadır. Bu atık biyokütle; şeker, lif, protein, mineral, yağ, organik asit ve vitaminler açısından oldukça zengindir. Portakalların işlenmesi sonucu oluşan bu atıkların uygun şekilde değerlendirilmesiyle katma değeri yüksek ürünler elde etmek mümkündür [26, 55].

Literatürde portakal kabuğu atıklarından farklı ürünlerin eldesiyle ilgili çeşitli çalışmalar yer almaktadır. Bu çalışmaların büyük kısmını, fenolik ve flavonoid bileşiklerin, pektinin, limonenin ve esansiyel yağların kazanımı amacıyla uygulanan geleneksel çözücüler ile ekstraksiyon, süperkritik su ekstraksiyonu, mikrodalga destekli ekstraksiyon ve derin ötektik çözücülerle yeşil ekstraksiyon oluşturmaktadır. Ayrıca portakal kabuğundan biyoyağ, biyokömür, diyet lifi, endüstriyel enzim, tek hücre proteini, adsorbent, etanol ve biyogaz üretimiyle ilgili çalışmalara da rastlanmaktadır. Bunlara ek olarak literatürde portakal kabuğunun mikrodalga pirolizinden üretilen aktif karbonun, katalizör destek malzemesi olarak kullanılabileceğiyle de ilgili çalışmalar mevcuttur [26, 55-57].

2.3.1.2 Üzüm Atıkları

Üzüm dünya üzerinde yaygın olarak yetiştirilen meyvelerdendir. 2021 yılında dünya genelinde 73 milyon ton üzüm üretimi yapılmıştır. Ülkemizde 2022 yılı üretim döneminde 3,6 milyon ton üzüm üretilmiştir. Sırasıyla Manisa, Mardin ve Denizli üzüm

üretiminin en yoğun olduğu şehirlerdir. Ülkemizdeki üzüm üretiminin %38,4'ünü çekirdekli sofralık üzüm, %28,2'sini çekirdeksiz kurutmalık üzüm oluşturmaktadır. Ülkemizin çekirdeksiz kuru üzüm tüketimi 35-50 bin ton civarındadır [58].

Yüksek oranda su içeren yaş üzüm meyvesinin 100 gramında 80,5 g su, temelde fruktoz ve glikoz olmak üzere 18,1 g karbonhidrat, 0,72 g protein, 0,16 g toplam yağ, 191 mg potasyum, 20 mg fosfor, 10 mg kalsiyum, 7 mg magnezyum, 3,2 mg C vitamini, 0,36 mg demir, 0,9 mg diyet lifi bulunmaktadır. Üzüm meyvesinin içeriğindeki antioksidan özelliklere sahip fenolik bileşiklerin anti-tümör, anti-mikrobiyal, yaşlanma karşıtı ve anti-inflamatuar aktivite göstermekte ve kardiyovasküler hastalıkların önlenmesinde etkili olduğu bilinmektedir [26, 59].

Üzüm en çok şarapçılık endüstrisi tarafından kullanılmakla birlikte, sirke, meyve suyu, pekmez, çeşitli alkollü içecekler (şampanya, rakı, likör vb.) üzüm şurubu gibi sıvı gıdalarla, pestil, sucuk, bastık, katı pekmez ve üzüm tarhanası gibi katı gıdaların yapımında da kullanılmaktadır. Genel olarak üzüm posasının işleminde kullanılan üzümün ağırlığının %20-30'u arasında olduğu görülmüştür. Üzüm posasında glikoz, fruktoz, az miktarda sakkaroz gibi şekerler, lignin, gluklan, ksilan ve eser miktarda galaktan, arabinan, mannan gibi polisakkaritler, proteinler, antosiyaninler, organik asitler, tanenler ve fenolik bileşikler vardır [26, 60, 61]

Şarapçılık endüstrisinde üzüm şirasının elde edildiği proseslerin hemen hepsinde yüksek miktarda atık üzüm oluşmaktadır. Üzüme uygulanan sıkma işlemi sonrasında oluşan bu atığa cibre adı verilmektedir. Başka bir deyişle cibre, sırası alınan üzümün geriye kalan, kabuğu ve çekirdeği içeren posadır. Üzüm posasının miktarı, üzümün çeşidine, presleme işlemine ve fermantasyon adımlarına bağlıdır [26, 60, 61].

Literatürde üzüm atıklarının geri kazanımı ve katma değeri yüksek ürünlere dönüştürülmesiyle ilgili çeşitli çevre dostu teknolojilerin önerildiği ve kullanıldığı çalışmaların mevcut olduğu görülmektedir. Üzüm atıklarının fermantasyonuyla laktik asit, yüzey aktif maddeler, ksilitol, etanol ve diğer bileşikler elde edilebilmektedir. Ek

olarak, üzüm atıklarında bulunan kompleks fenol karışımlar, kemoterapötik ajanlar olarak etkilidir ve tıpta kullanılmaktadır. Ayrıca üzüm atıklarının, fonksiyonel gıda olarak (diyet lifi ve polifenoller), gıda işlemede (biyosümfaktanlar), kozmetikte (üzüm çekirdeği yağı ve antioksidanlar), farmasötik ve takviyelerde (üzüm posası tozu) kullanılabilirdiği literatürdeki çalışmalarda gösterilmiştir [62, 63].

2.3.2. Gıda Endüstrisi Yan Ürünleri

2.3.2.1 Şeker Endüstrisi Yan Ürünleri

Önümüzdeki yıllarda başta Asya ve Afrika olmak üzere düşük ve orta gelirli ülkelerde gelir artışıyla paralel olarak kişi başına şeker tüketiminin de artması beklenmektedir. Küresel tatlandırıcı kullanımının yaklaşık %80'ini oluşturan şekerin, en çok tüketilen kalorili tatlandırıcı olmaya devam edeceği öngörülmektedir [64]. Şeker üretimindeki bu artışın, şeker endüstrisi atıklarında da orantılı bir artışa neden olacağı anlamına gelmektedir. Şeker endüstrisi atıklarının ve atık sularının çevre kirliliğini arttırması beklenen bir sonuçtur [65].

Şeker üretim sürecinde iki ana işlem yer almaktadır. Bunlar, şeker kamışı ya da şeker pancarının ham şekere dönüştürülmesi ve ham şekerin rafine şekere dönüştürülmesi işlemleridir [66]. Çoğunla tropikal ve subtropikal bölgelerde yetişen şeker kamışı dünya genelinde toplam şeker mahsulü üretiminde şeker pancarına göre daha çok tercih edilmektedir. Pancar şekeri, dünya şeker üretiminin %20'sini oluştururken, kalan %80'lik kısmı şeker kamışı oluşturmaktadır [64, 67]. Ülkemizde şeker üretimi yaygın olarak şeker pancarı kullanılmaktadır. Türkiye'de 2022 verilerine göre yıllık şeker tüketimini oransal olarak %90 pancar şekeri ve %10 nişasta bazlı şeker oluşturmaktadır [68].

Şeker üretim endüstrisinde şeker pancarının işlenmesi sırasında, büyük miktarda selüloz, hemiselüloz ve ligninden oluşan büyük miktarda şeker pancarı küspesi, kireç kalıntısı ve melas açığa çıkmaktadır. Bu şeker pancarı işleme atıklarının biyoteknolojik yaklaşımlarla uygun maliyetli ve çevre dostu yöntemlerle katma değeri yüksek ürünlere dönüştürülmesi oldukça önemlidir [67].

2.3.2.2 Melas

Melas, şeker pancarı veya şeker kamışı kullanılarak şeker üretimi sürecinde ortaya çıkan değerli bir yan üründür. Kamış veya pancar melası ham üründen kristalizasyon yoluyla ekonomik olarak daha fazla şeker elde edilemediğinde geriye kalan, viskoz, koyu renkli akıntı şurubudur. Melas, üretim için kullanılan şeker pancarının %4-5'i kadardır. Melas, yapısında fermente edilebilir yaklaşık %50 oranında sakkaroz şekeri içermektedir. Bunun yanı sıra melasta betain, laktik asit, amino asitler, mineraller, vitaminler ve fenolikler gibi organik bileşikler bulunmaktadır [69, 70].

Melasın kullanım alanları arasında

- Fermantasyon hammaddesi olarak etil alkol üretimi
- Sirke, hamur mayası ve yemlik maya yapımı
- Hayvan yemleri yapımı
- İnşaat harçları
- İçilebilir kalitedeki içki üretimi
- Briket kömür imalli
- Kozmetik sanayii

sayılabilir [68].

Literatürde melastan katma değeri yüksek ürünlerin oluşturulmasıyla ilgili birçok çevre dostu çalışmaya rastlanmaktadır. Pattanakittivorakul ve arkadaşları [71] yaptıkları bir çalışmada melasın maya türlerinin büyümesi ve metabolizması için gerekli olan karbon kaynaklarını sağlayabildiğinden fermantasyonla etanol üretimi için uygun olduğunu göstermişlerdir. Biyoetanol gibi biyoyakıtlar geleneksel olarak gıda tahılındaki nişastadan hidrolize edilen glikozdan üretilir. Bu nedenle glikoz yerine melastan biyoyakıt üretimi, gıda kaynaklarını korumaya yönelik bir stratejidir. Literatürde melastan pullulan, fruktooligosakkaritler, bütirik asit, dokosaheksaenoik asit, lipaz ve proteaz gibi bir dizi katma değeri yüksek biyolojik ürün ve endüstriyel enzimin üretimiyle ilgili çalışmaların da mevcut olduğu görülmektedir. Film oluşturma kabiliyetine sahip pullulan, gıda ambalaj malzemesi olma potansiyeline sahiptir ve fruktooligosakkaritler en önemli prebiyotikleri oluşturur. Bütirik asit ve dokosaheksaenoik asit gibi bazı yağ

asitleri insan beslenmesinde ve sağlığında önemli rol oynar. Ek olarak hem lipaz hem de proteaz önemli gıda enzimi preparatlarıdır [72].

2.3.3 Gıda Atıklarının Mikrobiyal Üretimde Kullanılması

Gıda atıkları kaynaklarına, özelliklerine ve uygulama proseslerine bağlı olarak farklı ürünler için potansiyel hammadde olarak kullanılabilir. Gıda atıkları, mikrobiyal proseslerle, çevre dostu yeşil yakıtlar, biyoplastikler, organik asitler, enzimler ve tek hücre proteini gibi katma değeri yüksek ürünlere dönüştürülebilir [73].

Gıda atıkları çeşitli ön işlemlerden geçirilerek anaerobik mikroorganizmalar sayesinde metan ve karbondioksit, karanlık fermantasyonla H₂, yağların transesterifikasyonu sonucunda biyodizel üretimi gibi çevre dostu yeşil yakıtlara dönüştürülebilmektedir [73]. Örneğin, Ma ve arkadaşlarının [74] yaptığı bir çalışmada uçucu yağ asitleri (örneğin laktik asit ve asetik asit) açısından zengin olan gıda atıklarının anaerobik fermantasyonunun atık suyu, biyodizel üretimi için hammadde olarak kullanılmıştır.

Gıda atıkları petrol türevlerinden üretilen plastiklerin yerine umut vaat eden, tamamen biyolojik olarak parçalanabilen bir plastik olan polihidroksialkanoatlar (PHA'lar)'ın üretimi için de kullanılmaktadır [73].

Yüksek miktarda çeşitli organik bileşik içeren gıda atıkları mikroorganizmalar sayesinde organik asitlerin üretiminde de yer almaktadır. Organik asit üretiminde öncelikle enzimatik bakteriler kullanılarak karmaşık karbonhidratlar basit şekerlere dönüştürülür ve bu fermante edilebilir şekerler daha sonra asidojenik bakteriler tarafından asetik, bütirik, laktik, sitrik, süksinik, tartarik asit vb. çeşitli organik asitlere fermente edilir [73]. Bu tür gıda atıkları mikrobiyal enzim üretiminde de kullanılmaktadır. Mushtaq ve arkadaşları [75] yaptıkları bir çalışmada karbon kaynağı olarak patates kabuğu atığını kullanarak fermantasyonla amilaz üretimini gerçekleştirmişlerdir.

Gıda atıkları karbon kaynağı olarak kullanılarak mantar, alg ve bakteri suşlarından tek hücre proteini (mikrobiyal protein) üretiminde de yer almaktadır [73]. Bertasini ve arkadaşları [76] yaptıkları bir çalışmada *Saccharomyces cerevisiae* ve besin atıklarını kullanarak hayvan beslenmesi için öngörülen tek hücre proteinlerini üretmişlerdir.

2.4. *Monascus purpureus* Küf Mantarıyla Gıda Atıklarından Pigment Üretimi

Literatürde *Monascus purpureus* küf mantarından farklı gıda atıklarının substrat olarak kullanımıyla çeşitli pigmentlerin üretimini kapsayan birçok çalışma bulunmaktadır. Yapılan çalışmalar kullanılan substratların ve mikroorganizmanın üreme koşullarının pigment üretimi üzerinde önemli etkileri olduğunu göstermiştir.

Silveria ve arkadaşları [77] yaptıkları bir çalışmada *M. purpureus* tarafından sıvı kültürde üzüm atığını kullanarak pigment üretimini gerçekleştirmişler ve üzüm atığının 30 g/L'ye kadar artmasıyla pigment üretiminin arttığını bildirmişlerdir.

2013 yılında yayınlanan bir çalışmada muz kabuğu, chiku kabuğu, papaya kabuğu, pirinç maltı ve melas gibi organik atıklardan biyopigment üretildiği ve en yüksek pigment üretiminin 30 °C'de, pH 6'da ve 10 günlük inkübasyon süresinde olduğu bildirilmiştir [78].

Yine 2013 yılında yayınlanan başka bir çalışmada, karbon kaynağı olarak şeker kamışı küspesi kullanılarak sıvı kültür fermantasyonunda *Monascus purpureus* ile kırmızı pigment üretimi incelenmiş ve azot kaynağı olarak pepton ve soya proteininin en iyi pigment verimini verdiği bildirilmiştir [79].

2018 yılında yayınlanan ve Kantifedaki ve arkadaşları [80] tarafından yapılan bir çalışmada portakal işleme atıkları, *M. purpureus* ve *P. purpurogenum* tarafından mantar pigmentlerinin üretimi için besin açısından zengin ortam olarak değerlendirilmiştir. Çalışmada, pigment üretimi için katı hal, yarı katı hal ve sıvı fermantasyon teknikleri kullanılmıştır.

2020 yılında Atalay ve arkadaşları [81] tarafından yapılan bir çalışmada ise bira atıkları kullanılarak sıvı kültür fermantasyonunda *Monascus purpureus* tarafından kırmızı pigmentin üretimi incelenmiştir. Çalışma 200 rpm çalkalama hızında, 7.0 başlangıç pH'ında, 50 mL'lik sıvı ortamda hacimce %2'lik aşılama ile 8 günde gerçekleştirilmiştir. Çeşitli azot kaynakları taranmış ve en yüksek pigment üretiminin monosodyum glutamat (7,5 g/L) ile elde edildiği bildirilmiştir. Pigmentin kinetiği ve biyokütle oluşumu, 8 gün boyunca optimize edilmiş fermantasyon koşullarında belirlenmiştir.

2022 yılında yapılan bir çalışmada ise *Monascus purpureus*'un pigment ve biyokütle üretimi için büyüme ortamı olarak atık su ve patates tozu atıklarının kullanıldığı belirlenmiştir. Optimum üretim parametreleri %7,81'lik patates tozu atık konsantrasyonu, 12,82 günlük fermantasyon süresi ve %2,87'lik pepton konsantrasyonu olarak tespit edilmiştir. Çalışmada en yüksek biyokütle ağırlığı 0,126 g/ml olarak tayin edilmiştir [82].

Bu tez çalışmasında melas, portakal atıkları ve üzüm atıkları kullanılarak elde edilen farklı sıvı besin ortamlarında *Monascus purpureus* küf mantarıyla sarı ve kırmızı pigmentlerin üretimi araştırılmıştır. Böylece katma değeri yüksek bir ürünün eldesi sağlanmış ve sıfır atık yaklaşımına katkıda bulunulmuştur.

3. DENEY SİSTEMİNİN MATEMATİKSEL TANIMLANMASI

3.1. Kesikli Karıştırmalı Kapta Mikrobiyal Üremenin ve Pigment Üretiminin Matematiksel Tanımlanması

3.1.1. Mikroorganizmanın Özgül Üreme Hızı

Kesikli sistemde *M. purpureus* küf mantarının üremesinde üstel üreme bölgesindeki mikroorganizma derişiminin zamanla değişimi Eşitlik 3.1.'de gösterilmiştir [24].

$$\frac{dX}{dt} = \mu X \quad (3.1)$$

Burada;

μ : Özgül üreme hız sabiti (gün^{-1})

X: Üstel üreme bölgesinde herhangi bir zamandaki kuru mikroorganizma derişimi (g kuru mikroorganizma/L)

t: Zaman (gün)'dir.

