

**NARENCİYE ATIKLARINDAN GIDA KATKI MADDESİ
ÜRETİMİNİN MİKROBİYAL ÜRETİM İLE KARŞILAŞTIRMALI
OLARAK DEĞERLENDİRİLMESİ**

**COMPARATIVE INVESTIGATION OF PRODUCTION OF
FOOD ADDITIVES FROM CITRUS WASTES WITH
MICROBIAL PRODUCTION**

S. PINAR KODAL

Prof. Dr. ZÜMRİYE AKSU

Tez Danışmanı

Hacettepe Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim – Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin

KİMYA Mühendisliği Anabilim Dalı İçin Öngördüğü

DOKTORA TEZİ olarak hazırlanmıştır.

2016

S. PINAR KODAL' in hazırladığı “**Narenciye Atıklarından Gıda Katkı Maddesi Üretiminin Mikrobiyal Üretim İle Karşılaştırmalı Olarak Değerlendirilmesi**” adlı bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından **KİMYA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI'** nda **DOKTORA TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Nuray YILDIZ

Başkan

.....

Prof. Dr. Zümriye AKSU

Danışman

.....

Prof. Dr. Gönül DÖNMEZ

Üye

.....

Prof. Dr. Deniz TANYOLAÇ

Üye

.....

Prof. Dr. Hülya Yavuz ERSAN

Üye

.....

Bu tez Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tarafından **DOKTORA TEZİ** olarak onaylanmıştır.

Prof.Dr. Fatma SEVİN DÜZ
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

Beni ben yapan, hayatımın asıl olanları, verdiğim en doğru kararların sonuçları;

Oğullarım Rüzgar Atlas, Kuzey Ateş ve Eşim Serkan KODAL'a,

ETİK

Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada,

- Tez içindeki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda ilgili eserlere bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu,
- Atıfta bulunduğum eserlerin tümünü kaynak olarak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı,
- Ve bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversitede veya başka bir üniversitede başka bir tez çalışması olarak sunmadığımı

beyan ederim.

11.01.2016

S. PINAR KODAL

ÖZET

NARENCİYE ATIKLARINDAN GIDA KATKI MADDESİ ÜRETİMİNİN MİKROBİYAL ÜRETİM İLE KARŞILAŞTIRMALI OLARAK DEĞERLENDİRİLMESİ

S. Pınar KODAL

Doktora, Kimya Mühendisliği Bölümü

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Zümriye AKSU

Ocak 2016, 171 sayfa

Bu tez çalışmasında gıda katkı maddesi olarak kullanılması düşünülen doğal flavonoidlerden fenolik ve karoten pigmentlerin atık portakal kabuğundan soksalet ekstraksiyonu yöntemiyle elde edilmesi ve *R. glutinis*'ten mikrobiyal yolla β -Karoten üretiminde atık portakal kabuklarının besin ortamı olarak kullanılabilirliğinin araştırılması hedeflenmiştir.

Çalışmaların ilk kısmında kurutulmuş posalı, kurutulmuş posasız ve dondurulmuş posalı atık portakal kabuklarından soksalet ekstraksiyonuyla fenolik ve karoten pigmentlerin üretimi gerçekleştirilmiştir. Ekstraksiyon hız ve verimine kabuk türünün, tanecik boyut aralığının, sıvı/katı oranının, çözücü türünün ve ekstraksiyon öncesinde kabuğa uygulanan ön işlemin etkileri araştırılmış ve ekstraksiyonun ikinci dereceden kinetik modellenmesi yapılarak kinetik sabitler bulunmuştur. 79°C'da çözücü olarak etanolün kullanıldığı kurutulmuş posasız portakal kabuğundan

pigment ekstraksiyonunda, 0.5 mm'den küçük taneciklerle, 40:1 sıvı/katı oranında en yüksek fenolik pigment verimi % 57.3 (0.57 g fenolik pigment/g kuru kabuk) bulunmuştur. En yüksek karoten pigment verimi ise aynı çalışma koşullarında 1.41-3.36 mm boyut aralığındaki donmuş posalı portakal kabuğundan % 0.45 (4.5 mg karoten pigment/g kuru kabuk) olarak saptanmıştır.

Çalışmaların ikinci kısmında ise yapay ve yaş ve kurutulmuş portakal kabuklarından hazırlanmış doğal besin ortamlarında *R. glutinis* mayasından β -Karoten üretimi gerçekleştirilmiştir. *R. glutinis*'in üremesi ve β -Karoten üretimi üzerine yapay besin ortamında başlangıç glukoz derişiminin, doğal besin ortamlarında ise başlangıç pH'ının, K/S oranının (başlangıç substrat derişiminin) ve kabuk türünün etkileri araştırılmıştır. Kuru ve yaş portakal kabuğundan hazırlanan doğal besin ortamlarının *R. glutinis* mayasının üremesi için elverişli koşulları sağladığı, *R. glutinis*'in β -Karoten üretimini ise yapay besin ortamındaki üretime göre çok büyük ölçüde arttırdığı gözlenmiştir. Mayanın kuru portakal kabuğundan hazırlanan doğal besin ortamında 29°C'da, 120 rpm karıştırma hızında, başlangıç pH'ı 5.5'te K/S=8.3:1 g/L oranında (3.7 g/L toplam indirgen şeker derişiminde) ürettiği en yüksek β -Karoten pigment verimi 8.3 mg β -karoten/g kuru kabuk olarak bulunmuştur. *R. glutinis*'e ait kinetik sabitler yapay besin ortamında Monod Eşitliğinden, doğal besin ortamında ise yarışmalı ve yarışmasız inhibisyon modelleri kullanılarak bulunmuştur.

Ekstraksiyon ve mikrobiyal fermentasyon sonucunda elde edilen karoten pigment verimleri karşılaştırıldığında, ekstraksiyonda birim kuru portakal kabuğu kütlesi başına en yüksek 4.5 mg karoten pigment elde edilirken, mikrobiyal üretimde bu değer 8.3 mg β -Karoten olarak saptanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Atık portakal kabuğu, fenolik pigment, karoten pigment, β -Karoten, Sokslet ekstraksiyonu, *R. glutinis*, maya, fermentasyon.

SUMMARY

COMPARATIVE INVESTIGATION OF PRODUCTION OF FOOD ADDITIVES FROM CITRUS WASTES WITH MICROBIAL PRODUCTION

S. Pınar KODAL

Doctor of Philosophy, Department of Chemical Engineering

Supervisor: Prof. Dr. Zümriye AKSU

January 2016, 171 pages

In this thesis study the production of phenolic and carotene pigments, which are natural flavonoids, and thought to be used as food additives from waste orange peels by Soxhlet extraction and the usage of waste orange peels in the natural growth medium in the production of β -Carotene by fermentation are aimed.

In the first part of the studies the production of phenolic and carotene pigments from dried pulpy, dried pulpless and frozen pulpy waste orange peels were performed by Soxhlet extraction. The effects of type of peel, particle size, liquid/solid ratio, type of solvent and pretreatment of the peel before extraction on the extraction rate and yield were investigated and the kinetic constants were found by second order extraction modelling. In the pigment extraction from dried pulpless orange peel with ethanol at 79°C with particles smaller than 0.5 mm and at 40:1 liquid/solid ratio, the highest phenolic pigment yield was found as 57.3 % (0.57 g phenolic pigment/g dry

peel). Under the same working conditions the highest carotene pigment yield from frozen pulpy peels with the particles in the size range of 1.41-3.36 mm, was determined as 0.45 % (4.5 mg phenolic pigment/ g dry peel).

In the second part of the studies the production of β -Carotene from the yeast *R. glutinis* in artificial and natural growth media prepared from dried and fresh orange peels was carried out. The effect of initial glucose concentration in the artificial medium and the effects of initial pH, S/L ratio (initial substrate concentration) and type of the peel in natural media on the growth of *R. glutinis* and β -Carotene production were researched. It was observed that natural growth media prepared from dried and fresh orange peels provided the suitable conditions for the growth of yeast *R. glutinis* and also increased β -Carotene production of the yeast considerably in comparison to the growth in the artificial media. The highest β -Carotene yield was found as 8.3 mg β -Carotene/g dry peel in the medium prepared from dry orange peel at 29°C, at 120 rpm stirring rate and at an initial pH value of 5.5 with a S/L ratio of 8.3:1 (3.7 g/L total reducing sugar concentration). The kinetic constants of the growth of *R. glutinis* were found by using Monod Equation in the artificial medium, and by using noncompetitive and competitive substrate inhibition models in the natural growth medium.

When carotene pigment yields obtained at the end of fermentation and extraction were compared, it was found that maximum 4.5 mg β -Carotene/g dry peel was achieved by extraction and was obtained maximum 8.3 mg β -Carotene/g dry peel by fermentation.

Keywords: Waste orange peel, phenolic pigment, carotene pigment, β -Carotene, Soxhlet extraction, *R. glutinis*, yeast, fermentation.

TEŞEKKÜR

Öncelikle kimya mühendisi, ardından yüksek mühendis ve şimdi de doktor kimya mühendisi olmamda ki emeklerinden ötürü kendisine her zaman minnet duyacağım, tez konumun seçiminde, çalışmalarımın yönlendirilmesi ve sonuçlandırılmasında büyük yardımlarını gördüğüm, sadece akademik anlamda değil hayatımın her aşamasında yanımda olmasından büyük mutluluk ve gurur duyacağım çok sevdiğim saygıdeğer hocam sayın Prof. Dr. Zümriye AKSU'ya sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Tavsiyeleri ve paylaşımları için Tez İzleme Komitesi üyeleri sayın Prof. Dr. Deniz TANYOLAÇ ve sayın Prof. Dr. Gönül DÖNMEZ'e,

Sağladığı doktora bursu ile beni cesaretlendiren ve maddi olarak destekleyen TÜBİTAK BİLİM İNSANI DESTEKLEME DAİRE BAŞKANLIĞI'na,

Tez çalışmamı 816 numaralı proje kapsamında destekleyen HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ BİLİMSEL ARAŞTIRMALAR BİRİMİ'ne,

Her olanağından yararlandığım Hacettepe Üniversitesi Kimya Mühendisliği Bölümü ve Ailesi'ne,

Kendisiyle ortak bir alanı paylaşmaktan her zaman mutluluk duyduğum, küçük bir tezgahın bile paylaştıkça büyüdüğüne sayesinde şahit olduğum, canım laboratuvar ortağım Arş. Görv. Hande Günan YÜCEL'e, kendisine öğretirken öğrendiğim deneylerimde bana çok destek olan Ece Turan'a,

En zor zamanları güzelleştiren, yalnız olmamanın verdiği huzuru her zaman sayelerinde hissettiğim, Arş. Görv. eskimeyen dostlarım, A. Aslıhan GÖKALTUN, K. Özlem HAMALOĞLU, F. Çiğdem KİP, ve Özge Yüksel ORHAN'A,

Çalışmamda sunulan özel analizleri gerçekleştirmesinin yanında, manevi desteğini de her zaman gördüğüm Belgin ASLAN'a, enerjisine büyük hayranlık duyduğum, mutlulukları çoğaltan, sıkıntıları mutluluğa dönüştüren, desteğini her zaman gördüğüm, çok sevdiğim Hatice YALÇINDERE'ye

"Word" dehası, yardım meleği, çok sevdiğim Arş. Görv. İlkay KOÇER'e,

Hep var olmasını istediğim kardeşim yerine koyduğum, varlığıyla beni mutlu eden, yokluğunu büyük eksiklik olarak hissettiğim Ebru SAĞ'a,

Varlıkları sayesinde kendime hedefler koyduğum ve başarmaktan özellikle onlar adına gurur duyduğum, mesafelerin önemli olmadığını en güzel örnekleri, "İçim" Ailem'e,

Bu tez çalışmamın benim için bu kadar değerli olmasının asıl nedenleri, çalışmamla birlikte büyüyen çocuklarıma, onlardan çaldığım zamanlar için özürü bir borç bilirken, bu zamanların onlar için eksiklik olmamasını sağlayan, en iyi dostum, yol arkadaşım, canım Eşim'e,

en içten teşekkürlerimi sunarım,

S. Pınar KODAL

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
SUMMARY	iii
TEŞEKKÜR	v
İÇİNDEKİLER.....	vi
ÇİZELGELER.....	x
ŞEKİLLER	xvi
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xxii
Simgeler	xxii
1. GİRİŞ	1
2. TEMEL BİLGİLER	3
2.1. Gıda Atıkları	3
2.1.1. Narenciye Atıkları	3
2.2. Gıda Katkı Maddeleri	9
2.2.1. Pigmentler	10
2.2.1.1. Doğal Pigmentler	11
2.2.1.2. Doğala Özdeş Pigmentler	14
2.2.1.3. Yapay Pigmentler	15
2.3. Ekstraksiyon	16
2.3.1. Sokslet Ekstraksiyonu ve Sokslet Ekstraktörü.....	19
2.4. Mikroorganizmalar	22
2.4.1. Mikroorganizmaların Genel Özellikleri.....	22
2.4.2. Mikroorganizmaların Besin Ortamı	23
2.4.2.1. Karbon (Enerji) Kaynağı	24
2.4.2.2. Azot Kaynağı	24

2.4.2.3. Mineral Kaynağı.....	24
2.4.3. Mikrobiyal Üremeye Etki Eden Fiziksel Parametreler.....	25
2.4.3.1. Ortam pH'ı	25
2.4.3.2. Sıcaklık	25
2.4.3.3. Çözünmüş Oksijen İhtiyacı	26
2.4.3.4. Engelleyici Maddeler (İnhibitörler).....	26
2.4.4. Mikrobiyal Üreme	27
2.4.5. Mayalar	28
2.4.5.1. Mayaların β -Karoten Üretiminde Kullanılması	30
2.4.5.2. <i>Rhodotorula</i> Türü Mayalar	31
3. DENEY SİSTEMİNİN MATEMATİKSEL TANIMLANMASI	35
3.1. Sokslet Ekstraksiyonuyla Pigment Üretiminin Matematiksel Tanımlanması.....	35
3.1.1. Portakal Kabuğunun Ekstrakte Edilebilen Pigment Kapasitesi (q)	35
3.1.2. Başlangıç Ekstraksiyon Hızı.....	35
3.1.3. Ekstraksiyon Verimi.....	36
3.1.4. Ekstraksiyon Kinetik Modelinin Tanımlanması	36
3.2. Kesikli Sistemde Mikrobiyal Üremenin ve Pigment Üretiminin Matematiksel Tanımlanması	38
3.2.1. Mikroorganizma Özgül Üreme Hızı	38
3.2.2. Mikroorganizmanın Substrat Tüketim Hızı	38
3.2.3. Mikroorganizmanın Pigment Üretim Hızı	39
3.2.4. Pigment (β -Karoten) Verimi.....	40
3.2.4.1. Mikroorganizma Derişimine Bağlı Pigment Verimi	40
3.2.4.2. Başlangıç Substrat Derişimine Bağlı Pigment Verimi	41
3.2.4.3. Kullanılan Kuru Portakal Kabuğu Miktarına Bağlı Pigment Verimi ...	41