Eşitlik 3.1'in $t=0$ anında $X=X_0$, $t=t$ anında $X=X$ sınır koşulları uygulanılarak integrasyonu ile Eşitlik 3.2 elde edilmektedir.

$$\ln \frac{X}{X_0} = \mu t \quad (3.2)$$

Burada;

X_0 : Başlangıçtaki kuru mikroorganizma derişimi (g kuru mikroorganizma/L)'dir.

$\ln(X/X_0)$ 'e karşı t grafiğinin eğimi özgül üreme hız sabitini verir.

3.1.2. Mikroorganizmanın Pigment Üretim Hızı

Üretilen pigment derişimine karşı zaman eğrisinin sabit üreme evresindeki eğimi Eşitlik 3.3'te tanımlanan pigment üretim hızını verir.

$$v = \frac{dP}{dt} \quad (3.3)$$

Burada;

v : *Monascus* Pigmenti üretim hızı (g *Monascus* pigmenti/L gün)

P : *Monascus* Pigmenti derişimi (g *Monascus* pigmenti/L)

3.1.3. Pigment Verimi

Üretilen pigment için ürün verimi başlangıç substrat derişimi (melas için g sakkaroz/L, portakal ve üzüm atıkları için g toplam indirgen şeker/L) ve atık derişimine bağı olarak iki şekilde tanımlanmıştır.

3.1.3.1. Glikozdan ve Gıda Yan Ürünü/Atıklarından Elde Edilen Besin Ortamlarında Başlangıç Substrat Derişimine Bağı Pigment Verimi

Glikozdan, melastan ve portakal ve üzüm atıklarından elde edilen sıvı besin ortamlarında bulunan en yüksek ürün derişiminin (P_m ; g/L) başlangıç substrat derişimine (S_o ; g/L) oranı, başlangıç substrat derişimine bağı ürün verimi ($Y_{P/S}$) olarak tanımlanmış ve Eşitlik 3.4'te ifade edilmiştir.

$$Y_{P/S} = \frac{P_m}{S_o} \quad (3.4)$$

Burada;

$Y_{P/S}$: Birim substrat miktarı başına elde edilen pigment miktarı (g *Monascus* pigment/g substrat)

3.1.3.2. Gıda Yan Ürünü/Atıklarından Elde Edilen Besin Ortamlarında Başlangıç Atık/Sıvı Oranına Bağlı Pigment Verimi

Melastan ve portakal ve üzüm atıklarından elde edilen, sıvı besin ortamlarında en yüksek ürün derişiminin (P_m ; g/L) başlangıç atık/sıvı oranına (A/S ; g atık/L su) oranı, başlangıç atık miktarına bağlı ürün verimi ($Y_{P/A}$) olarak tanımlanmış ve Eşitlik 3.5'te ifade edilmiştir.

$$Y_{P/A} = \frac{P_m}{A/S} \quad (3.5)$$

Burada;

$Y_{P/A}$: Birim atık miktarı başına elde edilen pigment miktarı (g *Monascus* pigment/g atık)

4. DENEY SİSTEMİ VE YÖNTEMLERİ

4.1. *Monascus purpureus*'un *Monascus* Pigment Üretimi İçin Hazırlanması

Monascus pigment üretiminde Hacettepe Üniversitesi Biyoloji bölümünden temin edilen *Monascus purpureus* CMU 001 suşu kullanılmıştır. Katı agar ortamında gelen *Monascus purpureus* pH'ı 5'e ayarlanmış ve 20 g/L glikoz ve 10 g/L pepton içeren steril besin ortamlarında üretilmiştir. Bu amaca yönelik olarak 150 mL besin ortamı içeren ve ağzları gazlı bezle sarılı pamukla kapatılmış ve üzerleri alüminyum folyoyla sarılmış 250 mL'lik erlenler kullanılmıştır. Sıvı besin ortamı içeren erlenler 121°C'da 1.1 atm basınçta 20 dk süreyle otoklavda sterilize edilmiş ve besin ortamları oda sıcaklığına geldiğinde, *Monascus purpureus* küf mantarının ekimi üretilmiş ortamın sıvısından %5'lik aşılama yapılarak gerçekleştirilmiştir. Ekim yapılan erlenler 30°C'da ve 150 rpm çalkalama hızında çalışan Medline SI-600R marka model inkübatöre konularak 10 gün süreyle çalkalanmış ve mikroorganizmanın üremesi sağlanmıştır. Şekil 4.1'de glikoz içeren üreme ortamı ve bu ortamda üretilmiş *Monascus purpureus* erlenleri görülmektedir.



Şekil 4.1 Glikoz içeren sıvı besin ortamında üretilmiş *Monascus purpureus*

4.2. Deneysel Çalışmalarda Kullanılan Gıda Yan Ürünü Melas ve Posalı Portakal Kabuğu ve Üzüm Posası Atıkları ve Besin Ortamlarında Kullanılmaları için Yapılan Ön İşlemler

Ankara Şeker Fabrikası'ndan temin edilen ve yaklaşık %50 sakkaroz içeren melas deneysel çalışmalarda mikroorganizmanın üremesi ve pigment üretimi için uygun sıvı

besin ortamlarının hazırlanması için doğrudan seyreltilerek kullanılmıştır. Besin ortamlarına ayrıca 1g/L (NH₄)₂SO₄ ve 1g/L KH₂PO₄ eklenmiştir.

Ankara Büyükşehir Belediyesi meyve suyu satış duraklarından temin edilen çekirdeksiz posalı portakal kabukları önce elle küçük parçalara bölünmüş ve ardından Binder marka etüvde 50°C'de tamamen kuruyana kadar bekletilmiş ve daha sonra bir öğütücüde öğütülmüştür. Atığın içindeki şekerlerin sulu ortama geçmesi için kaynar suyla ekstraksiyon yöntemi kullanılmıştır. Bu amaçla belli miktardaki öğütülmüş portakal atığı saf suyla karıştırılarak, 300 mL çalışma hacmindeki pyrex cam balonda, 100 rpm sabit karıştırma hızı ve atmosferik basınçta kaynatılarak içerdiği beş ve altı karbonlu şekerlerin sulu faza aktarılması sağlanmıştır. Ekstraksiyon işlemi 8 saat sürdürülmüştür. Öğütülmüş portakal atığı için atık/sıvı oranı (g atık/L su) 14,5 ile 135 arasında değiştirilerek toplam indirgen şeker derişiminin 10-60 g/L arasında değişen değerlerde elde edilmesi sağlanmış ve bu çözeltiler doğrudan sıvı besin ortamı olarak kullanılmıştır.

Kavaklıdere Şarap Fabrikası'ndan (Ankara) temin edilen çekirdeksiz yaş üzüm atığı, doğrudan belli miktarda saf suyla karıştırılarak, 300 mL çalışma hacmindeki pyrex cam balonda, 100 rpm sabit karıştırma hızı ve atmosferik basınçta kaynatılarak ekstraksiyonla içerdiği beş ve altı karbonlu şekerlerin sulu faza geçmesi sağlanmıştır. Ekstraksiyon işlemi 8 saat sürdürülmüştür. Yaş üzüm atığı için atık/sıvı oranı (g atık/L su) 12,5 ve 28 arasında değiştirilerek toplam indirgen şeker derişimi 10 ve 20 g/L olarak elde edilmiş ve bu çözeltiler sıvı besin ortamları olarak doğrudan kullanılmıştır.

4.3. *Monascus* Pigment Üretim Çalışmaları

Monascus purpureus 'tan sarı ve kırmızı renkli pigmentlerin üretiminde melas ve portakal ve üzüm atıklarından kaynar suyla ekstraksiyonla elde edilen şekerleri içeren doğal besin ortamları ve referans olarak karşılaştırma amaçlı 20 g/L glikoz ve 10 g/L pepton içeren yapay besin ortamları kullanılmıştır.

Monascus purpureus'tan pigment üretimi çalışmalarında ağızları gazlı bezle sarılı pamukla kapatılmış ve üzerleri alüminyum folyoyla sarılmış, 150 mL'lik sıvı besin ortamı

içeren 250 mL'lik erlenler kullanılmıştır. 121°C'da ve 1.1 atm basınçta çalışan otoklavda 20 dk sterilize edilen sıvı besin ortamları oda sıcaklığına getirilmiş ve daha önce sıvı besin ortamında üretilmiş *M. purpureus* küf mantarının sıvı kısmından besin ortamlarına hacimce %5'lik aşılama yapılmıştır. Ekim yapılan erlenler Medline SI-600R marka model inkübatöre konularak 150 rpm'de ve 30°C'da 9-15 gün süreyle çalkalamaya tabi tutulmuş ve mikroorganizmanın üremesi sağlanmıştır.

Monascus purpureus ile sarı ve kırmızı pigment üretimi çalışmalarında glikozlu besin ortamında başlangıç pH'ının ve başlangıç glikoz derişiminin pigment üretim hızı ve verimine etkileri araştırılmış, en uygun olarak saptanan çalışma pH'ında da melaslı besin ortamında başlangıç sakkaroz derişiminin, portakal ve üzüm atıklarından elde edilen sıvı besin ortamlarında ise başlangıç toplam indirgen şeker derişiminin pigment üretim hızı ve verimine etkileri incelenmiştir.

4.4. Analiz Yöntemleri

4.4.1. Mikroorganizma Derişimi Tayini

Monascus purpureus fungusunun üreme eğrileri 20 g/L glikoz içeren besin ortamında, 40 g/L melas (20 g/L sakkaroz) içeren besin ortamında, 42,5 g portakal atığının 1 litre kaynar suyla ekstraksiyonu sonucunda elde edilen ve 20 g/L toplam indirgen şeker içeren besin ortamında ve 28 g üzüm atığının 1 litre kaynar suyla ekstraksiyonu sonucunda elde edilen ve 20 g/L toplam indirgen şeker içeren besin ortamında elde edilmiştir. Bu amaçla 10-12 adet 150 mL aynı besin ortamını içeren erlenlere mikroorganizmanın daha önceden üretildiği aynı üreme ortamından aynı anda hacimce %5'lik aşılama yapılmış ve her gün bir erlenin ağzı açılarak toplam üreyen mikroorganizma kütlesi sıvı besin ortamından filtreye ayrılmış, yıkanmış, yağ ağırlığı tartılmış ve daha sonra sabit tartıma gelene kadar kurutulmuş ve kuru ağırlığı yine tartılarak g kuru mikroorganizma/L cinsinden mikroorganizma derişimi tayin edilmiştir.

4.4.2. Sarı ve Kırmızı *Monascus* Pigmentlerinin Derişimlerinin Tayini

Yapılan tez çalışmasında sadece hücre dışı üretilen sarı ve kırmızı *Monascus* pigmentlerinin derişimleri tayin edilmiştir. Pigment çözeltilerinin en yüksek absorbans

değerlerini gösterdikleri dalga boylarında absorbanları okunarak çalışma doğrularından pigment derişimleri bulunmuştur. Mikrobiyal pigment üretimi deneylerinde belli zaman aralıklarında alınan 2 mL hacmindeki örnekler 5000 rpm'de MPW-223 marka ve model santrifüj cihazında 5 dakika santrifüj edilip, mikroorganizma içeren katı kısmın çökmesi sağlanmış ve sıvı kısmın absorban değeri, ekim yapılmamış aynı sıvı besin ortamı kör kabul edilerek ve kör çözelti ile yapılan gerekli seyrelmeler yardımıyla okunmuştur. Pigment derişimlerinin tayinleri için kullanılan çalışma doğruları EK.1'de sunulmuştur.

4.4.3. Toplam İndirgen Şeker Derişimi Tayini

Portakal ve üzüm atıklarının kaynar suyla ekstraksiyonuyla hazırlanan sıvı besin ortamlarından alınan örneklerdeki toplam indirgen şeker (TİŞ) derişimi, sıvı besin ortamındaki şekerlerin DNS çözeltisiyle, kaynamakta olan suyun içinde verdiği sarı renkli çözelti yardımıyla spektrofotometrede 575 nm'de absorban okunmasıyla tayin edilmiştir. Toplam indirgen şeker derişimi EK.2'deki glikoz için hazırlanan çalışma doğrusundan faydalanılarak 'g toplam indirgen şeker (TİŞ)/L' cinsinden elde edilmiştir [26].

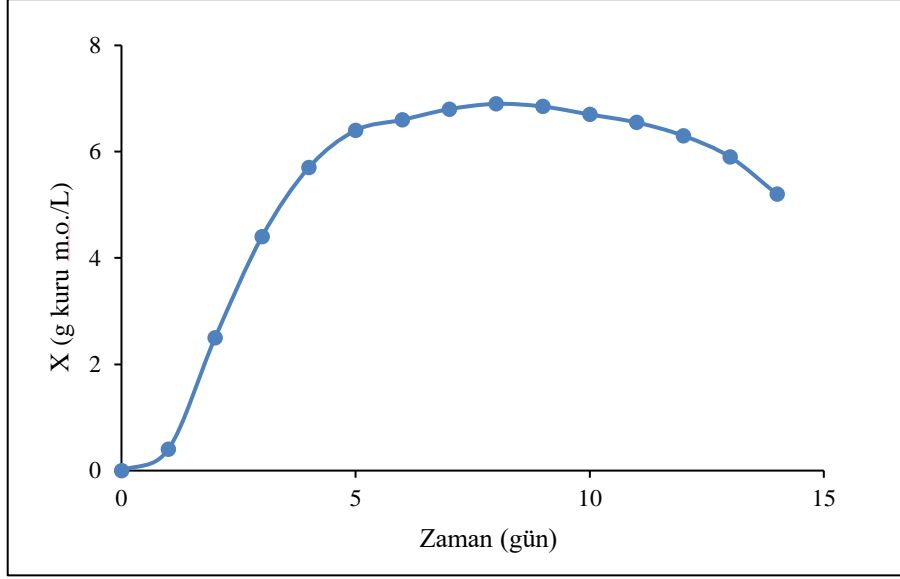
5. DENEYSEL SONUÇLAR

Bu tez çalışmasında kesikli sistemde *Monascus purpureus* küf mantarıyla melastan hazırlanan doğal sıvı besin ortamında, portakal ve üzüm atıklarından kaynar suyla ekstraksiyonla elde edilen şekerleri içeren doğal sıvı besin ortamlarında ve referans olarak karşılaştırma amaçlı glikoz içeren yapay besin ortamında hücre dışı olarak salgılanan sarı ve kırmızı pigmentlerin üretimi incelenmiştir. Çalışmalarda öncelikle glikoz içeren sarı ve kırmızı pigmentlerin üretim hız ve verimine başlangıç pH'nın ve başlangıç glikoz derişiminin etkileri araştırılmıştır. Daha sonra en uygun olarak saptanan çalışma pH'ında melaslı besin ortamında başlangıç sakkaroz derişiminin, portakal ve üzüm atıklarından elde edilen sıvı besin ortamlarında ise başlangıç toplam indirgen şeker derişimi(TİŞ)nin pigment üretim hızı ve verimine etkileri araştırılmıştır. Ayrıca 20 g/L glikoz içeren besin ortamında, 40 g/L melas (20 g/L sakkaroz) içeren besin ortamında, A/S=42,5 g portakal atığı/L su oranında, 42,5 g portakal atığının 1 litre kaynar suyla ekstraksiyonu sonucunda elde edilen ve 20 g/L toplam indirgen şeker (TİŞ) içeren besin ortamında ve A/S=28 g üzüm atığı/L su oranında, 28 g üzüm atığının 1 litre kaynar suyla ekstraksiyonu sonucunda elde edilen ve 20 g/L toplam indirgen şeker (TİŞ) içeren besin ortamında *Monascus purpureus*'un üreme eğrileri elde edilmiş ve özgül üreme hız sabitleri saptanmıştır.

5.1. Glikoz İçeren Yapay Besin Ortamında *M. purpureus*'tan Sarı ve Kırmızı Pigmentlerin Üretimi Çalışmaları

5.1.1. 20 g/L Glikoz İçeren Yapay Besin Ortamında *Monascus purpureus*'un Üreme Eğrisinin Elde Edilmesi

pH 4'te ve 20 g/L glikoz içeren besin ortamında elde edilen *M. Purpureus*'un üreme eğrisi Şekil 5.1.'de verilmiştir. Şekilden mikroorganizmanın 1. günün sonunda üstel üreme evresine geçtiği, 5. günden itibaren durgun evreye girdiği ve 11. günden sonra da ölüm evresine geçtiği gözlenmektedir. $\ln(X)$ 'e karşı t grafiğinin üstel üreme bölgesindeki eğiminden mikroorganizmanın özgül üreme hız sabiti $1,83 \text{ gün}^{-1}$ bulunmuştur.

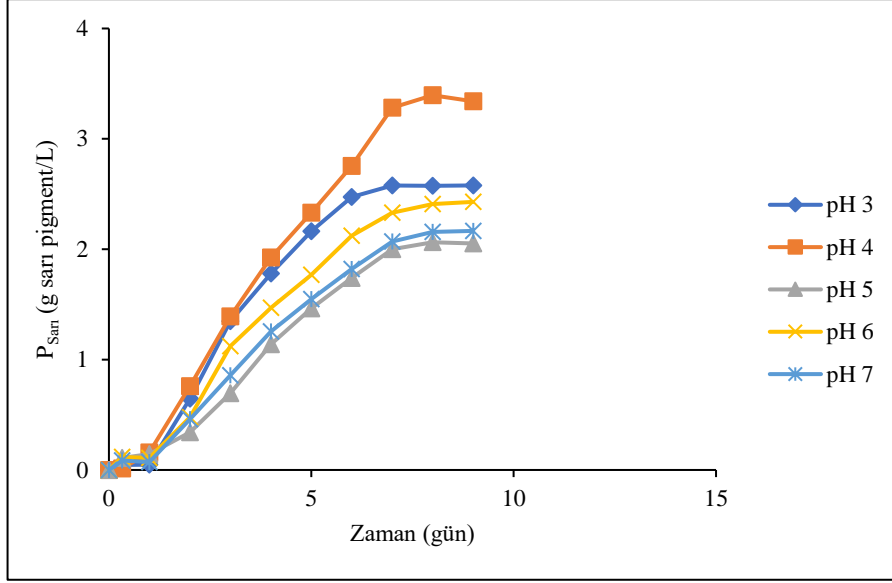


Şekil 5.1. 20 g/L glikoz içeren yapay besin ortamında elde edilen *M. purpureus*'un üreme eğrisi (T=30°C, başlangıç pH'ı=4, KH=150 rpm)

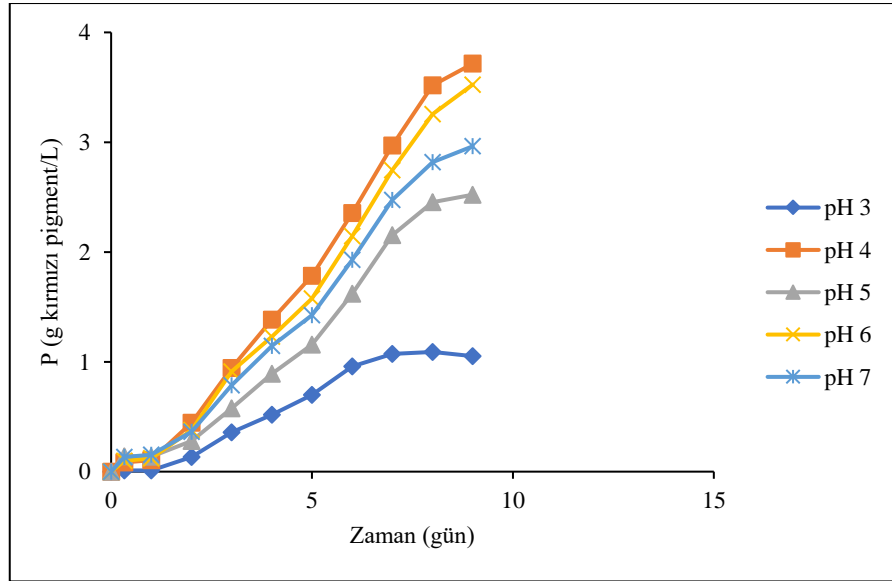
5.1.2. Başlangıç pH'ının *Monascus* Pigmentlerinin Üretim Hızı ve Verimine Etkisi

Besin ortamının başlangıç pH'ı mikrobiyal üremeyi ve ürün üretimini doğrudan etkilemektedir. 20 g/L başlangıç glikoz derişiminde *M. purpureus*'un sarı ve kırmızı pigment üretiminin zamana bağlı başlangıç pH'ının 3-7 arasında değişmesiyle edilen üretim eğrileri Şekil 5.2. ve Şekil 5.3.'te gösterilmiştir. Bu şekillerde verilen üretim eğrilerinden yararlanarak elde edilen sarı ve kırmızı pigmentlerin üretim hız ve verim değerleri ise Çizelge 5.1'de sunulmuştur. Her iki şekilden ve çizelgeden hem sarı hem de kırmızı pigmentler için pH 4 değerinde en yüksek üretim hız ve verim değerlerinin elde edildiği görölmektedir. pH 4'te ilk 9 gün için en yüksek sarı pigment üretimi 3,4 g/L ve kırmızı pigment üretimi 3,7 g/L olarak tespit edilmiştir.

Başlangıç pH'ı 4'te ortam pH'ının zamanla değişimi de incelenmiş ilk 6-7 günde metabolik aktivite ve organik asit üretimi sebebiyle ortam pH'ının fazla değişmediği ancak durgun fazın sonuna doğru mikroorganizma tarafından aminoasitlerin deaminasyonu ve amonyak açığa çıkması sonucunda ortam pH'ının 8'e çıktığı gözlenmiştir [83].



Şekil 5.2. 20 g/L başlangıç glikoz derişiminde *M. purpureus* 'tan sarı pigment üretiminde farklı başlangıç pH değerlerinde elde edilen pigment üretim üretim eğrileri (T=30°C, KH=150 rpm)



Şekil 5.3. 20 g/L başlangıç glikoz derişiminde *M. purpureus* 'tan kırmızı pigment üretiminde farklı başlangıç pH değerlerinde elde edilen pigment üretim üretim eğrileri (T= 30°C, KH=150 rpm)

Çizelge 5.1. 20 g/L başlangıç glikoz derişiminde *M. purpureus*'tan sarı ve kırmızı pigment üretimlerinde farklı başlangıç pH değerlerinde elde edilen en yüksek pigment derişimi, pigment üretim hızı ve pigment verim değerlerinin karşılaştırılması

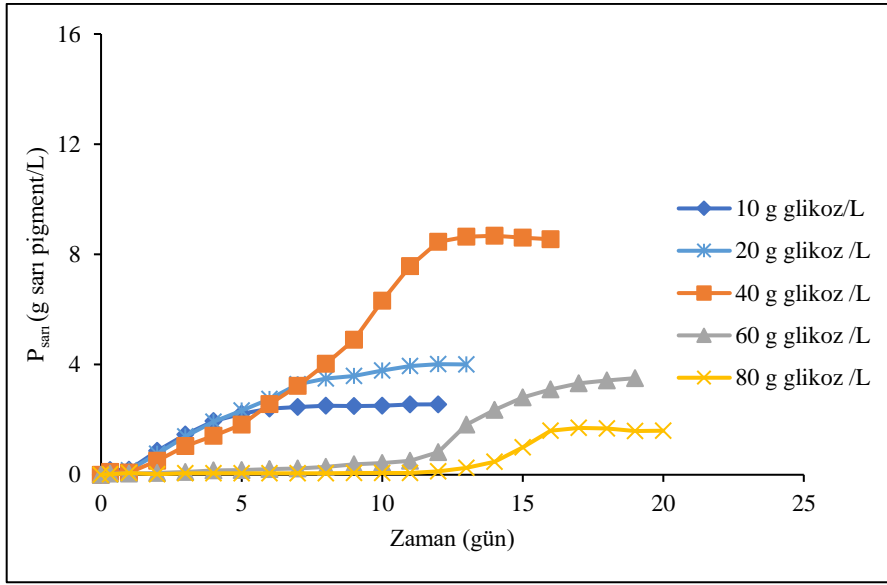
Başlangıç pH'ı	P _{m,sarı} (g sarı pigment/L)	V _{sarı} (g sarı pigment/L gün)	Y _{P/S,sarı} (g sarı pigment/ g glikoz)	P _{m,kırmızı} (g kırmızı pigment/L)	V _{kırmızı} (g kırmızı pigment/L gün)	Y _{P/S,kırmızı} (g kırmızı pigment/ g glikoz)
3	2,6	0,29	0,13	1,1	0,12	0,05
4	3,4	0,38	0,17	3,7	0,41	0,19
5	2,1	0,23	0,10	2,5	0,28	0,13
6	2,4	0,27	0,12	3,5	0,39	0,18
7	2,2	0,24	0,11	3,0	0,33	0,15

5.1.3. Başlangıç Glikoz Derişiminin *Monascus* Pigmentlerinin Üretim Hızı ve Verimine Etkisi

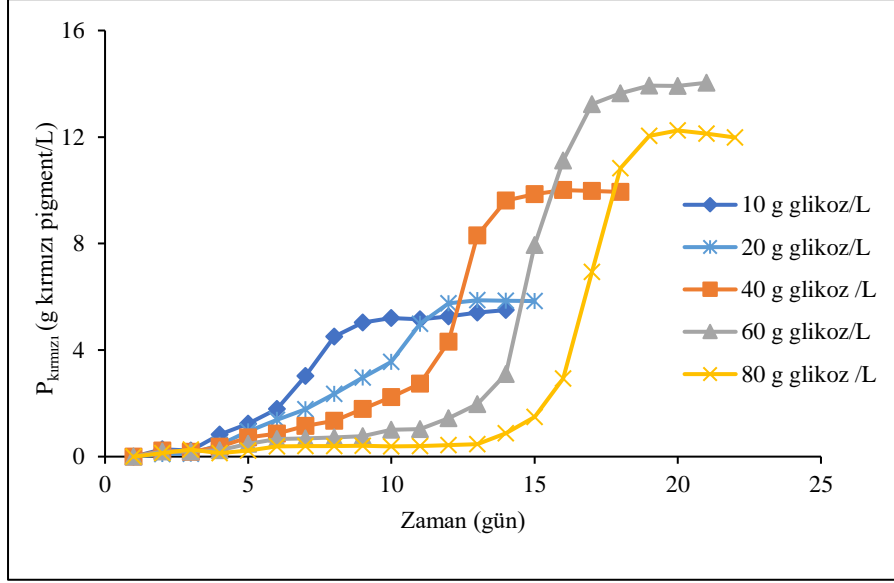
Besin ortamında karbon ve enerji kaynağı olarak kullanılan substratın derişimi mikroorganizmanın üremesini ve ürün üretimini doğrudan etkileyen başka bir parametredir. Glikoz içeren yapay besin ortamında başlangıç glikoz derişimi 10-80 g/L aralığında değiştirilerek, başlangıç substrat derişiminin *Monascus* pigmentlerinin üretimi üzerine etkileri araştırılmış ve pigment derişimlerinin zamana bağlı değişim eğrileri sarı pigment için Şekil 5.4'te ve kırmızı pigment için Şekil 5.5'de gösterilmiştir. Farklı başlangıç glikoz derişimlerinde elde edilen en yüksek sarı ve kırmızı pigment derişimleri, pigment üretim hızları ve pigment verim değerleri ise Çizelge 5.2'de karşılaştırılmıştır.

Şekil 5.4'ten glikoz derişiminin 40 g/L'ye kadar arttırılmasıyla sarı pigment üretiminin arttığı, glikoz derişimindeki daha fazla artışın ise substrat inhibisyonuna bağlı olarak sarı pigment üretimini oldukça azalttığı gözlenmektedir. Yine aynı şekilden düşük glikoz derişimlerinde pigment üretiminin üstel üreme bölgesinde de gerçekleştiği, yüksek glikoz derişimlerinde ise pigment üretiminin durgun evreye doğru kaydığı görülmektedir. Şekil 5.5'ten ise glikoz derişiminin 60 g/L'ye kadar arttırılmasıyla kırmızı pigment üretiminin arttığı, ancak 80 g/L glikoz derişiminin kırmızı pigment üretiminde inhibisyon etkisi gözlenmektedir. Tüm çalışılan glikoz derişimlerinde kırmızı pigment üretiminin durgun evrede gerçekleştiği yine aynı şekilden görülmektedir. Her iki şekil pigment üretim hızı açısından karşılaştırıldığında yüksek glikoz derişimlerinde daha yüksek üretim hızlarının elde edildiği söylenebilir.

Çizelge 5.2.'den çalışılan tüm glikoz derişimlerinde *M. prupureus*'un kırmızı pigmenti sarı pigmentten daha yüksek derişimlerde ve hızlarda ürettiği gözlenmektedir. Yine aynı çizelgeden başlangıç glikoz derişimi arttıkça her iki pigment için de pigment veriminin azaldığı görülmektedir. En yüksek sarı pigment üretimi 8,68 g/L olarak 40 g/L glikoz derişiminde, en yüksek kırmızı pigment üretimi ise 14,04 g/L olarak 60 g/L glikoz derişiminde gerçekleşmiştir.



Şekil 5.4. Glikoz içeren yapay besin ortamında farklı başlangıç glikoz derişimlerinde elde edilen sarı *Monascus* pigmentinin üretim eğrileri (T=30°C, başlangıç pH=4, KH=150 rpm)



Şekil 5.5. Glikoz içeren yapay besin ortamında farklı başlangıç glikoz derişimlerinde elde edilen kırmızı *Monascus* pigmentinin üretim eğrileri (T=30°C, başlangıç pH'ı=4, KH=150 rpm)

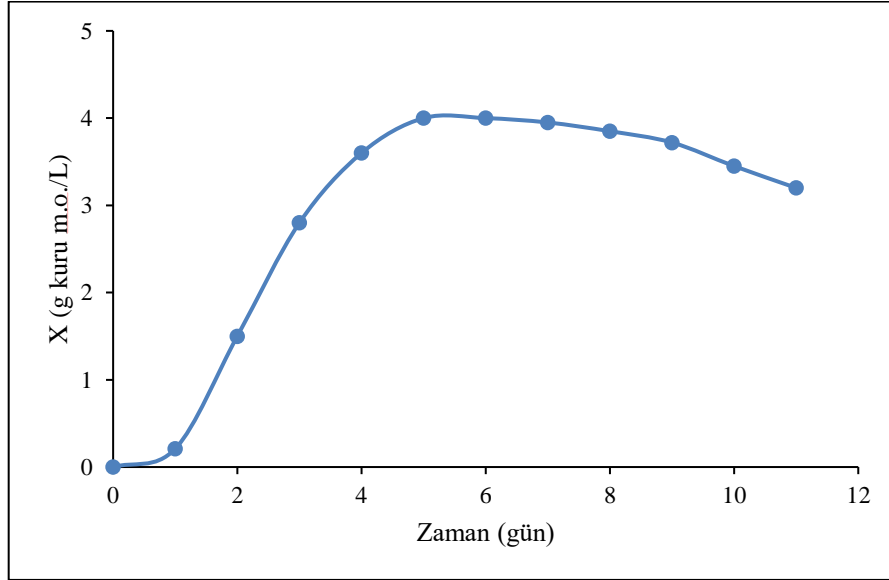
Çizelge 5.2 Farklı başlangıç glikoz derişimlerinde elde edilen en yüksek sarı ve kırmızı pigment derişimleri, pigment üretim hızları ve pigment verim değerlerinin karşılaştırılması

S_{Go} (g glikoz/L)	$P_{m,sarı}$ (g sarı pigment/L)	$V_{sarı}$ (g sarı pigment/L gün)	$Y_{P/S,sarı}$ (g sarı pigment/ g glikoz)	$P_{m,kırmızı}$ (g kırmızı pigment/L)	$V_{kırmızı}$ (g kırmızı pigment/L gün)	$Y_{P/S,kırmızı}$ (g kırmızı pigment/ g glikoz)
10	2,55	0,213	0,256	5,50	0,459	0,550
20	4,02	0,335	0,201	5,87	0,534	0,294
40	8,68	0,620	0,217	10,01	0,715	0,250
60	3,51	0,185	0,058	14,04	0,739	0,234
80	1,70	0,100	0,021	12,25	0,680	0,153

5.2. Melas İçeren Besin Ortamında *M. purpureus*'tan Sarı ve Kırmızı Pigmentlerin Üretimi Çalışmaları

5.2.1. 40 g/L Melas (20 g/L Sakkaroz) İçeren Besin Ortamında *Monascus purpureus*'un Üreme Eğrisinin Elde Edilmesi

pH 4'te ve 40 g/L melas (20 g/L sakkaroz) içeren besin ortamında elde edilen *M. Purpureus*'un üreme eğrisi Şekil 5.6.'de sunulmuştur. Şekilden mikroorganizmanın 1. günün sonunda üstel üreme evresine geçtiği, 4. günden itibaren durgun evreye girdiği ve 9. günden sonra da ölüm evresine geçtiği gözlenmektedir. $\ln(X)$ 'e karşı t grafiğinin üstel üreme bölgesindeki eğiminden mikroorganizmanın özgül üreme hız sabiti $1,3 \text{ gün}^{-1}$ bulunmuştur.