3.3. Yapay ve Portakal Kabuğundan Elde Edilen Besin Ortamlarında Üreyen Mikroorganizmanın Tek Substratın Kısıtlayıcı Olduğu Durumda Büyüme Kinetiğinin Modellenmesi	41
3.4. Substrat İnhibisyonu Olduğu Durumda Üreme Kinetiğinin Modellenmesi	42
4. DENEY SİSTEMİ VE YÖNTEMLERİ	44
4.1. Sokslet Ekstraksiyonu Çalışmaları	44
4.1.1. Materyal	44
4.1.2. Deney Sistemi	44
4.1.4. Analiz Yöntemleri	47
4.1.4.1. Pigment Derişimi Tayini	47
4.1.4.2. FTIR ve TGA Analizleri	48
4.2. Mikroorganizma Çalışmaları	48
4.2.1. Mikrobiyal Üremede Kullanılan Mikroorganizma ve Üreme Koşulları	48
4.2.1.1. Yapay Besin Ortamında <i>R. glutinis</i> 'in Üretim Çalışmaları	48
4.2.1.2. Atık Portakal Kabuğundan Hazırlanan Doğal Besin Ortamında <i>R. glutinis</i> 'in Üretim Çalışmaları	49
4.2.2. Deney Sistemi	50
4.2.2. Analiz Yöntemleri	51
4.2.2.1. Mikroorganizma Derişimi Tayini	51
4.2.2.2. Toplam İndirgen Şeker Derişimi Tayini	52
4.2.2.3. β -Karoten Derişimi Tayini	52
4.2.2.4. Kurutulmuş Posalı Portakal Kabuğunun ve Bundan Hazırlanan Doğal Besin Ortamının İnorganik Madde Tayini	52
5. DENEYSEL SONUÇLAR	53
5.1. Atık Portakal Kabuğu ile Ekstraksiyon Çalışmaları	54
5.1.1. Posalı Portakal Kabuğu ile Yapılan Çalışmalar	54

5.1.1.1. Kurutulmuş Posalı Portakal Kabuğu (KPPK) Çalışmaları	54
5.1.1.1.1. Tanecik Boyutunun Etkisi	54
5.1.1.1.2. Sıvı/Katı Oranı (S/K) Etkisi	67
5.1.1.1.3. Çözücü Etkisi	80
5.1.1.2. Dondurulmuş Posalı Portakal Kabuğu (DPPK) Çalışmaları	89
5.1.1.2.1. Ön İşlem (Şişirme) Etkisi	89
5.1.2. Kurutulmuş Posasız Dış Portakal Kabuğu (KPDPK) ile Yapılan Çalışmalar	97
5.1.2.1. Tanecik Boyutu Etkisi	97
5.2. <i>Rhodotorula glutinis</i> Mayası ile β -Karoten Üretim Çalışmaları	110
5.2.1. Yapay Besin Ortamında Yapılan Çalışmalar	110
5.2.1.1. Başlangıç Substrat Değişiminin Etkisi	110
5.2.2. Kuru Posalı Portakal Kabuğundan Elde Edilen Doğal Besin Ortamında Yapılan Çalışmalar	115
5.2.2.1. Başlangıç pH'ının Etkisi	115
5.2.2.2 Katı/Sıvı Oranının (Başlangıç Substrat Değişiminin) Etkisi	116
5.2.3. Yaş Posalı Portakal Kabuğundan Elde Edilen Doğal Besin Ortamında Yapılan Çalışmalar	122
6. SONUÇLAR VE TARTIŞMA	125
REFERANSLAR	145
EKLER	156
ÖZGEÇMİŞ	170

ÇİZELGELER

Çizelge 2.1. Dünyada Yıllara Göre Narenciye Üretimi.....	4
Çizelge 2.2. Dünyada Türlerle Göre Narenciye Üretimi	4
Çizelge 2.3. Türkiye’de Yıllara Göre Narenciye Üretimi	5
Çizelge 2.4. Portakalın Besin Değerleri [18].....	7
Çizelge 2.5. Gıdalarda Kullanımı Yasaklanan Yapay Pigmentler [39].....	15
Çizelge 2.6. Ekstraksiyonda Yaygın Olarak Kullanılan Çözücüler ve Özellikleri [47-49]	18
Çizelge 2.7. Sokslet Ekstraktörünün Avantajları-Dezavantajları [52, 53].....	21
Çizelge 2.8. <i>Rhodotorula glutinista</i> Üretilen Bileşikler [74, 77-90]	32
Çizelge 4.1. Ekstraksiyon Sürecinde Çalışılan Parametreler	46
Çizelge 4.2. <i>R. glutinis</i> 'in Üretilmesi için Kullanılan Yapay Besin Ortamı Bileşenleri	48
Çizelge 4.3. Portakal Kabuğundan Hazırlanan Doğal Besin Ortamlarında Mikrobiyal Üreme ve Mikroorganizmanın β -Karoten Üretiminde Araştırılan Parametreler	50
Çizelge 5.1. KPPK’dan Fenolik Pigment Ekstraksiyonunda Farklı Tanecik Boyut Aralıklarında Elde Edilen Kararlı Durumda Birim Çözücü Hacmi Başına Ekstrakte Edilen Fenolik Pigment Miktarları (C_{mf}), Birim Kuru Kabuk Kütlesi Başına Ekstrakte Edilen Fenolik Pigment Miktarları (q_{mf}) ve % Fenolik Pigment Verimleri	57
Çizelge 5.2. KPPK’dan Fenolik Pigment Ekstraksiyonunda Farklı Tanecik Boyut Aralıklarında Elde Edilen İkinci Derece Kinetik Sabitler, Teorik ve Deneysel Başlangıç Hızları ve Teorik Dengede ve Deneysel Kararlı Durumlarda Birim Çözücü Hacmi Başına Ekstrakte Edilen Fenolik Pigment Miktarları.....	58
Çizelge 5.3. KPPK’dan Fenolik Pigment Ekstraksiyonunda Ortalama Tanecik Boyutunda Elde Edilen Deneysel C_f Değerlerinin Teorik C_f Değerleri ile % Hata Değerleri Verilerek Karşılaştırılması	61
Çizelge 5.4. KPPK’dan Karoten Pigment Ekstraksiyonunda Farklı Tanecik Boyut Aralıklarında Elde Edilen Kararlı Durumda Birim Çözücü Hacmi Başına Ekstrakte	

Edilen Karoten Pigment Miktarları (C_{mk}), Birim Kuru Kabuk Kütlesi Başına Ekstrakte Edilen Karoten Pigment Miktarları (q_{mk}) ve % Karoten Pigment Verimleri.....	64
Çizelge 5.5. KPPK'dan Karoten Pigment Ekstraksiyonunda Farklı Tanecik Boyut Aralıklarında Elde Edilen İkinci Derece Kinetik Sabitler, Teorik ve Deneysel Başlangıç Hızları ve Teorik Dengede ve Deneysel Kararlı Durumlarda Birim Çözücü Hacmi Başına Ekstrakte Edilen Karoten Pigment Miktarları	65
Çizelge 5.6. KPPK'dan Fenolik Pigment Ekstraksiyonunda Farklı S/K Oranlarında Elde Edilen, Kararlı Durumda Birim Çözücü Hacmi Başına Ekstrakte Edilen Fenolik Pigment Miktarları (C_{mf}), Birim Kuru Kabuk Kütlesi Başına Ekstrakte Edilen Fenolik Pigment Miktarları (q_{mf}) ve % Fenolik Pigment Verimleri.....	69
Çizelge 5.7. KPPK'dan Fenolik Pigment Ekstraksiyonunda Farklı S/K Oranlarında Elde Edilen İkinci Derece Kinetik Sabitler, Teorik ve Deneysel Başlangıç Hızları ve Teorik Dengede ve Deneysel Kararlı Durumlarda Birim Çözücü Hacmi Başına Ekstrakte Edilen Fenolik Pigment Miktarları	70
Çizelge 5.8. KPPK'dan Fenolik Pigment Ekstraksiyonunda Farklı S/K Oranlarında Deneysel C_f Değerlerinin Teorik C_f Değerleri ile % Hata Değerleri Verilerek Karşılaştırılması.....	73
Çizelge 5.9. KPPK'dan Karoten Pigment Ekstraksiyonunda Farklı S/K Oranlarında Elde Edilen, Kararlı Durumda Birim Çözücü Hacmi Başına Ekstrakte Edilen Karoten Pigment Miktarları (C_{mk}), Birim Kuru Kabuk Kütlesi Başına Ekstrakte Edilen Karoten Pigment Miktarları (q_{mk}) ve % Karoten Pigment Verimleri	76
Çizelge 5.10. KPPK'dan Karoten Pigment Ekstraksiyonunda Farklı S/K Oranlarında Elde Edilen İkinci Derece Kinetik Sabitler, Teorik ve Deneysel Başlangıç Hızları, Teorik Dengede ve Deneysel Kararlı Durumda Birim Çözücü Hacmi Başına Ekstrakte Edilen Karoten Pigment Miktarları	78
Çizelge 5.11. KPPK'dan Etanol ve Saf Su'ya Fenolik Pigment Ekstraksiyonunda Elde Edilen Kararlı Durumda Birim Çözücü Hacmi Başına Ekstrakte Edilen Fenolik Pigment Miktarları (C_{mf}), Birim Kuru Kabuk Kütlesi Başına Ekstrakte Edilen Fenolik Pigment Miktarları (q_{mf}) ve % Fenolik Pigment Verimleri.....	83

Çizelge 5.12. KPPK'dan Fenolik Pigment Ekstraksiyonunda Farklı Çözücülerle Elde Edilen İkinci Derece Kinetik Sabitler, Teorik ve Deneysel Başlangıç Hızları ve Teorik Dengede ve Deneysel Kararlı Durumlarda Birim Çözücü Hacmi Başına Ekstrakte Edilen Fenolik Pigment Miktarları	84
Çizelge 5.13. KPPK'dan Karoten Pigment Ekstraksiyonunda Farklı Çözücülerle Elde Edilen Kararlı Durumda Birim Çözücü Hacmi Başına Ekstrakte Edilen Karoten Pigment Miktarları (C_{mk}), Birim Kuru Kabuk Kütlesi Başına Ekstrakte Edilen Karoten Pigment Miktarları (q_{mk}) ve % Karoten Pigment Verimleri	87
Çizelge 5.14. KPPK'dan Karoten Pigment Ekstraksiyonunda Farklı Çözücülerle Elde Edilen İkinci Derece Kinetik Sabitler, Teorik ve Deneysel Başlangıç Hızları ve Teorik Dengede ve Deneysel Kararlı Durumda Birim Çözücü Hacmi Başına Ekstrakte Edilen Karoten Pigment Miktarları	88
Çizelge 5.15. Şişirme Uygulanmış ve Uygulanmamış DPPK'dan Fenolik Pigment Ekstraksiyonunda Elde Edilen Kararlı Durumda Birim Çözücü Hacmi Başına Ekstrakte Edilen Fenolik Pigment Miktarları (C_{mf}), Birim Kuru Kabuk Kütlesi Başına Ekstrakte Edilen Fenolik Pigment Miktarları (q_{mf}) ve % Fenolik Pigment Verimleri	91
Çizelge 5.16. Şişirme Uygulanmış ve Uygulanmamış DPPK'dan Fenolik Pigment Ekstraksiyonunda Elde Edilen İkinci Derece Kinetik Sabitler, Teorik ve Deneysel Başlangıç Hızları ve Teorik Dengede ve Deneysel Kararlı Durumlarda Birim Çözücü Hacmi Başına Ekstrakte Edilen Fenolik Pigment Miktarları	93
Çizelge 5.17. Şişirme Uygulanmış ve Uygulanmamış DPPK'dan Karoten Pigment Ekstraksiyonunda Elde Edilen Kararlı Durumda Birim Çözücü Hacmi Başına Ekstrakte Edilen Karoten Pigment Miktarları (C_{mf}), Birim Kuru Kabuk Kütlesi Başına Ekstrakte Edilen Karoten Pigment Miktarları (q_{mf}) ve % Karoten Pigment Verimleri	95
Çizelge 5.18. Şişirme Uygulanmış ve Uygulanmamış DPPK'dan Karoten Pigment Ekstraksiyonunda Elde Edilen İkinci Derece Kinetik Sabitler, Teorik ve Deneysel Başlangıç Hızları ve Teorik Dengede ve Deneysel Kararlı Durumda Birim Çözücü Hacmi Başına Ekstrakte Edilen Karoten Pigment Miktarları	96
Çizelge 5.19. KPDPK'dan Fenolik Pigment Ekstraksiyonunda Farklı Tanecik Boyut Aralıklarında Elde Edilen Kararlı Durumda Birim Çözücü Hacmi Başına Ekstrakte	

Edilen Fenolik Pigment Miktarları (C_{mf}), Birim Kuru Kabuk Kütlesi Başına Ekstrakte Edilen Fenolik Pigment Miktarları (q_{mf}) ve % Fenolik Pigment Verimleri	99
Çizelge 5.20. KPDPK'dan Fenolik Pigment Ekstraksiyonunda Farklı Tanecik Boyut Aralıklarında Elde Edilen İkinci Derece Kinetik Sabitler, Teorik ve Deneysel Başlangıç Hızları ve Teorik Dengede ve Deneysel Kararlı Durumlarda Birim Çözücü Hacmi Başına Ekstrakte Edilen Fenolik Pigment Miktarları	101
Çizelge 5.21. KPDPK'dan Fenolik Pigment Ekstraksiyonunda Ortalama Tanecik Boyutunda Elde Edilen Deneysel C_f Değerlerinin Teorik C_f Değerleri ile % Hata Değerleri Verilerek Karşılaştırılması	103
Çizelge 5.22. KPDPK'dan Karoten Pigment Ekstraksiyonunda Farklı Tanecik Boyut Aralıklarında Elde Edilen Kararlı Durumda Birim Çözücü Hacmi Başına Ekstrakte Edilen Karoten Pigment Miktarları (C_{mk}), Birim Kuru Kabuk Kütlesi Başına Ekstrakte Edilen Karoten Pigment Miktarları (q_{mk}) ve % Karoten Pigment Verimleri.....	106
Çizelge 5.23. KPDPK'dan Karoten Pigment Ekstraksiyonunda Farklı Tanecik Boyut Aralıklarında Elde Edilen İkinci Derece Kinetik Sabitler, Teorik ve Deneysel Başlangıç Hızları ve Teorik Dengede ve Deneysel Kararlı Durumlarda Birim Çözücü Hacmi Başına Ekstrakte Edilen Karoten Pigment Miktarları	108
Çizelge 5.24. <i>R. glutinis</i> için Farklı Başlangıç Glukoz Derişimlerinde Elde Edilen En Yüksek Mikroorganizma ve β -Karoten Derişimleri ile β -Karoten Verim Değerleri..	111
Çizelge 5.25. Kuru Posalı Portakal Kabuğundan Hazırlanmış Doğal Besin Ortamında <i>R. glutinis</i> için Farklı Başlangıç pH Değerlerinde Elde Edilen En Yüksek Mikroorganizma ve β -Karoten Derişimleri ile β -Karoten Verim Değerleri	116
Çizelge 5.26. Kurutulmuş Portakal Kabuğundan Hazırlanmış Doğal Besin Ortamında K/S Oranının Değiştirilmesiyle Elde Edilen Toplam İndirgen Şeker Derişim Değerleri.....	117
Çizelge 5.27. Kuru Posalı Portakal Kabuğundan Hazırlanmış Doğal Besin Ortamında <i>R. glutinis</i> ten β -Karoten Üretiminde Farklı Katı/Sıvı Oranlarında (Şeker Derişimlerinde) Elde Edilen En Yüksek Mikroorganizma ve β -Karoten Derişimleri ile β -Karoten Verim Değerleri.....	120