Şekil 5.6. 40 g/L melas (20g/L sakkaroz) içeren besin ortamında elde edilen *M. purpureus*'un üreme eğrisi (T=30 °C, başlangıç pH'ı=4, KH=150 rpm)

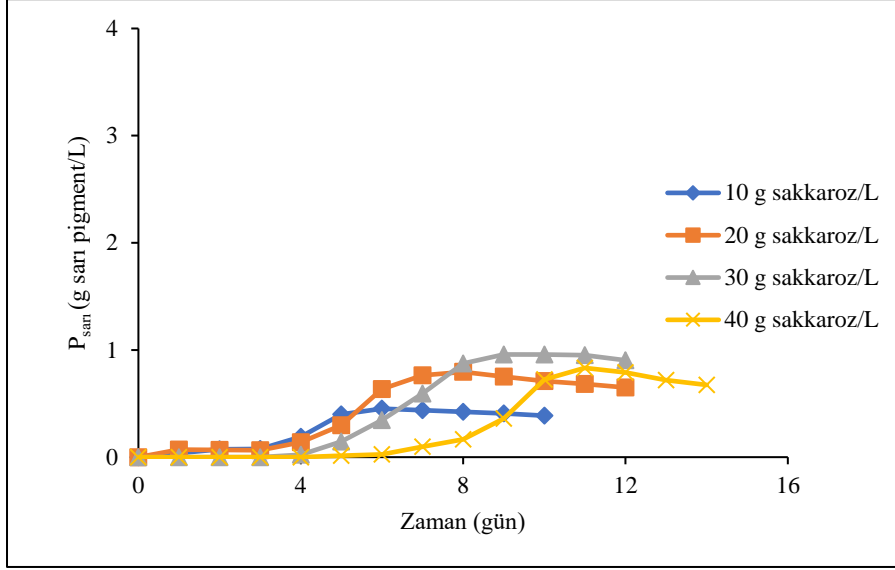
5.2.2. Başlangıç Melas (Başlangıç Sakkaroz) Derişiminin *Monascus* Pigmentlerinin Üretim Hızı ve Verimine Etkisi

Melas (%50 sakkaroz) içeren besin ortamında başlangıç sakkaroz derişimi 10-40 g/L aralığında değiştirilerek, başlangıç substrat derişiminin *Monascus* pigmentlerinin üretimi üzerine etkileri araştırılmış ve pigment derişimlerinin zamana bağlı değişim eğrileri sarı pigment için Şekil 5.7'de ve kırmızı pigment için Şekil 5.8'de gösterilmiştir. Farklı

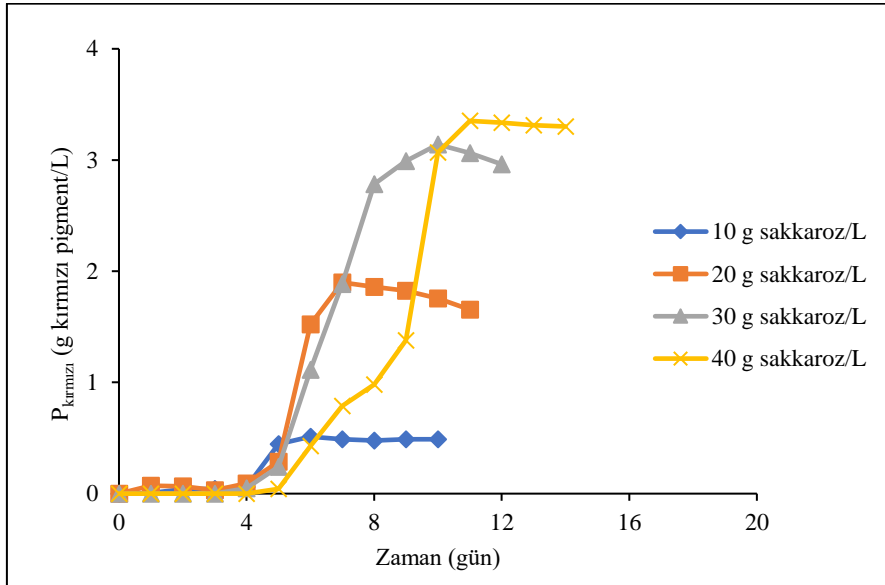
başlangıç sakkaroz derişimlerinde elde edilen en yüksek sarı ve kırmızı pigment derişimleri, pigment üretim hızları ve pigment verim değerleri ise Çizelge 5.2’de karşılaştırılmıştır.

Şekil 5.7’den sakkaroz derişiminin 30 g/L’ye kadar arttırılmasıyla sarı pigment üretiminin arttığı, 40 g/L sakkaroz derişiminde ise pigment üretiminin bir miktar azaldığı gözlenmektedir. Yine aynı şekilden düşük sakkaroz derişimlerinde pigment üretiminin üstel üreme bölgesinde de gerçekleştiği, yüksek sakkaroz derişimlerinde ise pigment üretiminin durgun evreye doğru kaydığı görülmektedir. Şekil 5.8’den ise sakkaroz derişiminin 40 g/L’ye kadar artmasıyla kırmızı pigment üretiminin arttığı görülmektedir. Tüm çalışılan sakkaroz derişimlerinde kırmızı pigment üretiminin durgun evrede gerçekleştiği yine aynı şekilden görülmektedir. Her iki şekil pigment üretim hızı açısından karşılaştırıldığında yüksek sakkaroz derişimlerinde daha yüksek üretim hızlarının elde edildiği görülmektedir

Çizelge 5.3.’ten çalışılan tüm sakkaroz derişimlerinde *M. prupureus*’un kırmızı pigmenti sarı pigmentten daha yüksek hızlarda ve derişimlerde ürettiği gözlenmektedir. Yine aynı çizelgeden başlangıç sakkaroz derişimi arttıkça sarı pigment için gerek substrata göre gerekse atık miktarına göre tanımlanmış pigment verim değerlerinin azaldığı görülmektedir. Başlangıç sakkaroz derişiminin 30 g/L’ye kadar arttırılmasıyla kırmızı pigment için substrata göre ve atık miktarına göre tanımlanmış pigment verim değerlerinin arttığı görülmektedir. En yüksek sarı pigment üretimi 0,96 g/L olarak 30 g/L sakkaroz derişiminde, en yüksek kırmızı pigment üretimi ise 3,35 g/L olarak 40 g/L sakkaroz derişiminde gerçekleşmiştir.



Şekil 5.7. Melas (Sakkaroz) içeren besin ortamında farklı başlangıç sakkaroz derişimlerinde elde edilen sarı *Monascus* pigmentinin üretim eğrileri (T=30°C, başlangıç pH'ı=4, KH= 150 rpm)



Şekil 5.8. Melas (Sakkaroz) içeren besin ortamında farklı başlangıç sakkaroz derişimlerinde elde edilen kırmızı *Monascus* pigmentinin üretim eğrileri (T=30°C, başlangıç pH'ı=4, KH=150 rpm)

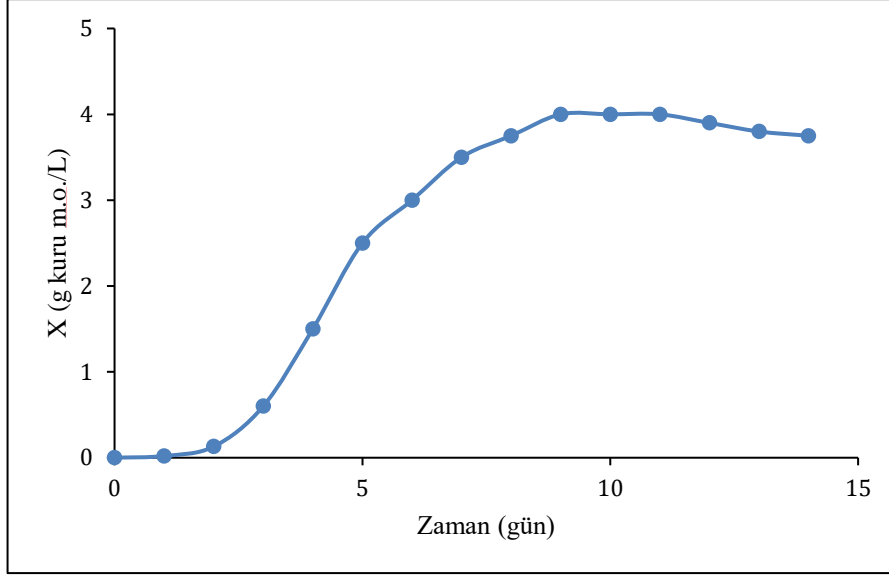
Çizelge 5.3. Farklı başlangıç melas (sakkaroz) derişimlerinde *M. purpureus* 'tan sarı ve kırmızı pigment üretimlerinde elde edilen en yüksek pigment derişimi, pigment üretim hızı ve pigment verim değerlerinin karşılaştırılması

S _{So} (g sakkaroz /L)	P _{m,sarı} (g sarı pigment/L)	V _{sarı} (g pigment/L gün)	Y _{P/S,sarı} (g sarı pigment/g sakkaroz)	Y _{P/A,sarı} (g sarı pigment/g atık)	P _{m,kırmızı} (g kırmızı pigment/L)	V _{kırmızı} (g kırmızı pigment/L gün)	Y _{P/S,kırmızı} (g kırmızı pigment/g sakkaroz)	Y _{P/S,kırmızı} (g kırmızı pigment/g atık)
10	0,45	0,075	0,045	0,023	0,51	0,085	0,051	0,026
20	0,80	0,099	0,040	0,020	1,90	0,271	0,095	0,047
30	0,96	0,160	0,032	0,016	3,14	0,449	0,105	0,052
40	0,83	0,119	0,021	0,010	3,35	0,479	0,084	0,042

5.3. Portakal Atığından Elde Edilen Doğal Besin Ortamında *M. purpureus* 'tan Sarı ve Kırmızı Pigmentlerin Üretimi Çalışmaları

5.3.1. A/S=42,5 g Portakal Atığı/L Sudan Elde Edilen ve 20 g/L Toplam İndirgen Şeker (TİŞ) İçeren Doğal Besin Ortamında *Monascus purpureus*'un Üreme Eğrisinin Elde Edilmesi

pH 4'te 42,5 g posalı portakal kabuğu atığının 1 L kaynar suyla ekstraksiyonundan elde edilen ve 20 g/L toplam indirgen şeker içeren doğal besin ortamında gözlenen *M. purpureus*'un üreme eğrisi Şekil 5.9.'da verilmiştir. Şekilden mikroorganizmanın 2. günden itibaren üstel üreme evresine geçtiği, 8. günden itibaren durgun evreye girdiği gözlenmektedir. ln(X)'e karşı t grafiğinin üstel üreme bölgesindeki eğiminden mikroorganizmanın özgül üreme hız sabiti 0,71 gün⁻¹ bulunmuştur.

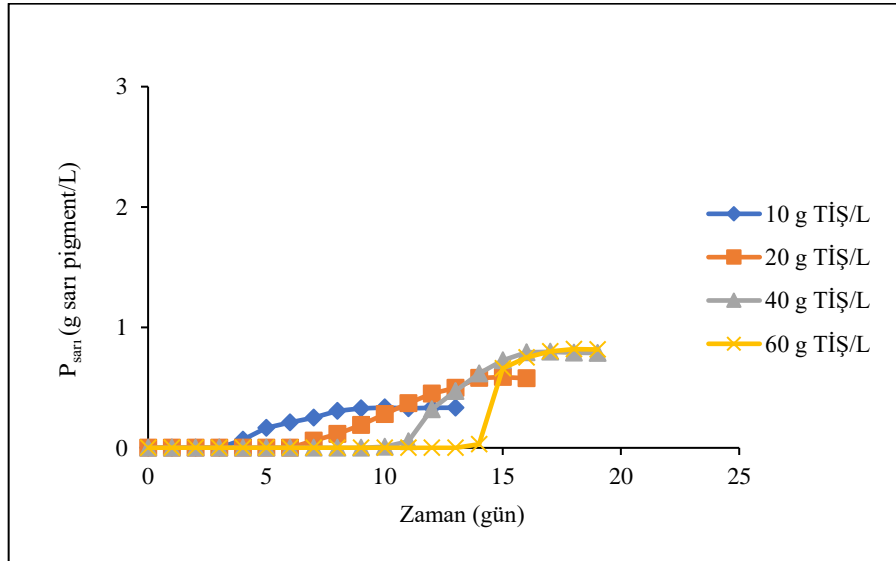


Şekil 5.9. A/S=42,5 g portakal atığı/L sudan elde edilen ve 20 g/L TİŞ içeren doğal besin ortamında elde edilen *M. purpureus*'un üreme eğrisi (T=30°C, Başlangıç pH'ı=4, KH=150 rpm)

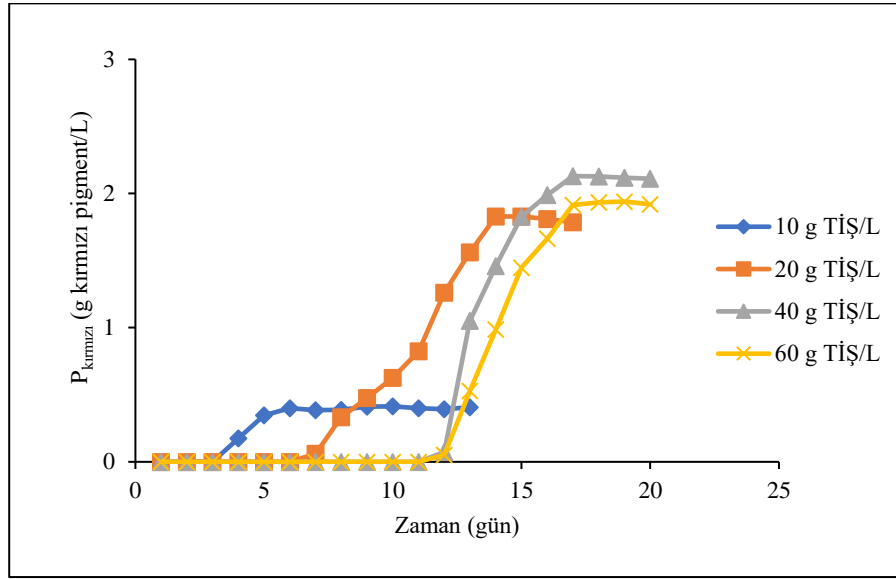
5.3.2. Portakal Atığından Elde Edilen (TİŞ İçeren) Besin Ortamında Başlangıç Toplam İndirgen Şeker Derişiminin *Monascus* Pigmentlerinin Üretim Hızı ve Verimine Etkisi

pH 4'te portakal atığının farklı A/S oranlarında elde edilen ve 10-60 g/L aralığında değişen TİŞ içeren besin ortamlarında başlangıç substrat derişiminin *Monascus* pigmentlerinin üretimi üzerine etkileri araştırılmış ve pigment derişimlerinin zamana bağlı değişim eğrileri sarı pigment için Şekil 5.10.'da kırmızı pigment için Şekil 5.11.'de gösterilmiştir. Şekil 5.10.'dan TİŞ derişiminin 40 g/L'ye kadar artmasıyla sarı pigment üretiminin arttığı, 60 g/L TİŞ derişiminde de yaklaşık aynı değerlerin bulunduğu görülmektedir. Şekil 5.11.'den ise TİŞ derişiminin 40 g/L'ye kadar artmasıyla kırmızı pigment üretiminin arttığı, TİŞ derişiminin daha da artmasıyla kırmızı pigment üretiminin azaldığı gözlenmektedir. Her iki şekilden ayrıca kırmızı pigment üretiminin sarı pigment üretimine göre çok daha yüksek olduğu, ancak TİŞ derişimi arttıkça her iki pigment için de pigment üretiminin daha geç başladığı görülmektedir. Her iki şekilden 10 g/L TİŞ içeren besin ortamında her iki pigment için 3. günden itibaren üretimin başladığı, 60 g/L TİŞ içeren besin ortamında ise her iki pigment üretiminin de 13-14üncü günlere kaydığı görülmektedir.

Çizelge 5.4.'te portakal atığından elde edilen ve farklı başlangıç TİŞ derişimleri içeren besin ortamlarında *M. purpureus* 'tan sarı ve kırmızı pigment üretimlerinde elde edilen en yüksek pigment derişimi, pigment üretim hızı ve pigment verim değerleri karşılaştırılmıştır. Çizelgeden çalışılan tüm TİŞ derişimlerinde *M. purpureus*'un kırmızı pigmenti sarı pigmentten daha yüksek hız ve verimde ürettiği gözlenmektedir. 5.3.'ten çalışılan tüm sakkaroz derişimlerinde *M. purpureus*'un kırmızı pigmenti sarı pigmentten daha yüksek hızlarda ve derişimlerde ürettiği gözlenmektedir. Yine aynı çizelgeden başlangıç TİŞ derişimi arttıkça her sarı pigment için gerek substrata göre gerekse atık miktarına göre tanımlanmış pigment verim değerlerinin azaldığı görülmektedir. Başlangıç sakkaroz derişiminin 40 g/L'ye kadar artırılmasıyla kırmızı pigment için substrata göre ve atık miktarına göre tanımlanmış pigment verim değerlerinin arttığı görülmektedir. En yüksek sarı pigment üretimi 0,82 g/L olarak 60 g/L TİŞ derişiminde, en yüksek kırmızı pigment üretimi ise 2,13 g/L olarak 40 g/L TİŞ derişiminde gerçekleşmiştir.