Çizelge 5.28. Püre ve Tanecik Yaş Portakal Kabuklarından K/S=66.6:1 g k. kabuk/L Oranında Hazırlanan Doğal Besin Ortamlarının Toplam İndirgen Şeker Derişimleri	122
Çizelge 5.29. Püre ve Tanecik Yaş Portakal Kabuklarından K/S=66.6:1 g k. kabuk/L Oranında Hazırlanan Doğal Besin Ortamlarında Elde Edilen En Yüksek Mikroorganizma ve β -Karoten Derişimleri, <i>R. glutinis</i> 'in Özgöl Üreme, β -Karoten Üretim ve Substrat Tüketim Hızları, β -Karoten Verim Değerleri	124
Çizelge 6.1. KPPK, DPPK ve KPDPK'tan Fenolik Pigment Ekstraksiyonunda Kararlı Durumda Elde Edilen Birim Çözücü Hacmi Başına Ekstrakte Edilen Fenolik Pigment Miktarları (C_{mf}), Birim Kuru Kabuk Kütlesi Başına Özütlenen Fenolik Pigment Miktarları (q_{mf}), Başlangıç Ekstraksiyonu Hızları (h_f) ve % Fenolik Pigment Verimleri	128
Çizelge 6.2. KPPK, DPPK ve KPDPK'dan Fenolik Pigment Ekstraksiyonunda Elde Edilen İkinci Derece Ekstraksiyon Hız Sabitleri (k_f), Başlangıç Teorik Ekstraksiyon Hızları ($h_{f,teo}$) ve Teorik Ekstraksiyon Dengesi Durumunda Çözücüye Geçen Fenolik Pigment Derişimleri (C_{sf})	132
Çizelge 6.3. KPPK, DPPK ve KPDPK'dan Karoten Pigment Ekstraksiyonunda Kararlı Durumda Elde Edilen Birim Çözücü Hacmi Başına Ekstrakte Edilen Karoten Pigment Miktarları (C_{mk}), Birim Kuru Kabuk Kütlesi Başına Özütlenen Karoten Pigment Miktarları (q_{mk}), Başlangıç Ekstraksiyonu Hızları (h_k) ve % Karoten Pigment Verimleri	134
Çizelge 6.4. KPPK, DPPK ve KPDPK'dan Karoten Pigment Ekstraksiyonunda Elde Edilen İkinci Derece Ekstraksiyon Hız Sabitleri (k_k), Başlangıç Teorik Ekstraksiyon Hızları ($h_{k,teo}$) ve Teorik Ekstraksiyon Dengesi Durumunda Çözücüye Geçen Karoten Pigment Derişimleri (C_{sk})	137
Çizelge 6.5. <i>R. glutinis</i> için Farklı Besin Ortamlarında, Farklı Başlangıç pH'larında ve Farklı Substrat Derişimlerinde Elde Edilen Özgöl Üreme, Ürün Oluşum ve Substrat Tüketim Hızları, En Yüksek Mikroorganizma ve β -Karoten Derişimleri ile Substrat, Mikroorganizma ve Kabuk Derişimine Bağlı β -Karoten Verim Değerleri	140

Çizelge 6.6. Yapay Besin Ortamında Monod Eşitliği'nden, Kurutulmuş Portakal Kabuğundan Hazırlanmış Doğal Besin Ortamında Yarışmalı ve Yarışmasız Substrat İnhibisyon Modellerinden Bulunan <i>R. glutinis</i> 'e Ait Kinetik Sabitler	143
Çizelge 6.7. Portakal Kabuğundan Ekstraksiyonla Elde Edilen Karoten Pigment ve Fermentasyonla Üretilen β -Karoten Pigmentin Hız ve Verimlilik Açısından Karşılaştırılması.....	144

ŞEKİLLER

Şekil 2.1. Portakal Meyvesinin Katmanları	6
Şekil 2.2. Karotenoidlerin Kimyasal ve Fiziksel Özellikleri [31]	13
Şekil 2.3. Karotenoidlerin Sınıflandırılması [28]	14
Şekil 2.4. Sokslet Ekstraktörü'nün Şematik Gösterimi	20
Şekil 2.5. Mikroorganizmanın Üreme Evreleri	27
Şekil 2.6. <i>Rhodorula</i> Türü Mayalarla β -Karoten ve Torulenin Mevalonik Asitten Biyosentetik Elde Ediliş Yolu [77]	33
Şekil 3.1. Üremeye Bağlı Ürün Oluşumu	39
Şekil 4.1. Deneysel Çalışmalarda Kullanılan Sokslet Ekstraktörü	45
Şekil 4.2. Deneysel Çalışmalarda Toz Pigment Eldesinde Kullanılan Döner Buharlaştırıcı	47
Şekil 4.3. Atık Portakal Kabuğundan Hazırlanan ve Ekime Hazır Haldeki Doğal Besin Ortamları	49
Şekil 4.4. Atık Portakal Kabuğundan Hazırlanan Besin Ortamında Üremiş Olan <i>R. glutinis</i> Mayası	49
Şekil 4.5. Santrifüj Sonucunda Besin Ortamından Ayrılan ve β -Karoten Pigmentini İçeren Maya Hücreleri	51
Şekil 5.1. KPPK'dan Fenolik Pigment Ekstraksiyonunda Tanecik Boyutunun Çözücüye Geçen Fenolik Pigment Derişimine Etkisi (Sıcaklık=79°C; S/K=40:1 L/kg; Çözücü=% 97'lik Etanol)	56
Şekil 5.2. KPPK'dan Fenolik Pigment Ekstraksiyonunda Tanecik Boyutunun Birim Kuru Kabuk Kütlesi Başına Özütlenen Fenolik Pigment Miktarına Etkisi (Sıcaklık=79°C; S/K=40:1 L/kg; Çözücü=% 97'lik Etanol)	56
Şekil 5.3. KPPK'dan Fenolik Pigment Ekstraksiyonunda Farklı Tanecik Boyut Aralıklarında Elde Edilen İkinci Derece Kinetik Doğruları	58

Şekil 5.4. KPPK'ya Fenolik Pigment Ekstraksiyonunda Elde Edilen Denge Fenolik Pigment Derişimi(C_{sf})'nin, Ekstraksiyon Hız Sabiti(k_f)'nin ve Başlangıç Ekstraksiyon Hızı(h_f)'nin Tanecik Boyutuyla Değişim Eğrileri	59
Şekil 5.5. KPPK'dan Karoten Pigment Ekstraksiyonunda Tanecik Boyutunun Çözücüye Geçen Karoten Pigment Derişimine Etkisi (Sıcaklık=79°C; S/K=40:1 L/kg; Çözücü =% 97'lik Etanol)	63
Şekil 5.6. KPPK'dan Karoten Pigment Ekstraksiyonunda Tanecik Boyutunun Birim Kuru Kabuk Kütlesi Başına Özütlenen Karoten Pigment Miktarına Etkisi (Sıcaklık=79°C; SK=40:1 L/kg; Çözücü =% 97'lik Etanol)	63
Şekil 5.7. KPPK'dan Karoten Pigment Ekstraksiyonunda Farklı Tanecik Boyut Aralıklarında Elde Edilen İkinci Derece Kinetik Doğruları	65
Şekil 5.8. KPPK'dan Karoten Pigment Ekstraksiyonunda Denge Karoten Pigment Derişimi(C_{sk})'nin, Ekstraksiyon Hız Sabiti(k_k)'nin ve Başlangıç Ekstraksiyon Hızı(h_k)'nin Tanecik Boyutuyla Değişim Eğrileri	66
Şekil 5.9. KPPK'dan Fenolik Pigment Ekstraksiyonunda S/K Oranının Çözücüye Geçen Fenolik Pigment Derişimine Etkisi ($d_p < 0.5$ mm; Sıcaklık=79°C; Çözücü=% 97'lik Etanol).....	68
Şekil 5.10. KPPK'dan Fenolik Pigment Ekstraksiyonunda S/K Oranının Birim Kuru Kabuk Kütlesi Başına Özütlenen Fenolik Pigment Miktarına Etkisi ($d_p < 0.5$ mm; Sıcaklık=79°C; Çözücü =% 97'lik Etanol).....	68
Şekil 5.11. KPPK'dan Fenolik Pigment Ekstraksiyonunda Farklı S/K Oranlarında Elde Edilen İkinci Derece Kinetik Doğruları	70
Şekil 5.12. KPPK'ya Fenolik Pigment Ekstraksiyonunda Denge Fenolik Pigment Derişimi(C_{sf})'nin, Ekstraksiyon Hız Sabiti(k_f)'nin ve Başlangıç Ekstraksiyon Hızı(h_f)'nin S/K Oranıyla Değişim Eğrileri	71
Şekil 5.13. KPPK'dan Karoten Pigment Ekstraksiyonunda S/K Oranının Çözücüye Geçen Karoten Pigment Derişimine Etkisi ($d_p < 0.5$ mm; Sıcaklık=79°C; Çözücü=% 97'lik Etanol).....	74

Şekil 5.14. KPPK'dan Karoten Pigment Ekstraksiyonunda S/K Oranının Birim Kuru Kabuk Kütlesi Başına Özütlenen Karoten Pigment Miktarına Etkisi ($d_p < 0.5$ mm; Sıcaklık=79°C; Çözücü =% 97'lik Etanol).....	75
Şekil 5.15. KPPK'dan Karoten Pigment Ekstraksiyonunda Farklı S/K Oranlarında Elde Edilen İkinci Derece Kinetik Doğruları	77
Şekil 5.16. KPPK'ya Karoten Pigment Ekstraksiyonunda Toerik Denge Karoten Pigment Derişimi(C_{sk})'nin, Ekstraksiyon Hız Sabiti(k_k)'nin ve Başlangıç Ekstraksiyon Hızı(h_k)'nin S/K Oranıyla Değişim Eğrileri	79
Şekil 5.17. KPPK'dan Fenolik Pigment Ekstraksiyonunda Çözücü Türünün Çözücüye Geçen Fenolik Pigment Derişimine Etkisi (Sıcaklık=79°C(Etanol), 100°C(Saf Su); S/K=40:1 L/kg; Tanecik Boyutu= < 0.5 mm).....	82
Şekil 5.18. KPPK'dan Fenolik Pigment Ekstraksiyonunda Çözücü Türünün Birim Kuru Kabuk Kütlesi Başına Özütlenen Fenolik Pigment Miktarına Etkisi (Sıcaklık=79°C(Etanol), 100°C(Saf Su); S/K=40:1 L/kg; Tanecik boyutu= < 0.5 mm)	82
Şekil 5.19. KPPK'dan Fenolik Pigment Ekstraksiyonunda Farklı Çözücülerle Elde Edilen İkinci Derece Kinetik Doğruları	84
Şekil 5.20. KPPK'dan Karoten Pigment Ekstraksiyonunda Çözücü Türünün Çözücüye Geçen Karoten Pigment Derişimine Etkisi (Sıcaklık=79°C(Etanol), 100°C(Saf Su); S/K=40:1 L/kg; Tanecik boyutu= < 0.5 mm)	85
Şekil 5.21. KPPK'dan Karoten Pigment Ekstraksiyonunda Çözücü Türünün Birim Kuru Kabuk Kütlesi Başına Özütlenen Karoten Pigment Miktarına Etkisi (Sıcaklık=79°C(Etanol), 100°C(Saf Su); S/K=40:1 L/kg; Tanecik boyutu= < 0.5 mm)	86
Şekil 5.22. KPPK'dan Karoten Pigment Ekstraksiyonunda Farklı Çözücülerle Elde Edilen İkinci Derece Kinetik Doğruları	88
Şekil 5.23. DPPK'dan Fenolik Pigment Ekstraksiyonunda Şişirmenin Etkisinin Çözücüye Geçen Fenolik Pigment Derişimine Etkisi (Sıcaklık=79°C; $1.19 < d_p < 3.36$ mm; S/K=40:1 L/kg; Çözücü =% 97'lik Etanol).....	90

Şekil 5.24. DPPK'dan Fenolik Pigment Ekstraksiyonunda Şişirmenin Etkisinin Birim Kuru Kabuk Kütlesi Başına Özütlenen Fenolik Pigment Miktarına Etkisi (Sıcaklık=79°C; $1.19 < d_p < 3.36$ mm; S/K=40:1 L/kg; Çözücü=% 97'lik Etanol).....	91
Şekil 5.25. Şişirme Uygulanmış ve Uygulanmamış DPPK'dan Fenolik Pigment Ekstraksiyonunda Edilen İkinci Derece Kinetik Doğruları	92
Şekil 5.26. DPPK'dan Karoten Pigment Ekstraksiyonunda Şişirmenin Etkisinin Çözücüye Geçen Karoten Pigment Derişimine Etkisi (Sıcaklık=79°C; $1.19 < d_p < 3.36$ mm; S/K=40:1 L/kg; Çözücü =% 97'lik Etanol).....	94
Şekil 5.27. DPPK'dan Karoten Pigment Ekstraksiyonunda Şişirmenin Etkisinin Birim Kuru Kabuk Kütlesi Başına Özütlenen Karoten Pigment Miktarına Etkisi (Sıcaklık=79°C; $1.19 < d_p < 3.36$ mm; S/K=40:1 L/kg; Çözücü=% 97'lik Etanol).....	94
Şekil 5.28. Şişirme Uygulanmış ve Uygulanmamış DPPK'dan Karoten Pigment Ekstraksiyonunda Edilen İkinci Derece Kinetik Doğruları	96
Şekil 5.29. KPDPK'dan Fenolik Pigment Ekstraksiyonunda Tanecik Boyutunun Çözücüye Geçen Fenolik Pigment Derişimine Etkisi (Sıcaklık=79°C; S/K=40:1 L/kg; Çözücü=% 97'lik Etanol)	98
Şekil 5.30. KPDPK'dan Fenolik Pigment Ekstraksiyonunda Tanecik Boyutunun Birim Kuru Kabuk Kütlesi Başına Özütlenen Fenolik Pigment Miktarına Etkisi (Sıcaklık=79°C; S/K=40:1 L/kg; Çözücü=% 97'lik Etanol)	98
Şekil 5.31. KPDPK'dan Fenolik Pigment Ekstraksiyonunda Farklı Tanecik Boyut Aralıklarında Elde Edilen İkinci Derece Kinetik Doğruları	100
Şekil 5.32. KPDPK'ya Fenolik Pigment Ekstraksiyonunda Elde Edilen Denge Fenolik Pigment Derişimi(C_{sf})'nin, Ekstraksiyon Hız Sabiti(k_f)'nin ve Başlangıç Ekstraksiyon Hızı(h_f)'nin Tanecik Boyutuyla Değişim Eğrileri.....	101
Şekil 5.33. KPDPK'dan Karoten Pigment Ekstraksiyonunda Tanecik Boyutunun Çözücüye Geçen Karoten Pigment Derişimine Etkisi (Sıcaklık=79°C; S/K=40:1 L/kg; Çözücü =% 97'lik Etanol)	105
Şekil 5.34. KPDPK'dan Karoten Pigment Ekstraksiyonunda Tanecik Boyutunun Birim Kuru Kabuk Kütlesi Başına Özütlenen Karoten Pigment Miktarına Etkisi (Sıcaklık=79°C; SK=40:1 L/kg; Çözücü =% 97'lik Etanol)	105

Şekil 5.35. KPDPK'dan Karoten Pigment Ekstraksiyonunda Farklı Tanecik Boyut Aralıklarında Elde Edilen İkinci Derece Kinetik Doğruları	107
Şekil 5.36. KPDPK'dan Karoten Pigment Ekstraksiyonunda Denge Karoten Pigment Derişimi (C_{sk})'nin, Ekstraksiyon Hız Sabiti (k_k)'nin ve Başlangıç Ekstraksiyon Hızı (h_k)'nin Tanecik Boyutuyla Değişim Eğrileri.....	108
Şekil 5.37. Başlangıç Glukoz Derişiminin <i>R. glutinis</i> 'in Özgül Üreme, β -Karoten Oluşum ve Glukoz Tüketim Hızlarına Etkisi (T=29°C; Başlangıç pH'ı=5.5; Çalkalama Hızı=120 rpm).....	111
Şekil 5.38. <i>R. glutinis</i> için 10 g/L Başlangıç Glukoz Derişiminde Elde Edilen Mikroorganizmanın Üremesinin, β -Karoten Üretimine ve Glukoz Tüketiminin Zamanla Değişim Eğrileri. (T=29°C; Başlangıç pH'ı=5.5; Çalkalama Hızı=120rpm)	113
Şekil 5.39. Glukozlu Besin Ortamında <i>R. glutinis</i> için Elde Edilen $1/\mu$ 'ye Karşı $1/S_{G0}$ Grafiği.....	114
Şekil 5.40. <i>R. glutinis</i> için Deneysel ve Monod Eşitliğine Göre Bulunan Teorik μ Değerlerinin 45° Doğrusu Üzerinde Karşılaştırılması	114
Şekil 5.41. Kuru Posalı Portakal Kabuğundan Hazırlanmış Doğal Besin Ortamında Başlangıç pH'ının <i>R. glutinis</i> 'in Özgül Üreme ve β -Karoten Oluşum Hızlarına Etkisi (T=29°C; Katı/Sıvı Oranı=66:1 g/L ($S_{tiş}$ = 27.5 g/L); Çalkalama Hızı=120 rpm).....	115
Şekil 5.42. Kuru Posalı Portakal Kabuğundan Hazırlanmış Doğal Besin Ortamında <i>R. glutinisten</i> β -Karoten Üretiminde Farklı Katı/Sıvı Oranlarında (Farklı Substrat Derişimlerinde) Elde Edilen Mikroorganizmanın Üreme ve Ürün Üretim Eğrileri (T=29°C; Başlangıç pH'ı=5.5; Çalkalama Hızı=120rpm)	118
Şekil 5.43. Kuru Posalı Portakal Kabuğundan Hazırlanmış Doğal Besin Ortamında <i>R. glutinisten</i> β -Karoten Üretiminde Katı/Sıvı Oranının (Substrat Derişiminin) Mikroorganizmanın Özgül Üreme ve β -Karoten Oluşum Hızlarına Etkisi (T=29°C; Başlangıç pH'ı=5.5; Çalkalama Hızı=120rpm).....	119
Şekil 5.44. Kuru Posalı Portakal Kabuğundan Hazırlanmış Doğal Besin Ortamında <i>R. glutinis</i> 'in Üremesininin Modellenmesinde Deneysel ve Yarışmasız ve Yarışmalı	

Substrat İnhibisyon Modellerinden Bulunan Teorik μ Değerlerinin 45° Doğrusu Üzerinde Karşılaştırılması	121
Şekil 5.45. Kuru Posalı Portakal Kabuğundan Hazırlanmış Doğal Besin Ortamında <i>R. glutinis</i> 'in Üremesinin Modellenmesinde Farklı Başlangıç Substrat Derişimlerinde Elde Edilen Deneysel ve Yarışmasız ve Yarışmalı Substrat İnhibisyon Modellerinden Bulunan Teorik μ Değerlerinin Karşılaştırılması.....	121
Şekil 5.46. Püre ve Tanecik Yaş Portakal Kabuklarından K/S=66.6:1 g k. kabuk/L Oranında Hazırlanan Doğal Besin Ortamlarında Elde Edilen <i>R. glutinis</i> 'in Üreme, β -Karoten Üretim ve Substrat Tüketim Eğrileri (T=29°C; Başlangıç pH'ı=5.5; Çalkalama Hızı=120rpm).....	123
Şekil 6.1. KPPK, DPPK ve KPDPK'dan Fenolik Pigment Ekstraksiyonunda Birim Çözücü Hacmi Başına Ekstrakte Edilen Fenolik Pigment Miktarlarının (C_f) ve Birim Kuru Kabuk Kütlesi Başına Özütlene Fenolik Pigment Miktarlarının (q_{mf}) Zamanla Değişim Eğrileri	130
Şekil 6.2. 1.41-3.36 mm Boyut Aralığındaki KPPK, DPPK ve KPDPK Taneciklerinden Fenolik Pigment Ekstraksiyonunda Birim Çözücü Hacmi Başına Ekstrakte Edilen Fenolik Pigment Miktarlarının (C_f) ve Birim Kuru Kabuk Kütlesi Başına Özütlene Fenolik Pigment Miktarlarının (q_{mf}) Zamanla Değişim Eğrileri.	130
Şekil 6.3. KPPK, DPPK ve KPDPK'dan Karoten Pigment Ekstraksiyonunda Birim Çözücü Hacmi Başına Ekstrakte Edilen Karoten Pigment Miktarlarının (C_k) ve Birim Kuru Kabuk Kütlesi Başına Özütlene Karoten Pigment Miktarlarının (q_{mk}) Zamanla Değişim Eğrileri	135
Şekil 6.4. Yapay ve Kuru ve Yaş Portakal Kabuklarından Hazırlanan Doğal Besin Ortamlarında Yaklaşık 10-12 g/L Şeker Derişimlerinde Elde Edilen <i>R. glutinis</i> 'in Üreme, β -Karoten Üretim ve Substrat Tüketim Eğrileri (T=29°C; Başlangıç pH'ı=5.5; Çalkalama Hızı=120rpm).....	142

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler

- q_f Her hangi bir anda birim kuru portakal kabuğu kütlesi başına ekstrakte edilen fenolik pigment miktarı (g fenolik pigment/g kuru kabuk)
- q_k Her hangi bir anda birim kuru portakal kabuğu kütlesi başına ekstrakte edilen karoten pigment miktarı (mg karoten pigment/g kuru kabuk)
- C_f Her hangi bir anda çözücüye geçen fenolik pigment derişimi (g fenolik pigment /L çözücü)
- C_k Her hangi bir anda çözücüye geçen karoten pigment derişimi (mg karoten pigment /L çözücü)
- V Ekstraksiyonda kullanılan çözücü hacmi (L)
- M Her bir portakal kabuğu türü için kuru kütle bazında kullanılan kabuk miktarı (g)
- C_{mf} Ekstraksiyonun bitiminde kararlı duruma ulaşıldığında çözücüye geçen toplam fenolik pigment derişimi (g/L)
- C_{mk} Ekstraksiyonun bitiminde kararlı duruma ulaşıldığında çözücüye geçen toplam karoten pigment derişimi (mg/L)
- q_{mf} Ekstraksiyonun bitiminde kararlı durumda birim kuru kabuk kütlesi başına ekstrakte edilen fenolik pigment miktarı (g/g)
- q_{mk} Ekstraksiyonun bitiminde kararlı durumda birim kuru kabuk kütlesi başına ekstrakte edilen karoten pigment miktarı (mg/g)
- C_i Her bir pigment için her hangi bir anda çözücüye geçen pigment derişimi (g fenolik pigment/L; g karoten pigment/L çözücü)
- C_{si} Her bir pigment için teorik ekstraksiyon dengesi durumunda çözücüye geçen pigment derişimi (g/L)
- C_{sf} Fenolik pigment için teorik ekstraksiyon dengesi durumunda çözücüye geçen pigment derişimi (g/L)

C_{sk}	Karoten pigment için teorik ekstraksiyon dengesi durumunda çözücüye geçen pigment derişimi (mg/L)
$h_{f,den}$	Deneysel olarak bulunan fenolik pigmentin başlangıç ekstraksiyon hızı (g/L dk)
$h_{k,den}$	Deneysel olarak bulunan karoten pigmentin başlangıç ekstraksiyon hızı (g/L dk)
$h_{f,teo}$	Kinetik modelden bulunan fenolik pigmentin başlangıç ekstraksiyon hızı (g/L dk)
$h_{k,teo}$	Deneysel olarak bulunan karoten pigmentin başlangıç ekstraksiyon hızı (g/L dk)
k_i	Her bir pigment için ikinci derece ekstraksiyon hız sabiti (L/g dk)
k_f	Fenolik pigment için ikinci derece ekstraksiyon hız sabiti (L/g dk)
k_k	Karoten pigment için ikinci derece ekstraksiyon hız sabiti (L/g dk)
t	Zaman (dk, sa)
X	Kuru mikroorganizma derişimi (g kuru mo/L)
S	Substrat (toplam indirgen şeker) derişimi (g/L)
S_{GO}	Başlangıç glukoz derişimi (g/L)
$S_{tiş}$	Toplam indirgen şeker derişimi (g/L)
P	Pigment derişimi (mg β -Karoten /L)
P_m	Üstel üreme evresinin sonunda elde edilen pigment derişimi (mg β -Karoten/L)
X_m	Üstel üreme evresinin sonunda elde edilen kurutulmuş mikroorganizma derişimi (g/L)
μ	Özgöl üreme hızı (sa ⁻¹)
η	Substrat tüketim hızı (g substrat/g kuru mo sa)
v	Pigmentin özgöl üretim hızı (mg pigment/g kuru mo sa)
γ	Üretkenlik (mg pigment/L sa)

$Y_{P/X}$	Birim kuru mikroorganizma kütlesi başına elde edilen pigment miktarı (mg pigment/g kuru mo)
$Y_{P/S}$	Birim substrat kütlesi başına elde edilen pigment miktarı (mg pigment/g substrat)
$Y_{P/M}$	Birim kuru portakal kabuğu kütlesi başına elde edilen pigment miktarı (mg pigment/g kuru kabuk)
μ_m	En yüksek özgül üreme hızı (1/sa)
K_s	Doygunluk sabiti (en yüksek üreme hızının elde edildiği substrat derişiminin yarısına karşılık gelen substrat derişimi (g/L))
K_i	Aşırı substrat derişiminin neden olduğu inhibisyon sabiti (g/L)

Kısaltmalar

KPPK	Kurutulmuş posalı kabuk
DPPK	Dondurulmuş posalı kabuk
KPDPK	Kurutulmuş posasız dış kabuk
S/K	Sıvı/katı oranı (L/kg)
K/S	Katı/sıvı oranı (g/L)
d_p	Tanecik boyutu (mm)
TİŞ	Toplam indirgen şeker

1. GİRİŞ

Gelişen ve bilinçlenen toplum ile birlikte insanların tükettikleri besinlerin besin değerleri hakkındaki bilgi ve beklentileri hızla artmaktadır. Bunun yanı sıra atık kontrolü ve temiz çevre gibi konuların da gündemde olmasından dolayı tüketim sonucunda açığa çıkan atıkların değerlendirilmesi hususunda gösterilen özen ve çalışmalar da göz ardı edilemeyecek düzeydedir [1]. Besinlerin tat, koku, besin değeri, raf ömrü gibi özelliklerinin iyileştirilmesi, besin kayıplarının önlenmesi, besinin bol bulunduğu dönemden daha az bulunduğu döneme kalitelerini koruyarak saklanması önem kazanan konulardandır. Bu hususlarda artan talepler gıda katkı maddelerinin kullanımını kaçınılmaz hale getirmiştir. Yapay katkı maddelerinin kullanımı çok eski zamanlara dayanmakla birlikte toplumların her konuda doğala olan yönelimlerinin sonucunda doğal katkı maddelerinin arayışı da hızla artmaktadır [2]. Doğal katkı maddeleri bitkilerden, hayvanlardan veya mikroorganizmalar gibi organik kökenli yapılardan sentezlenebildiği gibi, minerallerin doğal yapısında bulunan renk maddelerini de içermektedir.

Meyve ve sebze atıkları diyet lifi, antioksidanlar, pektin, yağ asitleri, pigmentler gibi beslenme açısından oldukça önemli olan pek çok maddeyi içermektedir. Üzüm, elma ve domates posaları ve turunçgil kabukları gibi bir çok meyve atığının flavonoidler, pigmentler, fenolik asitler, poliolefinler ve antosiyaninler gibi besin değeri yüksek olan maddeler bakımından zengin olduğu bilinmektedir [3-5]. Bu atıkların hem değerlendirilmesi hem de besin zincirine katılması amaçlı olarak içerdikleri bu tür maddeler değişik yöntemlerle ekstrakte edilmektedir.