Şekil 5.10. Portakal atığından değişen A/S oranlarında elde edilen besin ortamlarında farklı başlangıç TİŞ derişimlerinde elde edilen sarı *Monascus* pigmentinin üretim eğrileri (T=30°C, başlangıç pH'ı=4, KH=150 rpm)



Şekil 5.11. Portakal atığından değişen A/S oranlarında elde edilen besin ortamlarında farklı başlangıç TİŞ derişimlerinde elde edilen kırmızı *Monascus* pigmentinin üretim eğrileri (T=30°C, başlangıç pH'ı=4, KH=150 rpm)

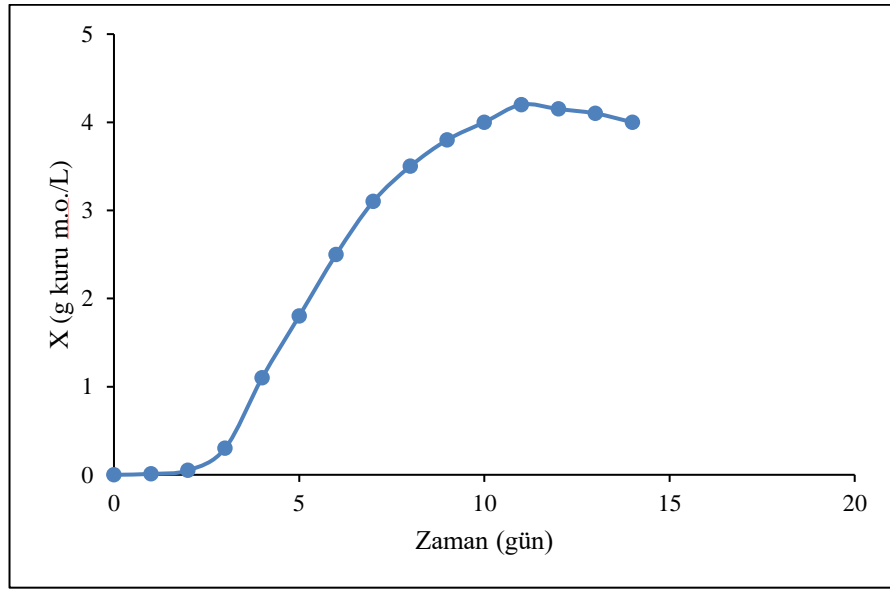
Çizelge 5.4. Portakal atığından elde edilen ve farklı başlangıç TİŞ derişimleri içeren besin ortamlarında *M. purpureus*'tan sarı ve kırmızı pigment üretimlerinde elde edilen en yüksek pigment derişimi, pigment üretim hızı ve pigment verim değerlerinin karşılaştırılması

Sti _{şo} (g TİŞ/L)	P _{m,sarı} (g sarı pigment/L)	V _{sarı} (g sarı pigment/L gün)	Y _{P/S,sarı} (g sarı pigment/g TİŞ)	Y _{P/A,sarı} (g sarı pigment/g atık)	P _{m,kırmızı} (g kırmızı pigment/L)	V _{kırmızı} (g kırmızı pigment/L gün)	Y _{P/S,kırmızı} (g kırmızı pigment/g TİŞ)	Y _{P/A,kırmızı} (g kırmızı pigment/g atık)
10	0,33	0,055	0,033	0,023	0,41	0,059	0,041	0,028
20	0,59	0,074	0,030	0,014	1,83	0,229	0,091	0,043
40	0,79	0,113	0,020	0,009	2,13	0,355	0,053	0,024
60	0,82	0,137	0,014	0,006	1,94	0,276	0,032	0,014

5.4. Üzüm Atığından Elde Edilen Doğal Besin Ortamında *M. purpureus*'tan Sarı ve Kırmızı Pigmentlerin Üretimi Çalışmaları

5.4.1. A/S=28 g Üzüm Atığı/L Sudan Elde Edilen ve 20 g/L Toplam İndirgen Şeker (TİŞ) İçeren Doğal Besin Ortamında *Monascus purpureus*'un Üreme Eğrisinin Elde Edilmesi

pH 4'te 28 g posalı üzüm atığının 1 L kaynar suyla ekstraksiyonundan elde edilen ve 20 g/L toplam indirgen şeker içeren doğal besin ortamında elde edilen *M. purpureus*'un üreme eğrisi Şekil 5.12.'de verilmiştir. Şekilden mikroorganizmanın 2. günden itibaren üstel üreme evresine geçtiği, 10. günden itibaren durgun evreye girdiği gözlenmektedir. $\ln(X)$ 'e karşı t grafiğinin üstel üreme bölgesindeki eğiminden mikroorganizmanın özgül üreme hızı sabiti $0,58 \text{ gün}^{-1}$ bulunmuştur.

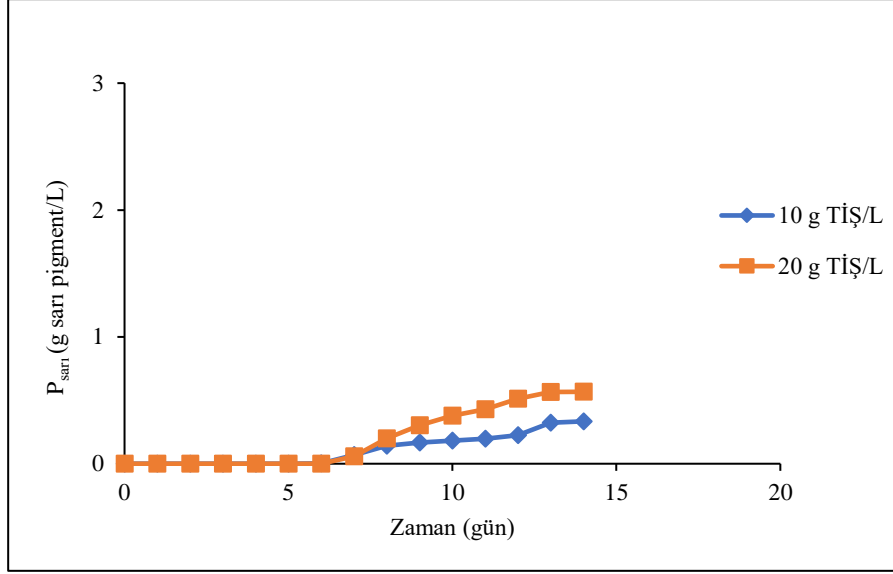


Şekil 5.12. A/S=28 g üzüm atığı/L sudan elde edilen ve 20 g/L TİŞ içeren doğal besin ortamında elde edilen *M. purpureus*'un üreme eğrisi (T=30°C, başlangıç pH'ı=4, KH=150 rpm)

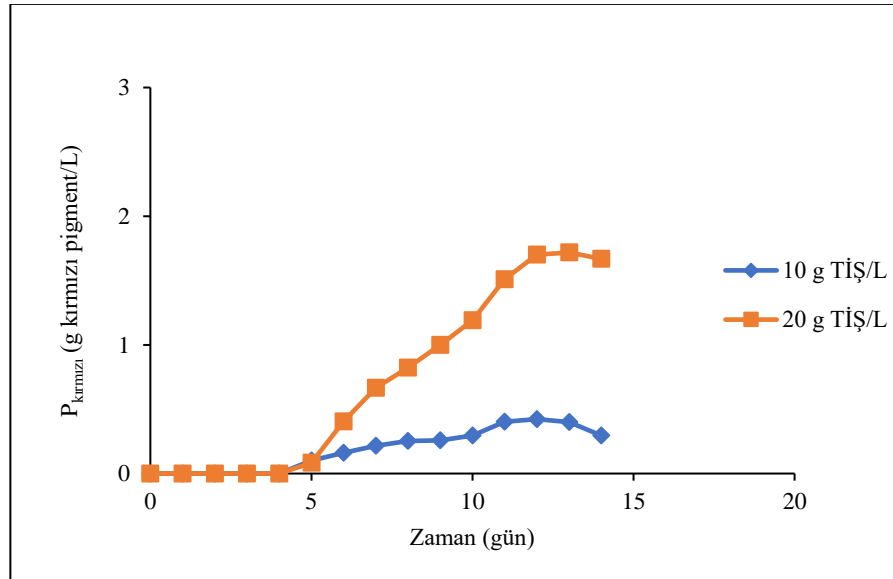
5.4.2. Üzüm Atığından Elde Edilen (TİŞ İçeren) Besin Ortamında Başlangıç Toplam İndirgen Şeker Derişiminin *Monascus* Pigmentlerinin Üretim Hızı ve Verimine Etkisi

pH 4'te atık üzüm posasının iki farklı A/S oranında (12,5 g üzüm atığı/L su ve 28 g üzüm atığı/L su) elde edilen ve 10 ve 20 g/L başlangıç TİŞ derişimi içeren doğal besin ortamlarında *Monascus purpureus*'tan sarı ve kırmızı pigmentlerin üretiminde pigment derişimlerinin zamana bağlı değışim eğrileri sarı pigment için Şekil 5.13'te ve kırmızı pigment için Şekil 5.14.'te gösterilmiştir. Şekil 5.13'ten ve Şekil 5.14'ten başlangıç TİŞ derişiminin artmasıyla her iki pigment üretiminin arttığı, çalışılan her iki TİŞ derişiminde kırmızı pigment üretiminin sarı pigment üretiminin yaklaşık iki katı olduğu görülmektedir. Her iki şekilden iki TİŞ derişiminde de her iki pigmentin üretiminin aynı zamanda başladığı da (sarı pigment üretimi 7. gün, kırmızı pigment üretimi 5. gün) gözlenmektedir.

Çizelge 5.5.'te üzüm atığından elde edilen ve 10 ve 20 g/L TİŞ içeren doğal besin ortamlarında *M. purpureus*'tan sarı ve kırmızı pigment üretimlerinde elde edilen en yüksek pigment derişimi, pigment üretim hızı ve pigment verim değerleri karşılaştırılmıştır. Çizelgeden her iki TİŞ derişiminde de *M. purpureus*'un kırmızı pigmenti sarı pigmentten daha yüksek hız ve verimde ürettiği gözlenmektedir. Yine aynı çizelgeden başlangıç TİŞ derişimi arttıkça sarı pigment için gerek substrata göre gerekse atık miktarına göre tanımlanmış pigment verim değerlerinin azaldığı, kırmızı pigment üretiminde ise TİŞ derişimi arttıkça her iki verim değerinin de arttığı görülmektedir. En yüksek sarı pigment üretimi 0,57 g/L olarak 20 g/L TİŞ derişiminde, en yüksek kırmızı pigment üretimi ise 1,72 g/L olarak yine aynı TİŞ derişiminde gerçekleşmiştir.



Şekil 5.13. Üzüm atığından değişen A/S oranlarında elde edilen besin ortamlarında farklı başlangıç TİŞ derişimlerinde elde edilen sarı *Monascus* pigmentinin üretim eğrileri (T=30°C, başlangıç pH'ı=4, KH=150 rpm)



Şekil 5.14. Üzüm atığından değişen A/S oranlarında elde edilen besin ortamlarında farklı başlangıç TİŞ derişimlerinde elde edilen kırmızı *Monascus* pigmentinin üretim eğrileri (T=30°C, başlangıç pH'ı=4, KH=150 rpm)

Çizelge 5.5. Üzüm atığından elde edilen ve farklı başlangıç TİŞ derişimleri içeren besin ortamlarında *M. purpureus* 'tan sarı ve kırmızı pigment üretiminde elde edilen en yüksek pigment derişimi, pigment üretim hızı ve pigment verim değerlerinin karşılaştırılması

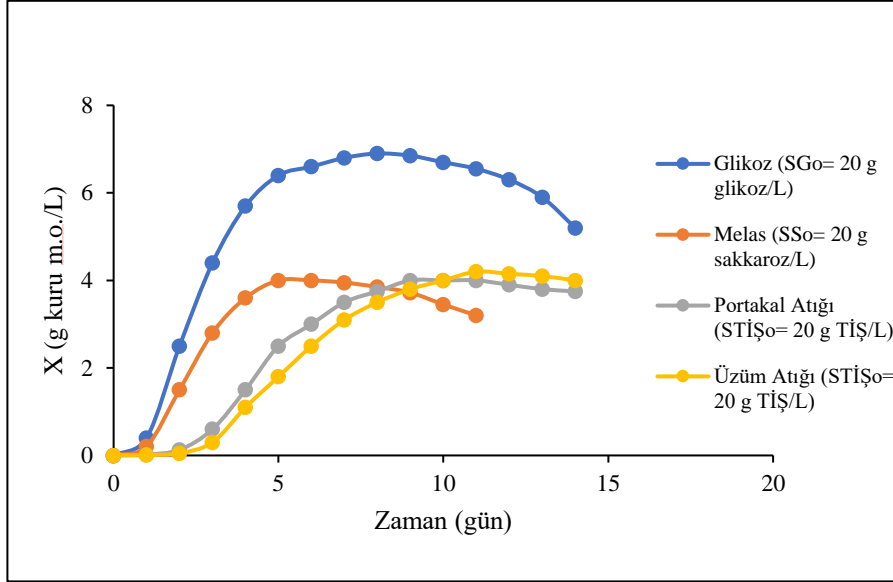
STİŞo (g TİŞ/L)	P_{m,sarı} (g sarı pigment/L)	V_{sarı} (g sarı pigment/L gün)	Y_{P/S,sarı} (g sarı pigment/g TİŞ)	Y_{P/A,sarı} (g sarı pigment/g atık)	P_{m,kırmızı} (g kırmızı pigment/L)	V_{kırmızı} (g kırmızı pigment/L gün)	Y_{P/S,kırmızı} (g kırmızı pigment/g TİŞ)	Y_{P/A,kırmızı} (g kırmızı pigment/g atık)
10	0,33	0,042	0,033	0,027	0,42	0,053	0,042	0,034
20	0,57	0,071	0,028	0,020	1,72	0,191	0,086	0,061

6. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

Bu tez çalışmasında kesikli sistemde *Monascus purpureus* küf mantarıyla sakkaroz içeren melastan hazırlanmış sıvı besin ortamında, portakal ve üzüm atıklarından kaynar suyla ekstraksiyonla elde edilen şekerleri içeren sıvı besin ortamlarında ve karşılaştırma amaçlı referans olarak belirlenen glikoz içeren yapay besin ortamında hücre dışı olarak salgılanan sarı ve kırmızı pigmentlerin üretimi incelenmiştir. Çalışmalarda öncelikle glikoz içeren yapay besin ortamında sarı ve kırmızı pigmentlerin üretim hız ve verimine başlangıç pH'ının ve başlangıç glikoz derişiminin etkileri araştırılmıştır. Daha sonra en uygun olarak saptanan çalışma pH'ında melaslı besin ortamında başlangıç sakkaroz derişiminin, portakal ve üzüm atıklarından elde edilen sıvı besin ortamlarında ise başlangıç toplam indirgen şeker derişimi(TİŞ)nin pigment üretim hızı ve verimine etkileri araştırılmıştır.

Çalışmaların ilk kısmında 20 g/L glikoz içeren yapay, 40 g/L melas (20 g/L sakkaroz) içeren, 42,5 g portakal atığı ve 28 g üzüm atığının 1 L kaynar suyla ekstraksiyonundan bulunan ve 20 g/L toplam indirgen şeker (TİŞ) içeren doğal besin ortamlarında *M. purpureus* 'un üreme eğrileri elde edilmiş ve Şekil 6.1.'de karşılaştırılmıştır. Şekilden *Monascus purpureus* küf mantarının en yüksek hız ve verimde glikozlu besin ortamında ürediği, üremenin 6. günde durgun evreye girdiği görülmektedir. Yine aynı şekilden melas içeren besin ortamındaki mikrobiyal üremenin de hızlı ama daha düşük verimde gerçekleştiği, yine üremenin 6. günde durgun evreye girdiği gözlenmektedir. Portakal atığı ve üzüm atığından elde edilen besin ortamlarındaki fungal üremenin ilk 3 günde mikroorganizmanın bu besin ortamlarındaki adaptasyonuna bağlı olarak çok az olduğu, ancak her iki besin ortamında da mikrobiyal üremenin 3. günden itibaren hızla arttığı, üreme verimlerinin melas içeren besin ortamındaki üreme verimine yaklaştığı ve ayrıca diğer besin ortamlarından farklı olarak mikrobiyal üremenin daha geç olarak 9-11'inci günlerden itibaren durgun evreye girdiği yine aynı şekilden görülmektedir. *M. purpureus* hem mikroorganizmanın en kolay tükettiği 6 karbonlu monosakkarit glikozu hem de pepton gibi kompleks besin bileşenlerini içeren glikozlu zengin besin ortamında en kolay, en hızlı ve en yüksek verimde üremiştir. Portakal ve üzüm atıklarından üretilen besin ortamları 6 karbonlu şekerlerin yanı sıra mikroorganizmanın parçalayabilmesi için daha spesifik ve özgül metabolik yollar gerektiren ve daha zor parçalanan 5 karbonlu şekerleri

içerdiğinden ve ayrıca diğer besin bileşenlerince zayıf olduğundan, *M. purpureus* bu ortamlarda en yavaş ve en düşük verimde üremiştir.



Şekil 6.1. 20 g/L glikoz içeren, 40 g/L melas (20 g/L sakkaroz) içeren, 42,5 g portakal atığı ve 28 g üzüm atığının 1 L kaynar suyla ekstraksiyonundan elde edilen ve 20 g/L TİŞ içeren besin ortamlarında elde edilen *M. purpureus*'un üreme eğrilerinin karşılaştırılması (T=30°C, başlangıç pH'ı=4, KH=150 rpm)

Çalışmaların daha sonraki aşamasında glikoz içeren, melas (sakkaroz) içeren ve portakal ve üzüm atıklarından elde edilen ve TİŞ içeren besin ortamlarında; glikoz derişimi 10-60 g/L aralığında, sakkaroz derişimi 10-40 g/L aralığında, portakal atığından elde edilen TİŞ derişimi 10-60 g/L aralığında, üzüm atığından elde edilen TİŞ derişimi 10-20 g/L aralığında değiştirilerek *M. purpureus*'tan sarı ve kırmızı pigment üretim çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Farklı substrat derişimlerinde elde edilen en yüksek sarı ve kırmızı pigment derişimleri ve sarı ve kırmızı pigment verim değerleri Çizelge 6.1.'de karşılaştırılmıştır. Çizelgeden çalışılan tüm besin ortamlarında *M. purpureus*'un kırmızı pigmenti sarı pigmentten daha fazla ürettiği, en yüksek sarı ve kırmızı pigment üretimini glikozlu besin ortamında, en düşük sarı ve kırmızı pigment üretimini ise üzüm atığından elde edilen besin ortamında gerçekleştirdiği görülmektedir. Yine aynı çizelgeden birim substrat miktarı başına elde edilen sarı ve kırmızı pigment miktarlarını tanımlayan verim değerleri karşılaştırıldığında yine glikozlu besin ortamında en yüksek ürün verim

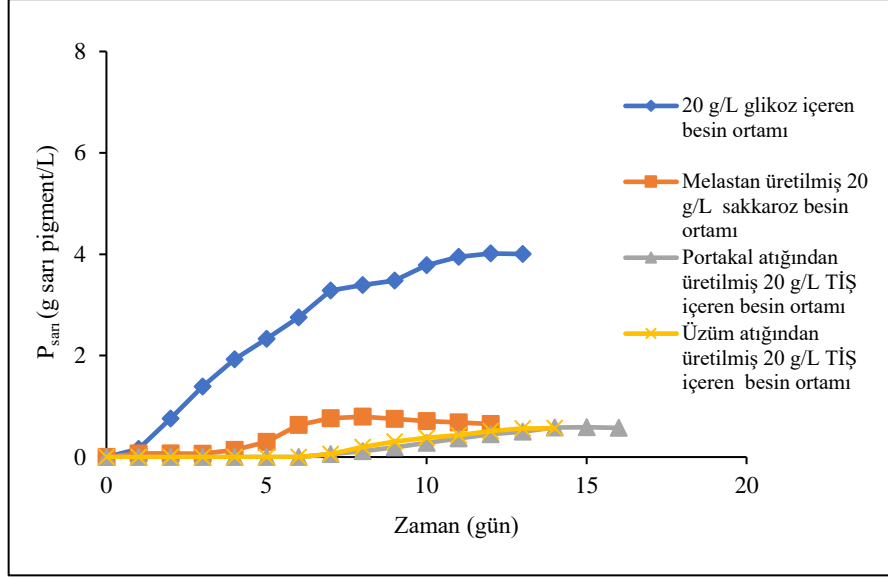
değerlerinin elde edildiği, birim atık miktarı başına elde edilen sarı ve kırmızı pigment miktarlarını tanımlayan verim değerleri karşılaştırıldığında ise birim üzüm atığı başına daha fazla sarı ve kırmızı pigment üretildiği gözlenmektedir. En yüksek sarı pigment üretimi 8,68 g/L olarak 40 g/L glikoz içeren yapay besin ortamında, en yüksek kırmızı pigment üretimi 14,04 g/L olarak 60 g/L glikoz içeren yapay besin ortamında elde edilmiştir. Atık başına üretilen en yüksek sarı ve kırmızı pigment miktarları 20 g/L üzüm atığından elde edilen besin ortamında 0,028 g sarı pigment/g üzüm atığı ve 0,061 g kırmızı pigment/g üzüm atığı olarak saptanmıştır.

Çizelge 6.1. Glikozlu, melas(sakkaroz)tan hazırlanan ve portakal ve üzüm atıklarından elde edilen ve TİŞ içeren besin ortamlarında farklı substrat derişimlerinde bulunan en yüksek sarı ve kırmızı pigment derişimlerinin ve sarı ve kırmızı pigment verim değerlerinin karşılaştırılması

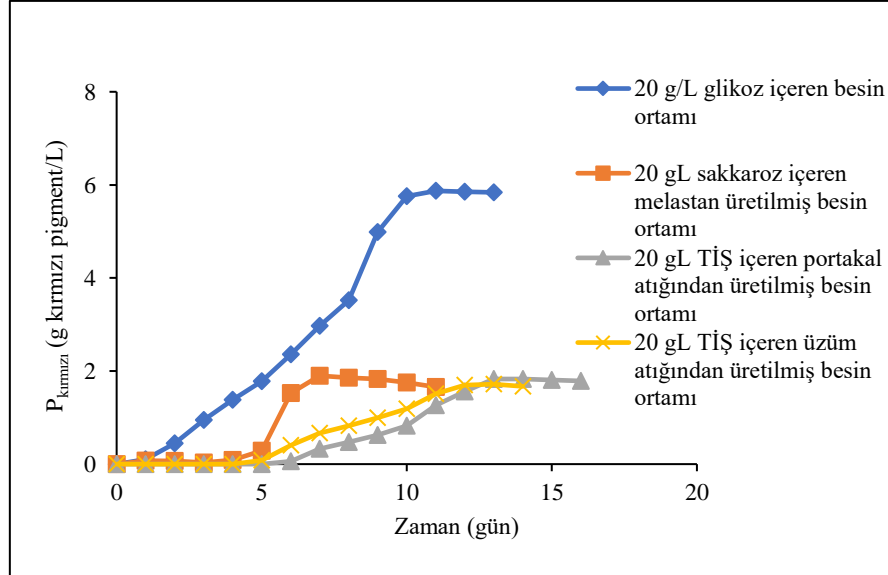
Besin Ortamı	Substrat Derişimi (g/L)	P _{m,sarı} (g sarı pigment/L)	Y _{P/S,sarı} (g sarı pigment/g substrat)	Y _{P/A,sarı} (g sarı pigment/g atık)	P _{m,kırmızı} (g kırmızı pigment/L)	Y _{P/S,kırmızı} (g kırmızı pigment/g substrat)	Y _{P/A,kırmızı} (g kırmızı pigment/g atık)
Glikozlu Besin ortamı	S _{Go}						
	10	2,55	0,256	-	5,50	0,550	-
	20	4,02	0,201	-	5,87	0,294	-
	40	8,68	0,217	-	10,01	0,250	-
	60	3,51	0,058	-	14,04	0,234	-
	80	1,70	0,021	-	12,25	0,153	-
Melas(Sakkaroz)tan Hazırlanan Besin Ortamı	S _{so}						
	10	0,45	0,045	0,023	0,51	0,051	0,026
	20	0,80	0,040	0,020	1,90	0,095	0,047
	30	0,96	0,032	0,016	3,14	0,105	0,052
	40	0,83	0,021	0,010	3,35	0,084	0,042
Portakal Atığından Hazırlanan Besin Ortamı	S _{rişo}						
	10	0,33	0,033	0,023	0,41	0,041	0,028
	20	0,59	0,030	0,014	1,83	0,091	0,043
	40	0,79	0,020	0,009	2,13	0,053	0,024
	60	0,82	0,014	0,006	1,94	0,032	0,014
Üzüm Atığından Hazırlanan Besin Ortamı	S _{rişo}						
	10	0,33	0,033	0,027	0,42	0,042	0,034
	20	0,57	0,028	0,020	1,72	0,086	0,061

M. purpureus 'tan sarı ve kırmızı pigment üretiminde çalışılan tüm besin ortamlarında 20 g/L substrat derişiminde (20 g/L glikoz içeren, 40 g/L melas (20 g/L sakkaroz) içeren, portakal ve üzüm atıklarından elde edilen ve 20 g/L TİŞ içeren) pigment üretiminin zamanla değişim eğrileri Şekil 6.2.'de ve Şekil 6.3.'ee karşılaştırılmıştır. Şekil 6.2.'den glikoz içeren besin ortamında sarı *Monascus* pigment üretim hız ve veriminin en yüksek olduğu, pigment üretiminin *Monascus purpureus*'un üstel üreme bölgesinde gerçekleştiği görülmektedir. Yine aynı şekilden çalışılan tüm doğal besin ortamlarında *Monascus purpureus*'un sarı pigmenti daha geç, daha düşük hız ve derişimde ürettiği gözlenmektedir. En düşük pigment üretimi portakal ve üzüm atığından elde edilen besin ortamlarında gerçekleşmiştir. Glikoz içeren besin ortamında fermantasyonun ilk günlerinde sarı pigment üretimi gerçekleşirken, melas içeren besin ortamında sarı pigment üretimi 5. günde başlamıştır. Portakal atığı ve üzüm atığından elde edilen besin ortamlarındaki sarı pigment üretimi mikroorganizmanın bu besin ortamlarına adaptasyonuna bağlı olarak çok daha geç (7-8. günlerde) başlamıştır.

Şekil 6.3.'ten 20 g/L glikoz içeren besin ortamında kırmızı *Monascus* pigment üretim hız ve veriminin en yüksek olduğu, pigment üretiminin yine mikroorganizmanın üstel üreme bölgesinde gerçekleştiği görülmektedir. Yine aynı şekilden çalışılan tüm doğal besin ortamlarında *Monascus purpureus*'un kırmızı pigmenti de daha geç, daha düşük hız ve derişimde ürettiği, pigment üretiminin melaslı besin ortamında diğer doğal besin ortamlarına nazaran daha hızlı olmasına karşın, üç doğal ortamda da yaklaşık aynı derişimde olduğu gözlenmiştir. Glikoz içeren besin ortamında fermantasyonun ilk günlerinde kırmızı pigment üretimi gerçekleşirken, diğer besin ortamlarında 5-6'ncı günden itibaren üretimin başladığı söylenebilir.



Şekil 6.2. *M. purpureus*'tan sarı pigment üretiminde çalışılan tüm besin ortamlarında 20 g/L substrat derişiminde (20 g/L glikoz içeren, 40 g/L melas (20 g/L sakkaroz) içeren, portakal ve üzüm atıklarından elde edilen ve 20 g/L TİŞ içeren) pigment üretiminin zamanla değişim eğrilerinin karşılaştırılması (T=30°C, başlangıç pH'ı=4, KH=150 rpm)



Şekil 6.3. *M. purpureus*'tan kırmızı pigment üretiminde çalışılan tüm besin ortamlarında 20 g/L substrat derişiminde (20 g/L glikoz içeren, 40 g/L melas (20 g/L sakkaroz) içeren, portakal ve üzüm atıklarından elde edilen ve 20 g/L TİŞ içeren) pigment üretiminin zamanla değişim eğrilerinin karşılaştırılması (T=30°C, başlangıç pH'ı=4, KH=150 rpm)

Tez çalışmasından elde edilen sonuçlar literatürde yer alan *Monascus* küf mantarlarından pigment üretim çalışmalarıyla Çizelge 6.2.'de karşılaştırılmıştır. Çizelgeden, tez çalışmasında kullanılan besin ortamlarındaki sarı ve kırmızı pigment üretiminin literatürdeki verilerle karşılaştırılabilir olduğu görülmektedir. Daha düşük verim elde edilen bu besin ortamları azotça fosforca ve diğer bileşenlerle zenginleştirilerek pigment üretimi arttırılabilir.

Çizelge 6.2. Tez çalışmasından elde edilen sonuçların literatürde yer alan *Monascus* küf mantarlarından pigment üretim çalışmalarıyla karşılaştırılması

Substrat Cinsi/Atık Türü (g/L, %)	Mikroorganizma Türü	Deney Koşulları (substrat derişimi, pH, sıcaklık, karıştırma hızı)	Elde Edilen En Yüksek Mikroorganizma Derişimi (g kuru m.o./L, g kuru m.o.)	Üretilen En Yüksek Pigment Derişimi/Miktarı	Kaynak
Glikoz (20 g/L) Histidin (5 g/L)	<i>Monascus ruber</i>	pH: 6.5 Sıcaklık: 30°C Karıştırma Hızı: 250 rpm	8,3 g kuru m.o./L	0,6 g kırmızı pigment/L	Hajaj [84]
Etil alkol (20 g/L) Monosodyum Glutamat (5 g/L)	<i>Monascus ruber</i>	pH: 6,5 Sıcaklık: 28°C	-	5,2 g kırmızı pigment/L	Fabre [85]
Tam Buğday Unu (%5)	<i>Monascus purpureus</i>	pH: 4,5 6.5 Sıcaklık: 28°C Karıştırma Hızı: 480, 333 rpm	10,26 g kuru m.o./L 10,34 g kuru m.o./L	2,82 g sarı pigment/L 2,46 g kırmızı pigment/L	Domínguez-Espinosa [86]
Glikoz (%10), Süt Çamuru (%10), Monosodyum Glutamat (%1)	<i>Monascus purpureus</i>	pH: 6.5 Sıcaklık: 30°C Karıştırma Hızı: 160 rpm	26.2 g kuru m.o	4.85 g kırmızı pigment	Moradi [87]
Glikoz (40 g/L) Pepton (8,8 g/L)	<i>Monascus purpureus</i>	pH: 2.5 Sıcaklık: 30°C Karıştırma Hızı: 100 rpm	-	1,12 g sarı-turuncu pigment	Patrovsky [88]

Bira Mayşe Atığı (50 ml) Monosodyum Glutamat (7,5 g/L)	<i>Monascus purpureus</i>	pH: 7 Sıcaklık: 30°C Karıştırma Hızı: 200 rpm	12,12 g kuru m.o./L	18,54 UA _{510 nm}	Atalay [81]
Patetes atığı (%7,81) Pepton (%2,87)	<i>Monascus purpureus</i>	pH: 6,5 Sıcaklık: 30°C	0.126 g kuru m.o./ml	29,86 AU/ml	Abdel-Raheam [82]
Bira Mayşe Atığı ve Gofret Yaprağı Tozu (1:4 oranında toplam 5 g) Monosodyum Glutamat	<i>Monascus purpureus</i>	pH: 7,5 Sıcaklık: 28°C	-	59.55 AU _{500/g}	Göksungur [83]
Glikoz (20 g/L) Pepton (10 g/L)	<i>Monascus purpureus</i>	pH: 4 Sıcaklık: 30°C Karıştırma Hızı: 150 rpm	6,9 g kuru m.o./L	4,02 g sarı pigment/L 5,87 g kırmızı pigment/L	Bu çalışma
Melas (20 g/L sakkaroz)	<i>Monascus purpureus</i>	pH: 4 Sıcaklık: 30°C Karıştırma Hızı: 150 rpm	4,0 g kuru m.o./L	0,8 g sarı pigment/L 1,9 g kırmızı pigment/L	Bu çalışma
Portakal Atığı (20 g/L TİŞ)	<i>Monascus purpureus</i>	pH: 4 Sıcaklık: 30°C Karıştırma Hızı: 150 rpm	4,2 g kuru m.o./L	0,59 g sarı pigment/L 1,83 g kırmızı pigment/L	Bu çalışma
Üzüm Atığı (20 g/L TİŞ)	<i>Monascus purpureus</i>	pH: 4 Sıcaklık: 30°C Karıştırma Hızı: 150 rpm	4,2 g kuru m.o./L	0,57 g sarı pigment/L 1,72 g kırmızı pigment/L	Bu çalışma

Bu tez çalışmasıyla Türkiye’de ve dünyada ilk defa *M. purpureus* küf mantarından, portakal ve üzüm atıklarının kaynar suyla ekstraksiyonuyla hazırlanan ve çeşitli şekerleri içeren ve ayrıca hiçbir ilave besin bileşeni içermeyen doğal sıvı besin ortamlarında katma değeri yüksek ürünler olan sarı ve kırmızı pigmentlerin üretimi gerçekleştirilmiştir. Böylece gıda endüstrisinde açığa çıkan yan ürün/atıkların değerlendirilmesiyle atık miktarı azaltılarak sıfır atık yaklaşımına katkıda bulunulmuştur, atıklar katma değeri

yüksek ürünlerin eldesiyle üretime kazandırılmış ve ekonomik olarak avantaj sağlanmıştır.

Gerek melastan gerekse portakal ve üzüm atıklarından elde edilen besin ortamlarında her iki pigment için düşük bulunan verim değerlerinin artırılması için besin ortamlarının azotça, fosforca ve diğer bileşenlerle zenginleştirilmesi önerilebilir.