Güncel çalışmalar özellikle narenciyelerin kardiovasküler hastalıklar ve kanser üzerine dolaşım ve bağışıklık sistemlerini güçlendirme gibi önemli etkilerinin olduğunu göstermektedir. Bu önemli etkilerin ışığında narenciye üretim ve tüketiminde gözle görülür bir artış olmuş ve buna bağlı olarak da açığa çıkan posa miktarı artmıştır. Portakal kabukları toplam meyve ağırlığının yaklaşık yarısı kadar olup, karoten ve fenolik pigmentler bakımından oldukça zengindir.

Provitamin A olarak da bilinen ve insan beslenmesinde antioksidan etkisinden ötürü önemli bir yeri olan karoten pigmentlerden β -Karoten, gıdalardan doğrudan alınabildiği gibi kimyasal ve fiziksel yöntemlerle de elde edilebilmektedir. Kimyasal üretiminde ve bitkiler tarafından sentezlenmesinde sadece all-trans formu elde

edilebilen β -Karotenin mikrobiyal yolla üretilmesi all-trans formunun yanı sıra cis izomerinin de üretilmesine imkan sağlamaktadır. Cis- β -Karotenin en önemli avantajı hayvansal dokularda trans yapıya göre çok daha iyi erimesi ve buna bağlı olarak birikiminin de çok daha iyi olmasıdır. Cis- β -Karoten izomerlerinin daha fazla anti kanser özellik sergilemesinin keşfinden sonra tedavilerde de kullanımı yaygınlaşmıştır [6, 7]. Bunların sonucunda da mikrobiyal yolla üretilen β -Karotenin önemi ve bu doğrultuda ki çalışmalar önemli ölçüde artmıştır .

İsrail, ABD ve Avusturalya'da endüstriyel olarak *Dunaliella* türü alglerle β -Karoten üretimi yapılmaktadır. Literatürde ise alglerden *Haematococcus*, *funguslardan Blakeslea trispora*, *Phycomyces blakesleanus*, *Penicillium sclerotiorum*, bakterilerden *Flavobacterium* ve *Micrococcusa* başta olmak üzere değişik mikroorganizmalarla β -Karoten üretimiyle ilgili çalışmalar mevcuttur. Ancak ortak kanı bu suşların düşük verimlerinden ötürü endüstriyel kullanıma elverişli olmamalarıdır. Ancak bir maya türü olan *Rhodotorula glutinis* ile β -Karoten üretiminin yüksek verimli olmasından dolayı, bu mayanın endüstriyel olarak üretilmesi ve bu mayadan provitamin A'nın eldesinin ve gıdalarda renklendirici madde olarak kullanılmasının mümkün olduğu tespit edilmiştir.

Narenciye atıklarında bol miktarda bulunan ve flavonoidlerden olan fenolik pigmentlerin ise renk verici olarak kullanımları henüz araştırma aşamasındadır.

Bu tez çalışmasında Ankara Büyük Şehir Belediyesi portakal suyu üretim tesisinden taze olarak temin edilen atık posalı portakal kabuklarından soksalet ekstraktörü ile çözücü ekstraksiyonuyla portakal kabuğu özütü fenolik ve karoten pigmentleri içeren pigment üretimi gerçekleştirilmiştir. Kabuk türü, çözücü türü, tanecik boyutu, ön işlem uygulama, sıvı/katı oranı ve ekstraksiyon süresinin turuncu renkli gıda katkı maddesi olarak kullanılması hedeflenen pigment üretimi üzerine etkileri araştırılmıştır. Tez çalışmasında ayrıca *Rhodotorula glutinis* mayasıyla mikrobiyal pigment β -Karoten üretiminde, atık portakal kabuklarının besin ortamı olarak kullanılabilirliği de araştırılmış ve bu doğal besin ortamında mikroorganizmanın üremesi ve β -Karoten üretimi üzerine kabuk türünün, başlangıç pH'ının, katı/sıvı oranının etkileri incelenmiştir.

2. TEMEL BİLGİLER

2.1. Gıda Atıkları

Gıda üretim sektörünün kalbi olan fabrikaların ürün üretim süreçlerinin sonucunda büyük miktarlarda gıda atıkları oluşmakta, bunlar yan ürün adıyla nitelendirilmekte ve bu ürünlerin büyük bir kısmı üretime eş zamanlı olarak değişik yöntemlerle imha edilmektedir. İmha edilmeyen atıklar ise ekonomik değeri daha az olan gübre, hayvan yemi vb. amaçlarla değerlendirilmektedir.

Bu yan ürün olarak nitelendirilen atıkların verimli ve etkili bir şekilde değerlendirilmesi ekolojik dengeyi olumlu yönde etkileyeceği gibi, bir atıktan ürün elde edilerek katma değer yaratılması ve ürünlerin çeşitlendirilmesi de sağlanacaktır. Sürekli artma eğiliminde olan nüfus ile beraber gıdaya, çeşitliliğe ve yeniliğe olan ihtiyacın da artacağı, buna bağlı olarak gıda işleyen fabrikaların sayısının da çoğalacağı ve buna paralel olarak gıda atık miktarlarındaki artış ile oluşan problemlerin de daha sıkıntılı hale geleceği kaçınılmaz bir gerçektir [8].

Bütün bunlar göz önüne alındığında atıkların kaynağında toplanması ve yeni ürünlerin üretiminde kullanılması, başta ekonomik değer ve çevre kalitesi olmak üzere insan sağlığı, doğal ürüne yaklaşım vb. bir çok alanda büyük önem arz etmektedir [9].

2.1.1. Narenciye Atıkları

Turunçgiller olarak da adlandırılan narenciyeler portakal, mandalina, limon, greyfurt ve turunçtan oluşur. Keşfedilme yerleri Güneydoğu Asya'dır. Soğuğa karşı dayanıklılıkları fazla değildir. Sıcaklığın eksi değerlere düşmediği alanlarda yetişebilirler. Bunun yanı sıra yüksek sıcaklık ve bol su isteyen bitkilerdir [10]. Dünya Sağlık Örgütü verilerine göre 2012 yılı itibariyle dünyada yaklaşık 9 milyon hektar alanda, 131 milyon ton turunçgil üretimi gerçekleştirilmekte ve toplam üretimin % 52'sini portakal oluşturmaktadır. Bu konudaki detaylı bilgiler Çizelge 2.1. ve Çizelge 2.2.'de verilmiştir.

Çizelge 2.1. Dünyada Yıllara Göre Narenciye Üretimi

Yıllar	Alan (ha)	Üretim (ton)
2000	7.440	105.714
2001	7.492	105.379
2002	7.696	107.869
2003	7.757	106.802
2004	7.965	113.732
2005	7.907	111.910
2006	8.240	118.090
2007	8.590	116.081
2008	8.602	125.908
2009	8.826	126.577
2010	8.929	127.337
2011	8.702	131.412
2012	8.786	131.283

Çizelge 2.2. Dünyada Türlere Göre Narenciye Üretimi

Türler	Alan (ha)	Üretim (ton)	Payı (%)
Portakal	3.816.692	68.223.759	52.0
Mandarin	2.345.020	27.060.756	20.6
Limon	980.949	15.118.462	11.5
Greyfurt	289.126	8.040.038	6.1
Diğer	1.353.762	12.840.318	9.8
Toplam	8.785.549	131.283.333	100.0

Kaynak DSÖ

Ülkemizdeki narenciye üretiminin gelişimi Çizelge 2.3.'ten takip edilebilir.

Çizelge 2.3. Türkiye'de Yıllara Göre Narenciye Üretimi

Yıllar	Toplam (Bin ton)	Portakal (Bin ton)	Mandalina (Bin ton)	Limon (Bin ton)	Greyfurt (Bin ton)	Turunç (Bin ton)
1990	1.474	735	345	357	33	4
1995	1.782	842	453	418	65	4
2000	2.222	1.070	560	460	130	2
2005	2.913	1.445	715	600	150	3
2007	2.989	1.427	744	652	163	3
2008	3.027	1.427	756	672	168	3
2009	3.514	1.690	846	784	191	3
2010	3.572	1.711	859	787	214	2
2011	3.614	1.730	872	790	219	2
2012	3.475	1.661	875	710	227	2
2013	3.681	1.781	942	726	229	3
2014	3.787	1.774	1.056	725	229	2

Kaynak: TÜİK

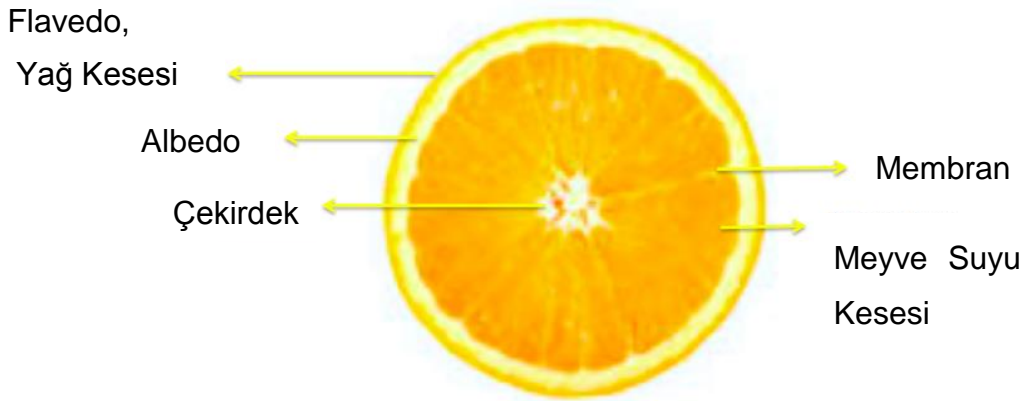
Çizelgeden de görüldüğü gibi son 25 yıllık dönemde ülkemizde turunçgil üretimi % 150 oranında bir artış sergileyerek 1.5 milyon tondan 3.8 milyon tona yükselmiştir [11]. Ülkemizde narenciye üretimi baskın olarak (% 80) Akdeniz Bölgesi'nin kıyı kesimlerinde Mersin, Adana, Antalya ve Hatay'da yapılmaktadır. Yıllık 2.9 milyon ton olan üretimin bir kısmı ise ihraç edilmektedir [10].

2015 yılında gerçekleştirilen Narenciye İşleme Atıkları Değerlendirme Çalıştayı'nda 2012 rakamlarına göre, 1 milyon ton taze meyvenin meyve suyu işleme fabrikalarında kullanıldığı, bunun sonucunda önemli ölçüde meyve işleme atığı çıktığı ve bunun çevreyi tehdit etmemesi için değerlendirilmesi gerektiği vurgulanmıştır [12].

Portakal ve Kabuğu

Portakal, Terebinthales takımının Rutaceae familyasının Citrus cinsine mensup otsu bir bitkidir [13]. Dünya üzerinde 150 kadar cinsi, 1600 kadar da türü vardır. Organik asitler, şekerler ve C vitamini yönünden zengindir. Portakalın besin değerleri Çizelge 2.4.'te görülmektedir. Büyük bir miktarını su, karbonhidrat ve şeker oluştururken 100 g portakalın içerdiği C ve B vitaminleri, günlük insan vücudunun ihtiyacı olarak önerilen miktarların sırasıyla % 75 ve % 27'sini tek başına karşılamaktadır. Portakal (*Citrus sinensis* L.) kabuklarından ekstraksiyon yöntemiyle içinde % 97 civarında d-limonene diye bilinen halkalı bir terpen grubundan olan hidrokarbon esansı içeren aroma yağı, portakal esansı elde edilir. Portakalın parfümeri sektöründe koku amaçlı ve gıdalarda lezzet katmak amaçlı kullanımı bu özelliğinden kaynaklanmaktadır [14]. Portakal kabuğunun rengi genel olarak fenolik bileşiklerden ve karotenoidlerden gelir [15]. Portakal kabuğunda bulunan karotenoidler kararlı değildir ve -40°C 'da depolandıklarında % 98.1'i kaybolur. Kabukta bulunan fenolik bileşikler attıkça kabuğun rengindeki kırmızılık azalırken sarılık artar. İyonik ışımaya ve depolama toplam fenolik maddeyi artırır ve böylece kabuğun rengi daha sarıya döner [16].

Şekil 2.1.'de portakal meyvesinin kısımları görülmektedir.



Şekil 2.1. Portakal Meyvesinin Katmanları

Meyvenin etli kısmını kaplayan ve meyveyi dış etkenlerden koruyan kabuk kısmı albedo ve flavedo olmak üzere iki katmandan oluşur. En dıştaki flavedo kısmı turuncu renge sahip olan ve içinde pigmentleri ve yağ keselerini bulunduran kısımdır. Bir alt katman olan albedo kalın beyaz keçe dokusunda flavedo kısmına göre daha büyük hücrelerden meydana gelen besin maddelerinden ve suyu taşıyan damarlardan oluşan kısımdır [17]. Albedo pektin bakımından oldukça zengindir ve

üretiminde hammadde olarak yerini almaktadır.

Güncel çalışmalarda narenciyelerin kardiovasküler hastalıklar ve kanser başta olmak üzere bir çok hastalık üzerine bağışıklık ve dolaşım sistemini güçlendirerek etkili olduğu belirlenmiş ve bunun bir sonucu olarak da narenciyelerin üretim ve tüketiminde gözle görünür bir artış gerçekleşmiştir. Bununla doğru orantılı olarak kabuk ve posa miktarları da artmıştır. Narenciyelerin atık kısımları toplam ağırlığın yaklaşık yarısı kadar olup, içeriğinde başta flavonoidler ve karotenoidler olmak üzere bol miktarda besin değeri yüksek olan maddeleri içeren yapılardır (Çizelge 2.4.)

Çizelge 2.4. Portakalın Besin Değerleri [18]

Besin Değeri	100 g
Enerji	192 kj (46 kcal)
Karbonhidrat	11.54 g
Lif	9.14 g
Yağ	2.4 g
Protein	0.21 g
Tiamin (B1 vit.)	0.70 g
Riboflavin (B2 vit.)	0.100mg
Niasin (B3 vit.)	0.040 mg
Pantotenik asit (B5 vit.)	0.250 mg
B6 vitamini	0.051 mg
Folat (B9 vit.)	17 mg
C vitamini	45 mg
Kalsiyum	43 mg
Demir	0.09 mg
Magnezyum	10 mg
Fosfor	12 mg
Potasyum	169 mg
Çinko	0.08 mg

Pek çok meyvenin atık olarak nitelendirilen kabuk ve posa kısımları, beslenme açısından önemli olan antioksidanlar, pektin, diyet lifi, uçucu yağ asitleri ve vitaminler gibi bir çok faydalı maddeyi içermektedir. Örnek verilecek olursa, narenciye posaları flavonoid ve fenolik maddeleri [3], üzüm çekirdeği ve kabuğu antosiyonini ve yine fenolik maddeleri [4], elma posası ise polifenollerini barındırmaları sebebiyle [5] çok önemli doğal antioksidan kaynaklarıdır.

Besin öğeleri açısından oldukça değerli olan atık gıdalardan bazıları doğrudan kullanılabilir gibi, bazılarında da değişik ekstraksiyon yöntemleriyle (süper kritik karbondioksit ekstraktörü, sokslet ekstraktörü vb.) pigmentler, pektin, esanslar vb. maddeler saf olarak elde edilip gıdalara katkı maddesi olarak eklenebilmektedir. Bunlara örnek olarak verilebilecek çalışmaların arasında domatesin atık olan kabuğundan ve çekirdekli iç kısmından likopen eldesi [19], birçok bitki ve baharattan uçucu yağlarının eldesi [5] ve bu ürünlerin gıda katkı maddesi olarak kullanılması bulunmaktadır.

Gıda atıklarının arasında özellikle narenciye atıkları sahip oldukları antioksidanların yanında pektin diye adlandırılan çözünür diyet lifi açısından da oldukça zengindirler [5].

Günümüzde doğal olana yönelim, atık değerlendirilmesi ve sürekli gelişen temiz çevre bilincinin bir sonucu olarak sebze ve meyve atıklarından gıda sektörüne katkı maddesi kazandırılması ve farklı yöntemlerle elde edilen bu bileşenlerin gıda sektöründeki uygulamaları üzerine araştırmalar hızla devam etmektedir. Literatür incelemesinde, narenciye kabuklarından ekstraksiyon yöntemiyle antioksidan eldesinin gerçekleştirilip mısır yağında etkinliğine bakıldığı [20], bir başka çalışmada beş tür narenciye atığından farklı çözücüler ile pektinin ekstrakte edildiği [21], bir diğer çalışmada meyve ve narenciye kabuklarından oluşturulan karışımların fermantasyonda kullanılarak biyoetanol üretiminin araştırıldığı ve 14.4–29.5 g/L arasında değişen değerlerin sonuç olarak elde edildiği bilgilerine ulaşılmıştır [8]. Narenciye atıklarından başka meyve ve sebze atıklarının da gıdalara katkı sağlamak amaçlı kullanıldığı çalışmalara literatür araştırmasında rastlanmaktadır. Elma posası gibi meyve atıklarının posalarının unlu gıdalara eklenerek bunlardan lif kaynağı sağlanması ve eklendiği gıdaların özelliklerinin geliştirilmesinin araştırıldığı [5, 22] gözlenmiştir. Sogi ve arkadaşları [23] ekmeğın protein kalitesinin % 10 miktarında eklenen domates posası ile arttırıldığını ifade ederken, Persia ve

arkadaşları [24] insan sağlığı açısından büyük önemi olan sindirilebilir amino asitlerin domates çekirdeğinde önemli miktarlarda bulunduğu bilgisini literatüre kazandırmışlardır.

2.2. Gıda Katkı Maddeleri

Besin güvencesinin ve besin güvenliğinin sağlanması günümüzün en önemli konularının başında gelmektedir. Besin üretiminin artırılması ve üretilen besinlerin kayıplarının önlenmesi, besinin bol bulunduğu dönemden daha az bulunduğu döneme kalitesini koruyarak saklanması ve raf ömrünün uzatılması besin güvencesinin sağlanmasında önem kazanan konulardandır. Bu iyileştirme çalışmalarının sonucunda da gıda katkı maddelerinin kullanımı kaçınılmaz olmuştur [2].

Gıda katkı maddeleri tek başına gıda olarak tüketilmeyen, bir gıda ürününün ana bileşeni, hammaddesi veya yardımcı maddesi olarak kullanılmayan, fakat o ürünün işlenmesi, ambalajlanması ve/veya depolanması ile ilgili olarak ve ürünün tat, koku, görünüş, yapı ve diğer niteliklerini korumak, düzeltmek veya istenmeyen değişikliklere engel olmak amaçlarıyla gıda ürünlerine katılımlarına izin verilen, ve kalıntı veya türevleri mamul maddede kalan kimyasal madde veya maddeler karışımlarıdır [1].

Gıda katkı maddeleri izin verilen besinlerde ve izin verilen miktarlarda kullanıldığında, başka bir deyişle yasalara uygun şekilde kullanıldığında yararlandığımız ve sağlık riskleri minimize edilmiş maddelerdir [2].

Gıda katkı maddeleri kullanım amaçlarına göre 4 grupta toplanabilir. Bunlar antioksidan ve antimikrobiyalleri içeren raf ömrü uzatmayı amaçlayan koruyucu grup, stabilizör, olgunlaştırıcı, ağartıcı, köpük ayarlayıcı gibi sınıfları içinde bulunduran pişme özelliğini geliştiren grup, gıdaya çeşni veren, aromayı, rengi geliştiren grup ve vitaminleri, işleme sırasında kaybolan besin öğelerini yerine koyma görevi olan besin değerini koruyucu, geliştirici grup olarak ayrılabilirler [25]. Gıda katkı maddelerinin bir başka sınıflandırılması ise doğal, doğala özdeş veya yapay olarak yapılmaktadır. Doğal gıda katkı maddelerine örnek olarak pancardan kırmızı renkli gıda boyası verilebilirken, doğala özdeş maddelere örnek olarak vanilya gösterilebilir ve doğada var olanın insanlar tarafından üretilmesiyle oluşturuldukları söylenebilir. Yapay gıda katkı maddeleri ise doğada var olmayan bir

maddenin insanlar tarafından üretilmesiyle ortaya çıkan, en çok bilinenlerinin arasında sakarinin olduğu maddelerdir [26].

Katkı maddeleri laboratuvarlarda uzun süreli ve ayrıntılı güvenlik testlerinden geçirilir. Deney hayvanları üzerinde yapılan toksikolojik testlerle katkı maddelerinin ADI (Acceptable Daily Intake); günlük alınabilecek miktarları saptanır. Deney hayvanlarına öldürücü dozda (lethal doz = LD50: deney hayvanlarının % 50'sinin ölümüne neden olan doz) katkı maddesi verilir. Daha sonra doz tedrici olarak azaltılarak doz-cevap ilişkisi araştırılır. Deney hayvanına hiçbir zıt etki göstermeyen bir doz elde edilirse, bu doz "etkisiz doz" veya NOAEL (No Observed Adverse Effect Level) olarak tanımlanır. Deney insanlar üzerinde etik nedenlerden ötürü yapılamayacağından elde edilen dozun 1/10'u alınır. İnsanlar arasındaki bireysel ayrıcalıklar düşünülerek yine 1/10 alınarak NOAEL 100 olan güvenlik faktörüne bölünür. Yani deney hayvanında hiçbir etki göstermeyen dozun 1/100'ü insan için kabul edilir. (ADI = NOAEL / 100). Böylece günlük alınabilecek miktar (ADI) insanın vücut ağırlığının kilogramı başına mg olarak belirlenir. Bu çalışmaların sonuçları, Dünya Sağlık Örgütü (WHO) ve Gıda Tarım Örgütü (FAO)'nun ortaklaşa oluşturduğu, katkı maddeleri üzerinde çalışan ortak uzmanlar komitesi JECFA adlı kuruluş; Avrupa Birliği'nin Bilimsel Gıda Komisyonu (SCF); ABD Gıda İlaç Dairesi (FDA) gibi uluslararası kuruluşlarca onaylandıktan sonra her bir katkı maddesinin hangi oranlarda hangi besinlere katılabileceğine karar verilir [27].

Gıda katkı maddelerinde bir standardın sağlanabilmesi için gıda katkı maddeleri uluslararası bir sistemle numaralandırılmıştır. Her numaranın başında bir E harfi vardır, bu Europe sözcüğünün ilk harfidir. Bir katkının E kodu taşıması, bu katkının üzerinde tüm güvenlik çalışmalarının tamamlandığını ve Avrupa Birliği'nin Bilimsel Gıda Komitesi tarafından kodlanarak onaylandığını gösterir [27].

2.2.1. Pigmentler

Gıdalarda uzun yıllardır kullanılan sentetik boyaların etkileri yıllardır tartışılan bir konudur. Bilinçlenen tüketicinin sentetik gıda boyalarını olumsuz değerlendirmesi doğal renklendirici alternatiflerine olan ilgiyi arttırmıştır [28].

Pigmentler gıdaların renk ve lezzetini çekici hale getirmek, güzel görünüm ve satış artışı sağlamak amacı ile ilave edilen gıda katkı maddeleridir. Boya kavramının renk kavramı ile karıştırılması gıdalarda görünüm özelliğinden bahsedilirken karşılaşılan

en büyük yanılıdır. Boya bir bileşiği tanımlayan ismi iken, göz yoluyla tespit edilen duysal etkinin adı ise renk olarak tanımlanır. Gıda sanayinde, kullanılan renk maddeleri granül, sıvı, toz, sulandırılmış ve macunsu formlarda bulunurlar ve gıdalara eklenmeden önce uygun çözücüde çözdürülürler [25].

Boyaların sınıflandırılması birden çok şekilde yapılabilmektedir. Gıdaya verdikleri renge göre kırmızı, turuncu, sarı, yeşil, mavi, menekşe, kahverengi, siyah ve beyaz renk verenler olmak üzere 9 sınıfta toplanırlar.

Gıda kontrolü açısından asıl önemli olan sınıflandırmaların başında ise renk maddelerinin elde edildikleri kaynağa göre sınıflandırılmaları gelmektedir. Bu şekilde doğal, doğala özdeş ve yapay olmak üzere üç grupta toplanırlar [26].

2.2.1.1. Doğal Pigmentler

Organik kökenli, yani bitki, hayvan ve/veya mikroorganizmalar tarafından sentezlenen, ya da minerallerin doğal yapısında bulunan renk maddeleri bu sınıfa girmektedir [25]. Bunlara örnek olarak pancardan elde edilen kırmızı renk verilebilir.

Doğal renk maddelerinin elde edilme süreçleri çoğunlukla bir çözücüyle ekstraksiyon işlemi sonucunda gerçekleşmektedir. Yaygın kullanılan çözücülerin başında etanol, aseton ve su gelmektedir. Pigment, ekstraksiyon işlemi sonucunda elde edilen özütün uygun sıcaklık değerlerinde vakum altında deriştirilmesiyle temin edilmiş olur [25].

Doğal renk maddelerinin başında klorofiller, flavonoidler ve karotenoidler gelmektedir. Bunların doğal olmaları, tamamen sağlıklı oldukları anlamına gelmese de, sentetik katkı maddelerinden daha sağlıklıdır. Işıktan etkilenip çok çabuk solabilmeleri gibi dış etkenlere karşı çok hassas oldukları için korunmalarına özen gösterilmelidir.

Klorofiller yaprak formunda olan sebzelerin ve bazı meyvelerin fotosentezleri sonucunda ürettikleri yeşil renkli pigmentlerdir. Yapraklar yaşlandıkça klorofil parçalanır ve yeşil renk sarı , kırmızı renklerdeki karotenoidlere ya da pembe, mor renklerdeki antosiyaninlere dönüşür. Birçok meyve ham haldeyken fazla miktarda klorofil içerdiğinden ötürü yeşil renktedir. Olgunlaşmalarıyla birlikte meyvelerin renklerinde ki değişimlerin sebebi klorofil, karotenoid ve antosiyaninler arasında ki geçişlerdir.

Flavonoidler başlıca antosiyaninler, antoksantrinler ve kateşinlerden ve fenoliklerden oluşmaktadır. Bunların arasında antosiyaninler en yaygın kullanılan doğal pigmentlerdir. Hücre öz suyunda glikozit formunda bulunurlar. Herhangi bir antosiyanin, değişik şekerlerle birleşerek çeşitli renklerde farklı glikozitler oluşturabilmektedir. Mordan kırmızıya kadar geçişleri olan çilek, lahana, vişne üzüm gibi birçok meyve ve sebzenin rengini antosiyaninler sağlamaktadır [25].

Karotenoidler

Sarı, turuncu ve kırmızı arasındaki renk geçişlerinden sorumlu doğal pigmentler karotenoidlerdir. Bütün fotosentetik organizmalarda (bitkilerde, mikroorganizmalarda) sentezlenmektedirler. Karotenoidlerin kümes hayvanlarına besin kaynağı olarak, su ürünleri yetiştiriciliğinde ve gıdalara renk katmak amaçlı kullanımları başta olmak üzere bir çok alanda kullanımı mevcuttur [28].

Karotenoidlerin kimyasal yapıları incelendiğinde yağda çözünebilen maddeler oldukları görülmektedir. 8 izoprenoid ünitesinin yan yana dizilmesiyle merkezi isleket yapıları oluşmuştur. Yapılarında çok fazla sayıda çift bağ bulundurulur. Kimyasal formülleri $C_{40}H_{56}$ 'dır [29].