7. KAYNAKLAR

- [1] S. Yagcı, A. Altan, F. Göğüs, M. Maskan, Gıda Atıklarının Alternatif Kullanım Alanları, Türkiye 9. Gıda Kongresi, Bolu, Türkiye, 24-26 (Mayıs, **2006**).
- [2] P. Karbuz, Çeşitli gıda atıklarından farklı ekstraksiyon yöntemleri ve çeşitli çözücüler kullanılarak pektin eldesi, Yüksek Lisans Tezi, Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, **2019**.
- [3] V.C. Vodnar, L.F. Ca˘linoiu, F.V. Dulf, B.E. Stefa˘nescu, G. Crisan, C. Socaciu, Food Chemistry, Identification of the Bioactive Compounds and Antioxidant, Antimutagenic and Antimicrobial Activities of Thermally Processed Agro-industrial Waste, 231, (**2017**) 131-140.
- [4] N. Kallscheuer, T. Classen, T. Drepper and J. Marienhage, Current Opinion in Biotechnology, Production of Plant Metabolites with Applications in the Food Industry Using Engineered Microorganisms, 56, (**2019**), 7–17.
- [5] T. B. J. Molelekoa, T. Regnier, L. S. da Silva, W. Augustyn, Production of Pigments by Filamentous Fungi Cultured on Agro-Industrial by-Products Using Submerged and Solid-State Fermentation Methods, Fermentation-Basel, 7, (**2021**).
- [6] T. Dağ, *Fusarium sp.* ile Pigment Üretimini Araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, **2017**.
- [7] A. Kumar, H. S. Vishwakarma, J. Singh, and M. Kumar, Microbial Pigments: Production and Their Applications in Various Industries, International journal of pharmaceutical, chemical and biological sciences, 5, (**2015**), 203–212.
- [8] J. Hoeksma, T. Misset. C. Wever, J. Kemmink, J. Kruijtzet, K. Versluis, R.M.J. Liskamp, G.J. Boons, A. Heck, T. Boekhout, et al. A new perspective on fungal metabolites: Identification of bioactive compounds from fungi using zebrafish embryogenesis as read-out, Scientific Reports, 9, (**2019**).
- [9] F. Vendruscolo, R.M.M. Buhler, J.C. de Carvalho, D. de Oliveira, D.E. Moritz, W. Schmidell, J.L. Ninow, *Monascus*: a Reality on the Production and Application of Microbial Pigments, Applied Biochemistry and Biotechnology 178 (**2016**) 211-223.
- [10] C. Agboyibor, W.B. Kong, D. Chen, A.M. Zhang, S.Q. Niu, *Monascus* pigments production, composition, bioactivity and its application: A review, Biocatalysis and Agricultural Biotechnology 16 (**2018**) 433-447.
- [11] P. Erdal, G. Ökmen, Gıdalarda Kullanılan Mikrobiyal Kaynaklı Pigmentler, Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi 2 (**2013**) 56-68.
- [12] P. Singh-Nee Nigam, A. Pandey, Biotechnology for Agro-Industrial Residues Utilisation Utilisation of Agro-Residues, 1st ed., Springer Netherlands, Dordrecht, 148, **2009**.
- [13] G. Tolborg, Exploiting Fungal Cell Factories for Pigment Production, Doktora Tezi, Danimarka Teknik Üniversitesi, Kopenhag **2018**.

- [14] H.S. Tuli, P. Chaudhary, V. Beniwal, A.K. Sharma, Microbial pigments as natural color sources: current trends and future perspectives, *Journal of Food Science and Technology-Mysore* 52 (2015) 4669-4678.
- [15] Z.J. Qin, X.L. Wang, S. Gao, D. Li, J.W. Zhou, Production of Natural Pigments Using Microorganisms, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 71 (2023) 9243-9254.
- [16] G.T. Sigurdson, P.P. Tang, M.M. Giusti, Natural Colorants: Food Colorants from Natural Sources, in: M.P. Doyle, T.R. Klaenhammer (Eds.), *Annual Review of Food Science and Technology*, 8 (2017) 261-280.
- [17] Y.H. Wang, R.R. Zhang, Y. Yin, G.F. Tan, G.L. Wang, H. Liu, J. Zhuang, J. Zhang, F.Y. Zhuang, A.S. Xiong, Advances in engineering the production of the natural red pigment lycopene: A systematic review from a biotechnology perspective, *Journal of Advanced Research* 46 (2023) 31-47.
- [18] K. Heer, S. Sharma, Microbial Pigments As A Natural Color: A Review, *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research* 8 (2017) 1913-1922.
- [19] P. Rajendran, P. Somasundaram, L. Dufosse, Microbial pigments: Eco-friendly extraction techniques and some industrial applications, *Journal of Molecular Structure* 1290 (2023) 11.
- [20] T. Sen, C.J. Barrow, S.K. Deshmukh, Microbial Pigments in the Food Industry- Challenges and the Way Forward, *Frontiers in Nutrition* 6 (2019) 14.
- [21] M.J. Kiki, Biopigments of Microbial Origin and Their Application in the Cosmetic Industry, *Cosmetics* 10 (2023) 17.
- [22] L.J. Rather, S.S. Mir, S.A. Ganie, I. Shahid ul, Q. Li, Research progress, challenges, and perspectives in microbial pigment production for industrial applications- A review, *Dyes and Pigments* 210 (2023) 24.
- [23] M.P.N. Rao, M. Xiao, W.J. Li, Fungal and Bacterial Pigments: Secondary Metabolites with Wide Applications, *Frontiers in Microbiology* 8 (2017) 1-13.
- [24] M.L. Shuler, F. Kargi, *Bioprocess Engineering: Basic Concepts*, 2nd ed. Upper Saddle River NJ: Prentice Hall; 11-37, 2002.
- [25] S.P. Kodal, Narenciye Atıklarından Gıda Katkı Maddesi Üretimini Mikrobiyal Üretim ile Karşılaştırmalı Olarak Değerlendirilmesi, Doktora Tezi, Hacettepe Üniversitesi, Ankara, 2016.
- [26] Ş. Uğurlu, Gıda Atıklarından Çeşitli Ön İşlemlerle Elde Edilen Besin Ortamlarında Rhodotorula glutinis Mayası ile β -Karoten Üretimini İncelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi, Ankara 2022.
- [27] J.M. Gonzalez, B. Aranda, Microbial Growth under Limiting Conditions-Future Perspectives, *Microorganisms* 11 (2023) 21.

- [28] H. Günan Yücel, Yüksek Lisans Tezi, Şeker Pancarı Küspesinin Biyoetanol Üretiminde Kullanılabilirliğinin Araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi, Ankara, **2011**.
- [29] A. T. Eren, Rhodotorula Türü Mayalar ile Beta-Karoten Üretimi, Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi, Ankara, **2003**.
- [30] L.B. Bullerman, SPOILAGE | Fungi in Food – An Overview, in: B. Caballero (Ed.), Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition 2nd ed, Academic Press, Oxford, 5511-5522, **2003**.
- [31] C. Nwakanma, M. Unachukwu, The Microbiological Quality of Food, in: A. Bevilacqua, M.R. Corbo, M. Sinigaglia (Eds.), Woodhead, Chapter 6, 133-148, **2017**.
- [32] R.M. Wallen, M.H. Perlin, An Overview of the Function and Maintenance of Sexual Reproduction in Dikaryotic Fungi, Front Microbiol 9 (**2018**) 503.
- [33] P. Saranraj, M. Geetha, Microbial spoilage of bakery products and its control by preservatives, International Journal of Pharmaceutical & biological archives 3 (**2012**) 38-48.
- [34] M. Manan, R. Mohamad, A. Ariff, *Monascus* spp.: A source of Natural Microbial Color through Fungal Biofermentation, Journal of Microbiology and Experimentation 5 (**2017**) 19.
- [35] M. Afroz Toma, M.H. Rahman, M.S. Rahman, M. Arif, K.H.M.N.H. Nazir, L. Dufossé, Fungal Pigments: Carotenoids, Riboflavin, and Polyketides with Diverse Applications, Journal of Fungi 9 (**2023**) 454.
- [36] P. Nigam, A. Pandey, Biotechnology for agro-industrial residues utilisation: Utilisation of agro-residues, 1st ed. Springer Dordrecht, 179, **2009**.
- [37] M.B. Egea, L.A. Dantas, T.L. de Sousa, A.G. Lima, A.C. Lemes, The potential, strategies, and challenges of *Monascus* pigment for food application, Frontiers in Sustainable Food Systems 7 (**2023**) 10.
- [38] S.N. Adin, I. Gupta, B.P. Panda, M. Mujeeb, Monascin and ankaflavin-Biosynthesis from *Monascus purpureus*, production methods, pharmacological properties: A review, Biotechnol. Appl. Biochem. 70 (**2023**) 137-147.
- [39] Q. Wen, X. Cao, Z. Chen, Z. Xiong, J. Liu, Z. Cheng, Z. Zheng, C. Long, B. Zheng, Z. Huang, An overview of *Monascus* fermentation processes for monacolin K production, Open Chemistry 18 (**2020**) 10-21.
- [40] L. Mou, R.Z. Pan, W.K. Jiang, W.M. Zhang, F.X. Xin, Y.J. Jiang, M. Jiang, Strategies on improvement of pigment formation and reduction of citrinin in *Monascus* fermentation, Biofuels Bioprod. Biorefining 17 (**2023**) 261-272.

- [41] V. Chaudhary, P. Katyal, A.K. Poonia, J. Kaur, A.K. Puniya, H. Panwar, Natural pigment from *Monascus*: The production and therapeutic significance, *J. Appl. Microbiol.* 133 (2023) 18-38.
- [42] D.L. Xu, J.M. Xie, X.L. Feng, X.F. Zhang, Z.Z. Ren, Y.Q. Zheng, J.M. Yang, Preparation and evaluation of a Rubropunctatin-loaded liposome anticancer drug carrier, *RSC Adv.* 10 (2020) 10352-10360.
- [43] N.P. Nirmal, A.C. Khanashyam, A.S. Mundanat, K. Shah, K.S. Babu, P. Thorakkattu, F. Al-Asmari, R. Pandiselvam, Valorization of Fruit Waste for Bioactive Compounds and Their Applications in the Food Industry, *Foods* 12 (2023) 556.
- [44] Y. Zhu, Y. Luan, Y. Zhao, J. Liu, Z. Duan, R. Ruan, Current Technologies and Uses for Fruit and Vegetable Wastes in a Sustainable System: A Review, *Foods* 12 (2023) 1949.
- [45] N. A. Sagar, S. Pareek, S. Sharma, E. M. Yahia, and M. G. Lobo, Fruit and Vegetable Waste: Bioactive Compounds, Their Extraction, and Possible Utilization, *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 17 (2018).
- [46] A. Ceyhun Sezgin, Fruit, Vegetable and our Health, *Journal of Tourism and Gastronomy Studies*, 2/2 (2014) 46-51.
- [47] E.M. Yahia, A. Carrillo-López, L.A. Bello-Perez, Postharvest Physiology and Biochemistry of Fruits and Vegetables, in: E.M. Yahia (Ed.), Woodhead Publishing, (2019) 175-383.
- [48] K. Rathnakumar, R.G.T. Kalaivendan, G. Eazhumalai, A.P. Raja Charles, P. Verma, S. Rustagi, S. Bharti, A. Kothakota, S.A. Siddiqui, J. Manuel Lorenzo, R. Pandiselvam, Applications of ultrasonication on food enzyme inactivation- recent review report (2017–2022), *Ultrasonics Sonochemistry* 96 (2023).
- [49] E. Yahia, Fruit and vegetable phytochemicals: Chemistry and human health, Chapter 20, 2nd edition, John Wiley & Sons, (2017) 423-450.
- [50] E. Yaralı, Meyve ve Sebze Teknolojisi-1, PowerPoint Presentation (adu.edu.tr), (Erişim tarihi: **30 Ekim 2023**)
- [51] İ. E. Dönmez, K. Başol ve S. K. Gülsoy, Bazı turunçgil türlerinin budama artıklarının kimyasal bileşimi ve lif özellikleri, *Turkish Journal of Forestry*, c. 23, sayı. 4, (2022) 335-340.
- [52] E. Aygören, Tarım Ürünleri Piyasaları: Portakal, 2023 Temmuz, PORTAKAL TÜP HAZİRAN 2023-TEPGE (tarimorman.gov.tr) (Erişim tarihi: **31 Ekim 2023**)
- [53] R. Richa, D. Kohli, D. Vishwakarma, A. Mishra, B. Kabdal, A. Kothakota, S. Richa, R. Sirohi, R. Kumar, B. Naik, Citrus fruit: Classification, value addition, nutritional and medicinal values, and relation with pandemic and hidden hunger, *Journal of Agriculture and Food Research* 14, (2023).

- [54] J.R. Ayala, G. Montero, M.A. Coronado, C. García, M.A. Curiel-Alvarez, J.A. León, C.A. Sagaste, D.G. Montes, Characterization of Orange Peel Waste and Valorization to Obtain Reducing Sugars, *Molecules* 26 (2021).
- [55] G. Demir Özyılmaz, Portakal (Citrus Sinensis L.) Posasından Kimyasal Aktivasyon ile Aktif Karbon Üretiminde Proses Parametrelerinin Etkisinin İncelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Sakarya Üniversitesi, Sakarya, 2023.
- [56] K. Rezzadori, S. Benedetti, E.R. Amante, Proposals for the residues recovery: Orange waste as raw material for new products, *Food and Bioproducts Processing*, 90 (2012) 606-614.
- [57] S.S. Lam, R.K. Liew, Y.M. Wong, E. Azwar, A. Jusoh, R. Wahi, Activated Carbon for Catalyst Support from Microwave Pyrolysis of Orange Peel, *Waste and Biomass Valorization* 8 (2017) 2109-2119.
- [58] Z. Yasan Ataseven, Tarım Ürünleri Piyasaları: Üzüm, 2023 Temmuz, ÜZÜM TÜP HAZİRAN 2023-TEPGE (tarimorman.gov.tr) (Erişim tarihi: 1 Kasım 2023)
- [59] Anonim, FoodData Central (usda.gov) (Erişim tarihi: 1 Kasım 2023)
- [60] M. Odabaşoğlu, F. İşlek, A. Çakır, Üzüm ve Bağ Atıklarının Yeniden Değerlendirilebilme Potansiyeli, Bahçe Bitkileri Faaliyetlerinde Yenilikçi Yaklaşımlar-2, (2022) 229-291.
- [61] İ. Ülger, M. Özdemir, Atık Kırmızı ve Beyaz Üzüm Posalarının Alternatif Kaba Yem Kaynağı Olarak Silolanmasının Besin Madde Kompozisyonu ve Silaj Kalite Özellikleri Üzerine Etkileri, *Osmaniye Korkut Ata Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 6, (2023) 792-805.
- [62] V.-C. Niculescu, R.-E. Ionete, An Overview on Management and Valorisation of Winery Wastes, *Applied Sciences* 13 (2023) 5063.
- [63] C. Beres, G.N.S. Costa, I. Cabezudo, N.K. da Silva-James, A.S.C. Teles, A.P.G. Cruz, C. Mellinger-Silva, R.V. Tonon, L.M.C. Cabral, S.P. Freitas, Towards integral utilization of grape pomace from winemaking process: A review, *Waste Management* 68, (2017) 581-594.
- [64] Anonim, OECD-FAO Agricultural Outlook 2023-2032, OECD-FAO Agricultural Outlook 2023-2032 (Erişim tarihi: 2 Kasım 2023)
- [65] M. Amjad, A Perspective Review on Sugar Industry Wastes, Uses and Treatment Techniques, *Open Access Journal of Waste Management & Xenobiotic*, (2023).
- [66] R. Singh, Chapter 3- Hybrid Membrane Systems – Applications and Case Studies, in: R. Singh (Ed.), *Membrane Technology and Engineering for Water Purification* (Second Edition), Butterworth-Heinemann, Oxford, 2015, 179-281.
- [67] A. Makambai Kyzy and A. Mazhitova, Biotechnological valorization of sugar beet wastes into value-added products, *MANAS Journal of Engineering*, vol. 11, no. 1, (2023) 136-144.