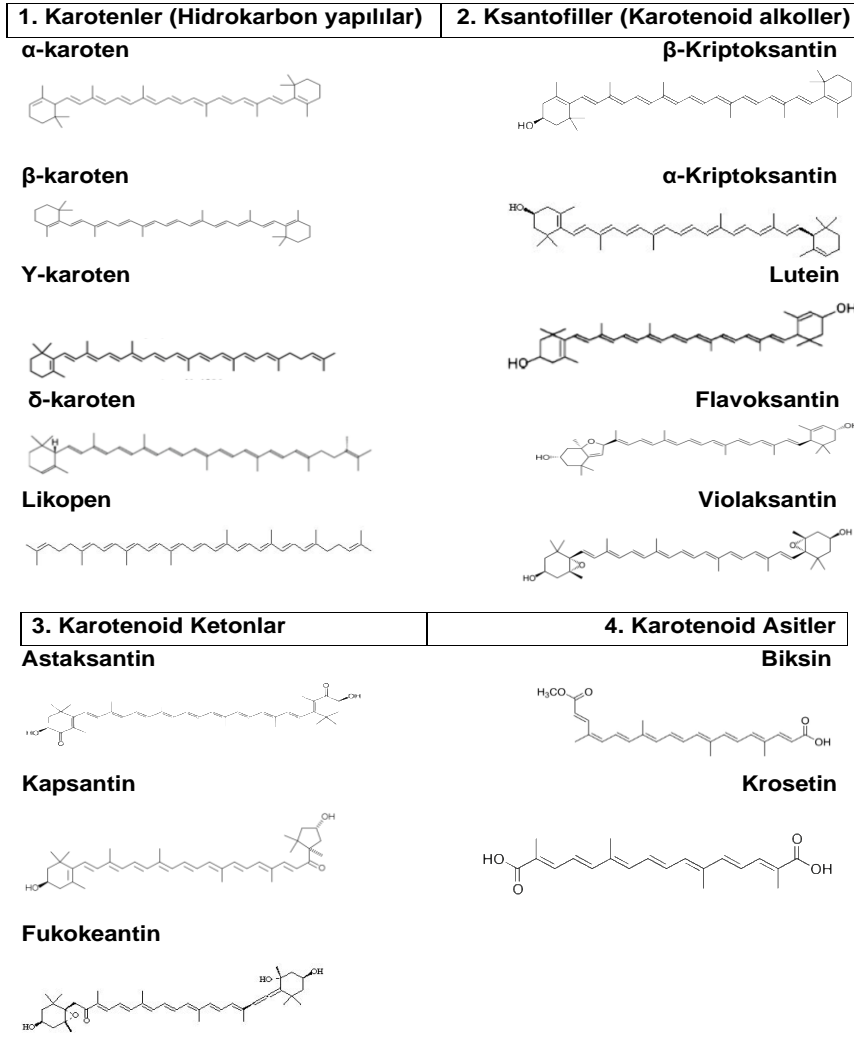
Karotenoidlerin en belirleyici özelliği olan renk özelliklerini yapılarındaki eşlenik çift bağlar sağlamaktadır. Bir renk oluşumu için en az 7 eşlenik çift bağa ihtiyaç vardır. Bağ sayısı ile renk yoğunluğu doğru orantılıdır. 5 eşlenik bağdan oluşan fiton renksiz iken, en bilinen örnekleri arasında domatesin bulunduğu likopen kırmızı renkte ve 11 eşlenik bağ içermektedir. Siklizasyon aynı sayıda çift bağ içeren karotenoidlerin renklerinin farklı olmasına sebep olabilmektedir. Farklı karotenoidlerin bir arada kullanılmasıyla da farklı renk tonları oluşmaktadır [30]. Şekil 2.2.'de karotenoidlerin fiziksel ve kimyasal özelliklerini özetleyen şema görülmektedir.



Şekil 2.2. Karotenoidlerin Kimyasal ve Fiziksel Özellikleri [31]

Karotenoidler yapılarında buldukları atomlara göre dört ana gruba ayrılırlar. Bunlar karotenler, ksantofiller, karotenoid ketonlar ve karotenoid asitlerdir. Şekil 2.3.'te karotenoidlerin sınıflandırılması görülmektedir. Yapısında karbon atomu bulunan karotenler karotenoid, oksijen atomu bulunanlar ise ksantofil olarak bilinirler [30].

Karotenoidlerin gıdalarda renklendirici olarak kullanılmalarının yanı sıra yüksek A vitamini aktivitesine sahip oldukları, buna bağlı olarak da antioksidan işlevi gerçekleştirerek kalp hastalıkları ve kanser riskini azaltıcı etkide buldukları bilinmektedir. Bu nedenle doğal pigmentler arasında karotenoidler önemli bir yere sahiptir [32, 33]. Doğada en yaygın bulunan karoten β -Karotendir [34]. β -Karoten diğer karotenoidlerden farklı olarak, yapısal zincirinin her iki uç kısmında da β -iyonon halkası bulundurur ve bunun sonucunda da karotenoidler arasında en yüksek provitamin A aktivitesine sahip olan karotenoid olma özelliğine sahip olur [35, 36].



Şekil 2.3. Karotenoidlerin Sınıflandırılması [28]

Fenolik Pigmentler

Bitkilerde bulunan ikincil metabolitler çok geniş fonksiyonlarda çeşitli yapıları içerirler. Terpenoidler ve azot içeren bileşiklere ilave olarak, fenolikler, ikincil metabolitlerin üçüncü esas sınıfını temsil ederler [37]. Fenolik bileşikler, bitkiler ile çevre etkileşiminde önemli bir rol oynamaktadır [38]. Fenolik pigmentler böcek ve bitki yiyen hayvanlar için çekici özellik gösterirler. Fenolik pigmentlerin yapısal analizleri üzerine araştırmalar çok bulunmasa da son yıllarda flavonoidler, lignin, tannin vb. fenolik metabolitlerin üzerine yapılan çalışmalar önem kazanmıştır.

2.2.1.2. Doğala Özdeş Pigmentler

Doğala özdeş pigmentler doğada var olan maddelerin insanlar tarafından üretilmesiyle elde edilirler. Bunların örneklerine klorofilin bakır kompleksi, sodyum ve potasyum tuzları ile şekerin birlikte yaklaşık 150°C'da belli katalizörlerle yakılması sonucunda elde edilen karamel verilmektedir [25].

2.2.1.3. Yapay Pigmentler

Bu grup boyarmaddeler “kömür katranı boyalar” olarak anılırlar. Neredeyse hepsinin üretiminde başlama maddesi kömür katranıdır. Genellikle yapılarında -(N=N)- grubu bulunduranlar azo boyalar olarak da bilinirler. Gıdalarda kullanılan yapay pigmentler üzerine yapılan yoğun araştırmalar sonucunda birçok üründe toksikolojik etki tespit edilmiş ve bu ürünlerin gıdalarda kullanımı yasaklanmıştır. Çizelge 2.5.’te Sağlık Bakanlığı tarafından yayınlanan ve gıdalarda kullanımı yasaklanan renk maddelerinin listesi görülmektedir [39].

Çizelge 2.5. Gıdalarda Kullanımı Yasaklanan Yapay Pigmentler [39]

Yapay Renk Maddesi	Yasaklandığı Yıl	Oluşturduğu Sağlık Problemi
Butter yellow	1919	Toksik, karaciğer kanseri
Green 1	1965	Karaciğer kanseri
Orange 1	1956	Organ hasarı
Orange 2	1960	Organ hasarı
Orange B	1978	Kanser
Red1	1961	Karaciğer kanseri
Red 2	1976	Kanserojen
Red 4	1976	Yüksek düzeyleri köpeklerde adrenal korteks hasarına neden olmakta. 1965 yılında sadece maraschico kirazlarında ve bazı haplarda kullanıldı. Halen haricen uygulanan ilaç ve kozmetiklerde kullanılmasına izin verilmektedir.
Red 32	1956	İç organlarda hasar ve zayıf kanserojen, 1956 yılından beri citrus red 2 ismi ile sadece turuncu renk vermek amacı ile kullanılmaya devam etmektedir(2 ppm).
Sudan	1919	Toksik, daha sonra kanserojen olduğu bulundu
Violet 1	1973	Kanserojen
Yellow 1 ve 2	1959	Yüksek dozlarda barsak lezyonları
Yellow 3	1959	Yüksek dozlarda kalp hasarı
Yellow 4	1959	Yüksek dozlarda kalp hasarı

Sağlık Vakfı

2.3. Ekstraksiyon

Ekstraksiyon en temel tanımı ile bir katının içinde çözünmüş halde bulunan maddeyi bir çözücü yardımıyla ayırmak olarak ifade edilir. Özellikle bitkilerde bulunan çözünmüş maddeleri ayırmada ekstraksiyon çok eski zamanlardan beri kullanılmaktadır. Eski zamanlarda ilk çağlarda insanlar boyaları bitkilerden, bitkilerin çiçekleri, yaprakları, meyveleri, gövdeleri ve kökleri olmak üzere her kısmından yararlanarak elde etmişlerdir [40]. Kullanımı yaygın olan üç ekstraksiyon türü vardır. Bunlar distilasyon, presleme ve çözücü ekstraksiyonudur. Distilasyonda, distilasyon kabına konan ve elde edilmek istenilen maddeyi bünyesinde bulunduran yaprak, kabuk vb. malzeme üzerinden kaynaklanan su buharı geçirilir. Uçucu bileşikleri buharlaştırarak yağ asitlerini absorbe eden su buharı daha sonra yoğunlaştırılarak sıvı haldeki yağ asitleri elde edilir. Yaygın olarak zeytin yağı eldesinde kullanılan bir yöntem olan preslemede ise sıcak su ile şişirilen maddeler daha sonra sıkılır ve açığa çıkan yağlar toplanır. Çözücü ekstraksiyonu yönteminde ise ekstrakte edilecek maddeyi içeren katı numune belirli oranda çözücü ile birlikte ekstraksiyon kabına konur ve ısıtma, karıştırma gibi fiziksel etkiler uygulanarak ekstraktın çözücüye geçmesi sağlanır. Çözücü ekstraksiyonu genellikle yüksek sıcaklıklarda bozulan maddelerin elde edilmesinde kullanılır. Çözücü olarak genellikle etanol, aseton, hekzan kullanılmaktadır.

Günümüzde süper kritik ekstraksiyon yöntemi uygulamaları da gittikçe önem kazanmaktadır [41].

Çözücü ekstraksiyonu çoğu laboratuvar sürecinin ve analitik işlemlerin bir parçasını oluşturmaktadır. Franz fon Soxhlet tarafından 1879 yılında tasarlanan soksalet ekstraksiyonu günümüzde hala yaygın olarak kullanılmaktadır. Soksalet ekstraksiyonu gelişen teknolojiyle otomasyona daha uygun, çözücü madde tüketiminin daha az, ekstraksiyon süresinin daha kısa olduğu hale getirilmiştir [42, 43].

Ekstraksiyon sıvı-sıvı ya da katı-sıvı ekstraksiyonu şeklinde uygulanır. Sıvı-sıvı ekstraksiyonun temeli bir çözücü içinde yer alan bileşenin o çözücü ile karışmayan başka bir çözücüye olan ilgisinden dolayı o çözücüye geçmesidir. Özütleme olarak da tanımlanan katı-sıvı ekstraksiyonunda ise katı maddenin içerdiği özütlenecek bileşen ilgi duyduğu uygun bir çözücü ile katıdan ayrılarak çözücüye geçirilir. Her iki

ekstraksiyon işleminde de daha sonra kristallendirme ya da buharlaştırma ile istenilen ürün elde edilir.

Kesikli ya da sürekli sistemde çalışan katı-sıvı ekstraksiyonunu etkileyen pek çok parametre bulunmaktadır. Bunlardan ilki çözücü ile katının temasıdır. Eğer ekstrakte edilmek istenilen bileşen katının yüzeyine dağılmışsa süreç daha kolay işlerken, özütlenecek bileşenin katının içinde dağılmış olması durumunda ekstraksiyonun bir iç difüzyon olayıyla gerçekleşmesi gerekecektir. Bu nedenle ön işlem olarak katının toz haline getirilerek parçacık büyüklüğünün küçültülmesi ekstraksiyon verimi için en önemli parametrelerden biridir. Bir diğer parametre ise ekstrakte edilecek bileşeni çözebilen özellikteki çözücünün seçimidir. Diğer bir parametre ise çözücü/katı oranıdır. Ayrıca ekstrakte edilen bileşenin çözücünden kolaylıkla ayrılabilmesi de bir diğer önemli parametredir. Kaynama noktası düşük çözücülerin tercih sebebi bundan kaynaklanmaktadır. Ekstraksiyonu etkileyen bir diğer parametre de sıcaklıktır. Yüksek sıcaklıklarda çalışmak ekstraksiyonu hızlandırır. Fakat sıcaklık çok arttırıldığı zaman ekstrakte edilecek bileşenin yanı sıra istenmeyen maddeler de çözücüye geçebileceği için sıcaklık dikkat edilmesi gereken bir parametredir [44-46]. Katı-sıvı ekstraksiyonunda yaygın olarak kullanılan çözücüler ve bu çözücülerin özellikleri Çizelge 2.6.'da verilmiştir.

Çizelge 2.6. Ekstraksiyonda Yaygın Olarak Kullanılan Çözücüler ve Özellikleri [47-49]

Çözücü	Dielektrik Sabiti	Kaynama Noktası (°c)	Yoğunluk	Yanıcılık ^b	Toksiklik ^b	Uygunluk
Hekzan	1.9	68.7	0.65	+++	+	Polar bileşikler için zayıf çözücü.
Benzen	2.3	80.1	0.87	+++	+++	Genel kullanımlar için aşırı toksik, emülsiyona meyilli.
Eter	4.3	34.6	0.71	+++	+	Özellikle oksijen içeren bileşikler için iyi çözücü, uzun süreli saklamada peroksit oluşumuna meyilli.
Kloroform	4.8	61.7	1.48	-	+++	Kolay uzaklaştırılır, toksik, emülsiyona meyilli.
Etil Asetat	6.0	77.1	0.89	+++	+	Polar bileşikler için uygun, suyu absorblayabilir.
Diklorometan	8.9	39.7	1.31	-	++	Genel kullanımlar için iyi bir çözücü, emülsiyona az meyilli.
I-Butanol	17.5	117.7	0.81	++	+	Polaritesi çok yüksek bileşenler için son çare olarak kullanılır.

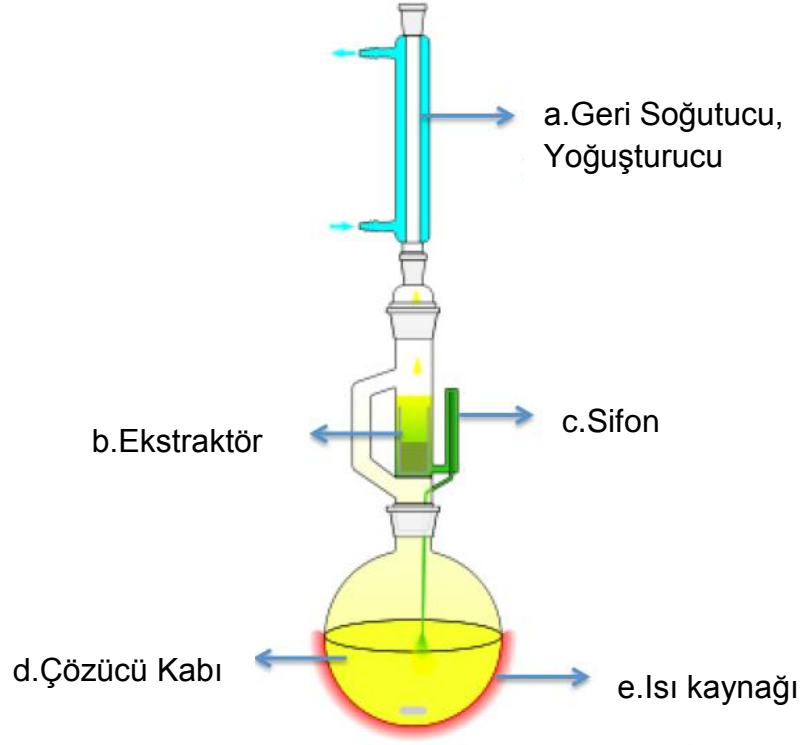
a Dielektrik sabiti çözücünün polaritesi hakkında bilgi vermesine rağmen, çözücünün her zaman polar organik bileşikleri çözebileceğini göstermez.

b +=en az yanıcı/toksik, +++=en fazla yanıcı/toksik

2.3.1. Soksaleet Ekstraksiyonu ve Soksaleet Ekstraktörü

Soksaleet ekstraktörü 1879 yılında Alman kimyacı ve besin fizyoloğu olan Franz von Soxhlet tarafından katılardan yağları çözmek amaçlı üretilmiş ilk ekstraktör cihazıdır [50]. İlk olarak sütün içindeki yağ miktarının tayininde kullanıldığı bilinmektedir [51]. Soksaleet ekstraksiyonu yüzyılı aşkın bir süredir standart teknik haline gelmiştir ve yeni özütleme yöntemleri denendiğinde karşılaştırma yapmak amacı ile kullanılmaktadır [50]. Cihazın yaygınlaşmasıyla birlikte cihaz organik maddelerden pigmentlerin elde edilmesi amacıyla da kullanılmaya başlamıştır.