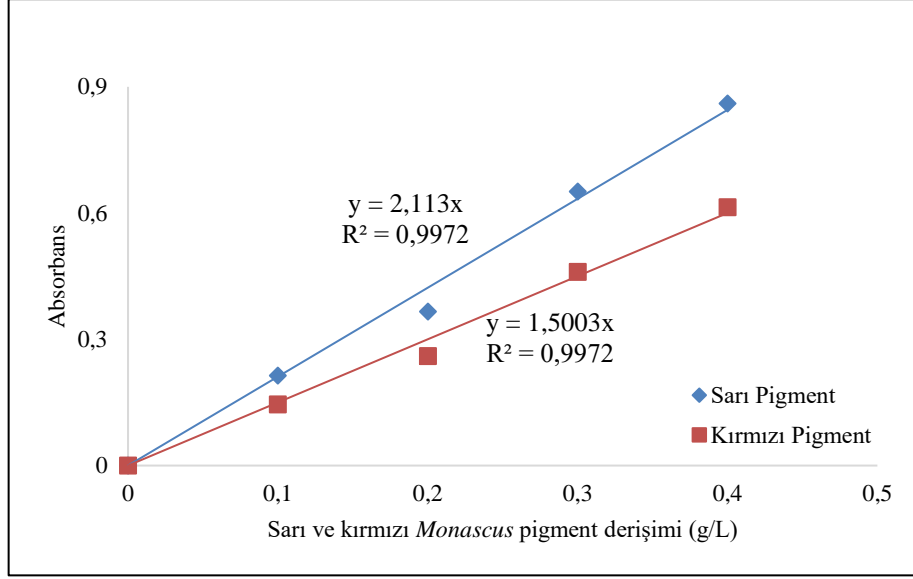
- [68] Y. Ünsal, Ürün Raporu Şeker pancarı 2022, Şeker Pancarı Ürün Raporu-TEPGE-354 (tarimorman.gov.tr) (Erişim tarihi: **2 Kasım 2023**)
- [69] L. Saric, B. Filipčev, O. Šimurina, D. Plavsic, B. Šarić, J. Lazarevic, I. Milovanović, Sugar beet molasses: Properties and applications in osmotic dehydration of fruits and vegetables, *Food and Feed Research* 43 (**2016**) 135-144.
- [70] M. Djordjević, Z. Šereš, T. Došenović, D. Šoronja-Simović, N. Maravić, D. Kukić, I. Nikolić, M. Djordjević, Sugar beet molasses purification by bentonite addition: Analysis of quality enhancement and treatment conditions, *LWT* 93 (**2018**) 142-149.
- [71] S. Pattanakittivorakul, N. Lertwattanasakul, M. Yamada, S. Limtong, Selection of thermotolerant *Saccharomyces cerevisiae* for high temperature ethanol production from molasses and increasing ethanol production by strain improvement, *Antonie van Leeuwenhoek* 112 (**2019**) 975-990.
- [72] S. Zhang, J. Wang, H. Jiang, Microbial production of value-added bioproducts and enzymes from molasses, a by-product of sugar industry, *Food Chemistry* 346 (**2021**).
- [73] A.M. Elgarahy, M.G. Eloffy, A. Alengebawy, D.M. El-Sherif, M.S. Gaballah, K.Z. Elwakeel, M. El-Qelish, Sustainable management of food waste; pre-treatment strategies, techno-economic assessment, bibliometric analysis, and potential utilizations: A systematic review, *Environmental Research* 225 (**2023**) 115558.
- [74] X. Ma, Z. Gao, M. Gao, Y. Ma, H. Ma, M. Zhang, Y. Liu, Q. Wang, Microbial lipid production from food waste saccharified liquid and the effects of compositions, *Energy Conversion and Management* 172 (**2018**) 306-315.
- [75] Q. Mushtaq, M. Irfan, F. Tabssum, J.I. Qazi, Potato peels: A potential food waste for amylase production, *JOURNAL OF FOOD PROCESS ENGINEERING* 40 (**2017**).
- [76] D. Bertasini, R.L. Binati, D. Bolzonella, F. Battista, Single Cell Proteins production from food processing effluents and digestate, *Chemosphere* 296 (**2022**) 134076.
- [77] S.T. Silveira, D.J. Daroit, A. Brandelli, Pigment production by *Monascus purpureus* in grape waste using factorial design, *LWT-Food Sci. Technol.* 41 (**2008**) 170-174.
- [78] G.R. Sahu, D. Chandrakar, A. Chakraborty, M. Rohini-Kumar, J.W. Osborne, Production and Extraction of Biopigments from Rice Malt by *Monascus purpureus*, *J. Pure Appl. Microbiol.* 7 (**2013**) 733-738.
- [79] S.T. Silveira, D.J. Daroit, V. Sant'Anna, A. Brandelli, Stability Modeling of Red Pigments Produced by *Monascus purpureus* in Submerged Cultivations with Sugarcane Bagasse, *Food Bioprocess Technol.* 6 (**2013**) 1007-1014.
- [80] A. Kantifedaki, V. Kachrimanidou, A. Mallouchos, S. Papanikolaou, A.A. Koutinas, Orange processing waste valorisation for the production of bio-based pigments using the fungal strains *Monascus purpureus* and *Penicillium purpurogenum*, *J. Clean Prod.* 185 (**2018**) 882-890.

- [81] P. Atalay, S. Sargin, Y. Goksungur, Utilization Of Residual Beer For Red Pigment Production By *Monascus purpureus* in Submerged Fermentation, Fresenius Environ. Bull. 29 (2020) 1025-1034.
- [82] H.E.F. Abdel-Raheem, S.A. Alrumman, S.I. Gadow, M.H. El-Sayed, D.M. Hikal, A.E.-L. Hesham, M.M.A. Ali, Optimization of *Monascus purpureus* for Natural Food Pigments Production on Potato Wastes and Their Application in Ice Lolly, Frontiers in Microbiology 13 (2022).
- [83] Y. Göksungur, S. Sarıyıldız, *Monascus purpureus*'dan Katı Kültür Fermantasyon Yöntemi ile Renk Pigmenti Üretimi, Akademik Gıda 19 (2021) 150-158.
- [84] H. Hajjaj, J.-M. François, G. Goma, P.J. Blanc, Effect of Amino Acids on Red Pigments and Citrinin Production in *Monascus ruber*, Journal of Food Science 77 (2012) M156-M159.
- [85] C.E. Fabre, A.L. Santerre, M.O. Loret, R. Baberian, A. Pareilleux, G. Goma, P. Blanc, Production and Food Applications of the Red Pigments of *Monascus ruber*, Journal of Food Science 58 (2006) 1099-1102.
- [86] R. Domínguez-Espinosa, C. Webb, Submerged fermentation in wheat substrates for production of *Monascus* pigments, World Journal of Microbiology and Biotechnology 19 (2003) 329-336.
- [87] S. Moradi, S. Mortazavi, Improvement of red pigment production and citrinin reduction from *Monascus purpureus* using dairy sludge: potential health benefits and fermentation strategies, (2024).
- [88] M. Patrovsky, K. Sinovska, B. Branska, P. Patakova, Effect of initial pH, different nitrogen sources, and cultivation time on the production of yellow or orange *Monascus purpureus* pigments and the mycotoxin citrinin, Food Sci Nutr 7 (2019) 3494-3500.

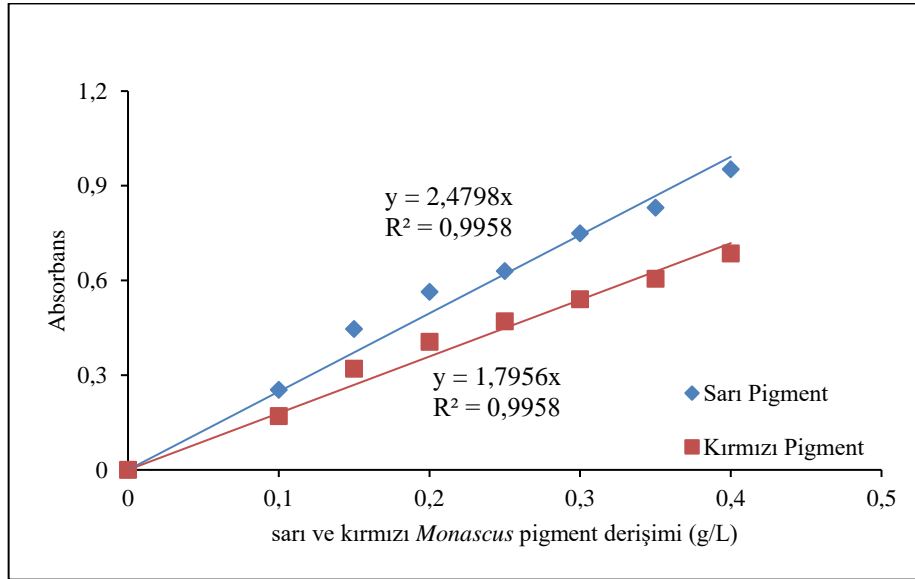
EKLER

EK 1. Sarı ve Kırmızı *Monascus* Pigmentlerinin Derişimlerinin Tayini

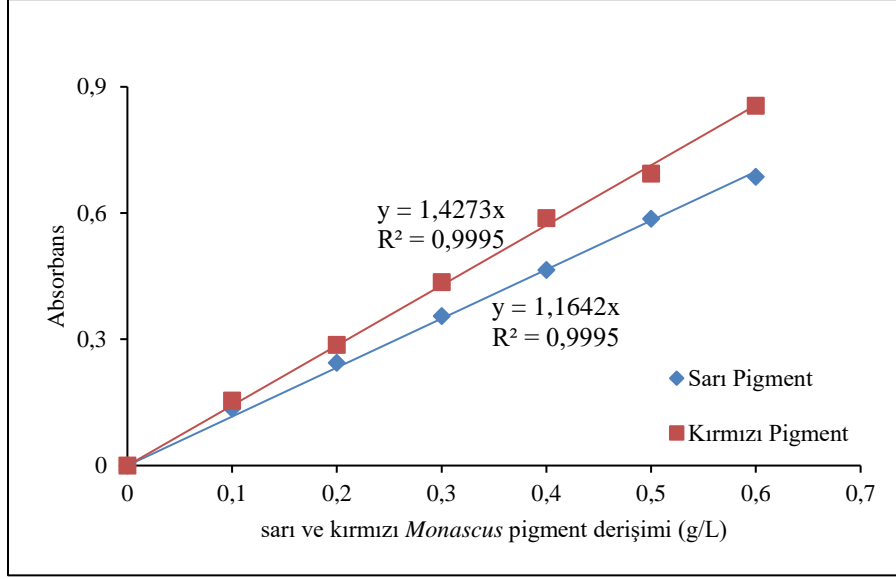
Yapılan tez çalışmasında sadece hücre dışı üretilen sarı ve kırmızı *Monascus* pigmentlerinin derişimleri tayin edilmiştir. Bu amaçla 20 g/L glikoz içeren besin ortamında, 40 g/L melas (20 g/L sakkaroz) içeren besin ortamında, 42,5 g portakal atığının 1 litre kaynar suyla ekstraksiyonu sonucunda elde edilen ve 20 g/L toplam indirgen şeker (TİŞ) içeren besin ortamında ve 28 g üzüm atığının 1 litre kaynar suyla ekstraksiyonu sonucunda elde edilen ve 20 g/L toplam indirgen şeker (TİŞ) içeren besin ortamında *Monascus purpureus* küf mantarı üretilmiş ve 9 gün süreyle pigment üretimi gerçekleştirilmiştir. Ardından her bir kültür ortamında üreyen mikroorganizma kütlesi filtrelenerek sıvı ortamdan ayrılmıştır. Sarı ve kırmızı pigmentleri içeren sıvı kısmın pH'ı HCl çözeltisi ile pH 3'e ayarlanmış ve 1:1 (v/v) oranında etil asetatla bir ayırma hunisinde karıştırılarak 1 saat süreyle ekstrakte edilmiştir. Daha sonra etil asetat 50°C'de vakum buharlaştırıcıda uzaklaştırılarak pigment karışımı elde edilmiştir. Glikoz ve melas içeren besin ortamlarında elde edilen pigment karışımından 0,5 g/L, diğer doğal besin ortamlarında elde edilen pigment karışımlarından ise 0,7 g/L pigment içeren ekim yapılmamış besin ortamlarından çözeltiler hazırlanmıştır. Bu çözeltiler seyreltilerek ve absorplandıkları en yüksek dalga boylarında her bir ortam ve pigment için çalışma doğruları hazırlanmıştır. Elde edilen çalışma doğruları EK 1.1.-EK1.4.'te gösterilmektedir.



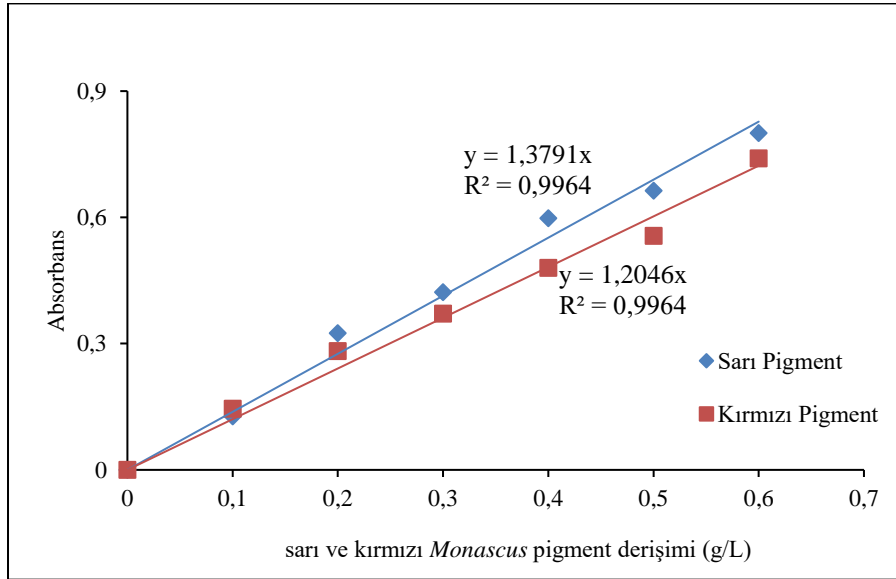
Şekil EK 1.1. Glikoz içeren yapay besin ortamında elde edilen sarı ve kırmızı *Monascus* pigmentlerinin çalışma doğruları ($\lambda_{\text{sarı}} = 360 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{kırmızı}} = 490 \text{ nm}$)



Şekil EK 1.2. Melas (sakkaroz) içeren besin ortamında elde edilen sarı ve kırmızı *Monascus* pigmentlerinin çalışma doğruları ($\lambda_{\text{sarı}} = 380 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{kırmızı}} = 495 \text{ nm}$)



Şekil EK 1.3. Portakal atığından elde edilen (TİŞ içeren) besin ortamında sarı ve kırmızı *Monascus* pigmentlerinin çalışma doğruları ($\lambda_{\text{sarı}}= 390 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{kırmızı}}= 485 \text{ nm}$)



Şekil EK 1.4. Üzüm atığından elde edilen (TİŞ içeren) besin ortamında sarı ve kırmızı *Monascus* pigmentlerinin çalışma doğruları ($\lambda_{\text{sarı}}= 395 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{kırmızı}}= 485 \text{ nm}$)

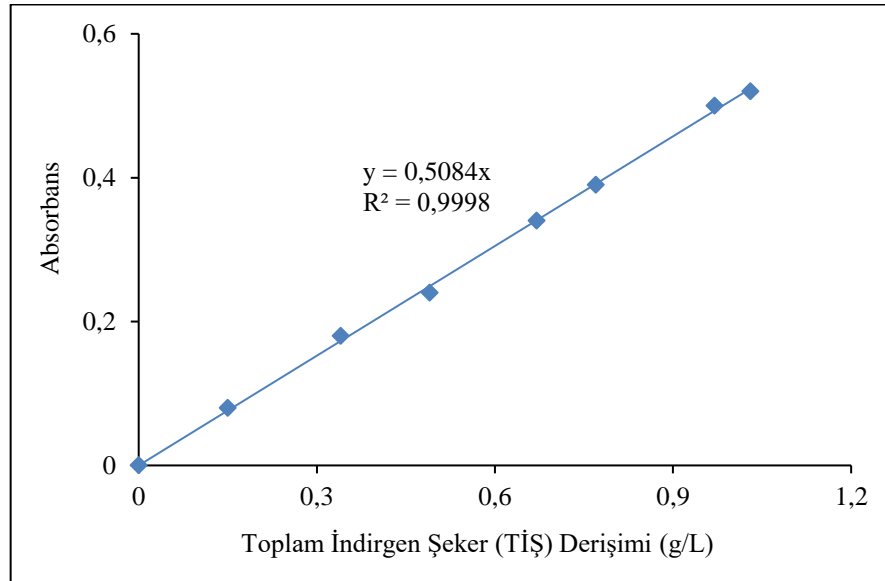
EK 2. Miller (DNS) Yöntemiyle Toplam İndirgen Şeker (TİŞ) Derişimi Tayini

Portakal ve üzüm atıklarından hazırlanan besin ortamlarındaki toplam indirgen şeker derişimi Miller yöntemiyle spektrofotometrik olarak tayin edilmiştir. TİŞ derişimi tayini için kullanılan çözeltiler;

DNS Çözeltisi: 10 g 3.5 dinitro salisilik asit, 10 g sodyum hidroksit ve 1.6 g fenol 1 L damıtık suda çözülmüştür. Bu çözeltinin 100 ml'sine çözeltiyi kullanmadan önce 1ml %1'lik sodyum sülfid ilave edilmiştir.

Rochella Tuzu Çözeltisi: 400 g potasyum sodyum tartarat 1 L damıtık suda çözülmüştür.

TİŞ içeren doğal besin ortamından alınan 2 ml örnek santrifüjlenerek, sıvı kısım 1.5 ml hacmindeki cam deney tüpüne alınmış, üzerine 1.5 ml DNS çözeltisi eklenmiş, tüpün ağzı streç film ile kapatılmış ve kaynamakta olan suyun içine konularak 10 dk süreyle bekletilmiştir. Daha sonra örneğe 0.5 ml Rochella tuzu çözeltisi eklenerek, örneğin oda sıcaklığına gelmesi beklenmiş ve UV-visible spektrotometrede kör olarak damıtık su kullanılarak 575 nm'de absorbans değeri ölçülmüş ve TİŞ derişimi çalışma doğrusu kullanılarak TİŞ derişimi tayin edilmiştir.



Şekil EK 3. Toplam indirgen şeker (TİŞ) derişimi çalışma doğrusu