Şekil 2.4.'te soksaleet ekstraktörünün şematik gösterimi verilmiştir. Soksaleet ekstraktörü beş ana kısımdan oluşur. Bunlar aşağıdan yukarıya doğru ısı kaynağı (e), çözücünün konduğu balon joje (d), katı örneğin konduğu ekstraktör haznesi (b), sifon olarak adlandırılan sıvı akış borusu ve geri soğutucu (c) (yoğuşturucu)dur. Soksaleet cihazının çalışma prensibini anlatmak bütün kısımlarının net olarak anlaşılmasını da sağlayacaktır. Ekstrakte edilmek istenilen bileşeni içeren katı madde örneği şekilde b harfi ile gösterilen ekstraksiyon bölmesine bilinen miktarda genellikle bir filtre kağıdı içinde yerleştirilir. Bilinen miktardaki çözücü balon jojeye konur. Isıtıcı aracılığıyla kaynama noktasının üzerindeki bir sıcaklığa kadar ısıtılan çözücü buharlaşarak ekstraktörde ilerlemeye başlar. Çözücünün buharı yoğuşturucu ile karşılaştığında yoğuşma gerçekleşir ve çözücü damlalar halinde katı örneğin üzerine dökülür. c bölümündeki çözücü seviyesi belli bir noktaya kadar ulaştığında, katı örnekten ekstrakte edilecek bileşeni çözmüş olan çözücü balon jojeye geri dökülür ve kaynayıp buharlaşma işlemine tekrar katılırken çözmüş olduğu bileşeni balon joje içerisinde bırakmış olur. Böylelikle katı örnek her defasında taze çözücüyle etkileşirken ekstraksiyondaki sürücü güç artmış olur. Bu işlem genellikle 2-3 defa tekrarlandıktan sonra süreç sona erer. Böylelikle taze sıcak çözücü katı örnek içerisinde 2-3 kere devir daim yapmış olur.



Şekil 2.4.Soksalet Ekstraktörü'nün Şematik Gösterimi

Çizelge 2.7.'de soksalet ekstraktörünün avantaj ve dezavantajları listelenmiştir.

Çizelge 2.7. Soksalet Ekstraktörünün Avantajları-Dezavantajları [52, 53]

Soksalet Ekstraksiyonu	
Avantajları	Katı örnek ile her defasında taze doymamış çözücü ile etkileştiği için aktarım en üst düzeyde olur.
	İşlem sırasında ekstraksiyon şişesinin de ısınması bütün proseste yüksek sıcaklık sağlar.
	İşlemin çok basit olması ekstraksiyonun uygulanabilirliğini artırır.
	İşlem sonunda filtrasyona ihtiyaç yoktur.
	Cihaz ucuz ve basittir.
	Paralel eş zamanlı çalışarak örnek hacmi artırılabilir.
	Diğer ekstraksiyon teknikleri ile karşılaştırıldığında ekstrakte edilecek bileşenin daha büyük tanecik boyutuna sahip katılardan ekstraksiyonuna olanak sağlar.
	Oldukça fazla çeşitlilikte katı örnek numunesi ile çalışılabilir.
	Mevcut birçok resmi analitik yöntem bu standart tekniğe dayandırılmıştır.
Dezavantajları	Ekstraksiyon süresi 48 saate kadar uzayabilir.
	Büyük hacimlerde çözücü kullanılması gerekir.
	Ekstrakte edilecek bileşenin sıcaklığa uzun süreli maruz kaldığında bozunması söz konusu olabilir.
	Ekstraksiyon bitiminde bir buharlaştırma sürecine ihtiyaç duyulur.
	Karıştırma işlemi yoktur.

Gelişen teknoloji ve ihtiyaçlar doğrultusunda soksalet ekstraktörünün dezavantajlarını yok edecek basınçlı sıvı ekstraktörü, mikrodalga destekli sıvı ekstraktörü, ses dalgaları destekli sıvı ekstraktörü ve süper kritik sıvı ekstraktörü

alternatif yöntemler arasına girmiştir.

Soksalet ekstraksiyonunun ticari çalışmalarda, laboratuvar ve araştırma çalışmalarında kullanımı oldukça yaygındır. 2008 yılında Yeoh ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada, portakal kabuklarından pektinin eldesi soksalet ekstraksiyonu ve mikrodalga ekstraksiyonu ile gerçekleştirilmiş ve optimum çalışma koşulları belirlenmiştir. Araştırmacılar elde edilen pektinin portakalın belirli bölgelerine göre değiştiği, üç saatlik soksalet ekstraksiyonu sürecinin pektin alımı için yeterli olduğu, çözücü derişiminin yüksek olmasının sonuç üzerinde bir etkisinin olmadığı bilgilerine ulaşmışlardır [54]. 2011 yılında Srivastava ve arkadaşlarının pektinin kaynakları, ekstraksiyonu ve ilaç sektöründeki uygulamaları ile ilgili yaptıkları çalışmada, soksalet ekstraksiyonun diğer birçok ekstraksiyon yöntemi arasından en güvenilir sonuçları verdiği ve ekstraktın elde edilmesiyle bir maddeye uygulanmasının eş zamanlı olmasına imkan sağladığı sonucuna ulaşılmıştır [55].

Portakal kabuklarından pektinin elde edildiği bir başka çalışmada mikrodalga ekstraksiyonu ve soksalet ekstraksiyonu karşılaştırılmış ve verim olarak bakıldığında soksalet ekstraksiyonu sonucunda oluşan verimin mikrodalga ekstraksiyonuna göre 2 kat daha fazla olduğu, ancak sürenin uzun olmasından ötürü ekstraksiyon hızına bakıldığında soksaletin daha düşük kaldığı verilerine ulaşılmıştır [21].

2.4. Mikroorganizmalar

2.4.1. Mikroorganizmaların Genel Özellikleri

Canlılar alemi 3 gruba ayrılmaktadır. Bunlar mikroorganizmalar, bitkiler ve hayvanlardır. Bu alemin en küçük yapı taşı olan mikroorganizmalar (protista) ribozomal RNA analizlerine göre de kendi arasında ikiye ayrılmaktadır.

- Prokaryotlar: En ilkel tek hücreli canlılardır. Başlıcaları bakteriler ve mavi-yeşil algler (cyanobacteria) dir.
- Ökaryotlar: Prokaryotlardan daha gelişmişlerdir. Hücre zarları vardır. Başlıcaları mantarlar (şapkalı mantarlar, küf mantarları ve mayalar), tek hücreli hayvanlar (protozoalar) ve su yosunlarıdır.

Bir mikroorganizma veya mikrop, genellikle çıplak gözle görülemeyecek kadar küçük mikroskobik bir organizmadır. Mikroorganizmalar çok çeşitlidir. Bu tanımlama

bakterileri, mantarları, arkeaları, protistleri, mikroskopik bitkileri (yeşil algler) ve plankton, planarya ve amip gibi mikro hayvanları da içine almaktadır. Bazıları virüsleri mikroorganizmaların içine dahil etse de, bunlar cansız olarak kabul edilmektedir [56, 57]. Mikroorganizmaların büyük kısmı tek hücreli olsa da, bu hepsine genellenemez, çünkü bazı çok hücreli organizmalar mikroskopik olurken bazı tek hücreli protistler ve bakteriler, *Thiomargarita namibiensis* gibi makroskopiktir (çıplak gözle görülebilmektedir). Mikroorganizmalar, biyosferin su olan her yerinde, aynı zamanda okyanus tabanındaki sıcak su kaynaklarında, atmosferin üst tabakalarında ve yerkabuğunun iç kısımlarındaki kayaların derinliklerinde, bazı gıda maddelerinde ve canlıların deri ve bağırsaklarında yaşamaktadır. Mikroorganizmalar, saprotrof olarak iş gördükleri için ekosistemlerin besin çemberinde çok önemlidirler. Bazı mikroorganizmalar azot tutabildikleri için, azot döngüsünün en değerli parçalarıdır ve son çalışmalar havadaki mikroorganizmaların yağış ve havanın oluşumunda etkili olabileceğini göstermektedir [58]. Mikroorganizmalar medikal uygulamalar, protein ayırma, genetik çalışmalar, enzim ve çeşitli ürünlerin eldesi gibi biyokimya mühendisliği kapsamındaki bir çok alanda, ve atık su arıtımı gibi ekolojik süreçlerde sıklıkla kullanılmaktadır [59-62].

Bakteriler, mayalar ve tek hücreli alglerin hücrelerinin büyük bir miktarı (% 75-80) sudan oluşurken kalan kuru ağırlıkları ise proteinlerden, lipidlerden, polisakkaritlerden ve nükleik asitlerden oluşmaktadır. Hücre yapısı daha karmaşık olan mantarların kuru hücre ağırlıklarının büyük kısmı hücre duvarının yapı maddesi olan inört polisakkarit bileşiklerden oluşmaktadır.

2.4.2. Mikroorganizmaların Besin Ortamı

Mikroorganizmanın gelişmesi ve üremesi için gerekli koşulların oluşturulduğu, pH, nemlilik, oksijen, besin miktarı, sıcaklık gibi önemli parametrelerin sağlandığı sıvı ortam besin ortamı olarak isimlendirilir. Her mikroorganizma için üreyebildiği ortamın besin bileşenleri, sıcaklığı ve pH'ı, oldukça önemlidir ve mikroorganizmaya göre farklılık göstermektedir. Besin ortamının özellikleri mikroorganizmaların büyüme verimleri üzerinde çok etkilidir [59, 61]. Uygun koşullar sağlanmadığı takdirde mikroorganizmalar ya ölürler yada adapte olurlar. Adaptasyon sağlanabilmesi ortam bileşenlerine ve mikroorganizmanın söz konusu bileşenlere karşı toleransına bağlıdır.

Karbon (Enerji) kaynağı, azot kaynağı ve mineral kaynağı mikroorganizmaların ideal besin ortamında bulunması gereken üç temel gruptur.

2.4.2.1. Karbon (Enerji) Kaynağı

Ototrof mikroorganizmalar, gün ışığı varlığında büyümeleri ve sentezleri için gerekli enerjiyi karbon kaynağı olarak karbondioksiti veya çözeltideki bikarbonatları kullanarak içerdđi klorofil a ve b pigmentleri katalizörlüğünde güneş enerjisinden sağlar. Karanlıkta ise enerji ihtiyaçları devam etmekte olup, bu enerjiyi temin ettikleri kaynaklar değişiklik göstermektedir. Gerekli enerjiyi glukoz ve sakkaroz gibi organik kökenli karbon kaynaklarından temin eder. Heterotrof mikroorganizmalar için ise karbon kaynağı olarak kullandıkları nişasta, şeker, organik asitler, yağlar ve hidrokarbonlar büyümeleri ve sentezleri için gerekli enerjiyi elde ettikleri kaynaklardır. Özellikle sakkaroz, glukoz, fruktoz vb. şekerler bu mikroorganizmaların büyümesini etkileyen ve üremeyi sınırlayan ana besin maddesidir.

Farklı mikroorganizmalar karbon kaynaklarını farklı şekilde parçalarlar. Bu parçalama işlemi kimi zaman mikroorganizmaya öğretilmesi gereken bir özellik olabilmektedir. Mikroorganizmalar normal koşullarda kullanamadığı bir hidrokarbonu adapte edildikten sonra enerji kaynağı olarak kullanabilmektedir [60, 63].

2.4.2.2. Azot Kaynağı

Mikrobiyal büyümede gerekli olan azot kaynağı olarak genellikle NH_4 ve NO^{-3} gibi azot içeren anorganik maddeler kullanılır. Diğer bir seçenek olarak ise ürün, pürin, pepton, maya ekstraktı, protein ve bazı aminoasitler gibi organik azot kaynakları tercih edilir [64].

2.4.2.3. Mineral Kaynağı

Mikroorganizmalar azot ve karbon kaynaklarının yanı sıra O, H, P, S, K, Ca, Mg, Fe'e ve nadiren olsa da iz element olarak Mn, Cu, Zn, Mo, Co, Ni, V, B ve Na'a ihtiyaç duymaktadırlar. Kompleks maddeler ve tuzlar içinde dağılmış halde bulunan bu maddeler mayaların gelişiminde ve ürün üretme verimlerinde doğrudan etkilidir [59, 64].

2.4.3. Mikrobiyal Üremeye Etki Eden Fiziksel Parametreler

2.4.3.1. Ortam pH'ı

Besin ortamının pH'ı, ortamdaki H_3O^+ iyonu derişimini ifade etmektedir ve mikroorganizmalar üzerindeki etkileri, mikroorganizmaların besinlerden yararlanma verimlerini etkilemelerinden kaynaklanmaktadır. Düşük ve yüksek pH değerlerinde aktiviteleri azalan, hücre zarından besin transferinde görev alan enzimlerin optimum bir çalışma pH değeri vardır. Enzim aktivitesinin azalması hücre büyümesini de yavaşlatmaktadır. Bunun yanı sıra pH'ın bir diğer etkisi de hücredeki organeller üzerine olmaktadır. Dış ortamın asidik olması hücre içerisine hidronyum iyonu transferine, bazik olması ise hidroksil iyonu transferine neden olmaktadır. Bu durumda hücredeki organellerin çalışması olumsuz etkilenir ve hücre gelişimi yavaşlar [64].

Mikrobiyal üreme için gerekli optimum pH değeri ile mikrobiyal ürün üretimi için gerekli optimum pH değeri farklılık gösterebilir. Bu fark genellikle (± 1) , (± 2) olabilmektedir. Optimum pH değeri bir çok mikroorganizma türü için farklılık gösterebilmektedir. Bu değerler bakteriler için 3.0-8.0, mayalar için 3.0-6.0, küfler için 3.0-7.0, bitki hücreleri için 5.0-6.0 ve hayvan hücreleri için 6.5-7.5 arasında değişmektedir. Birçok mikroorganizma çevresel pH değeri farklılık gösterdiğinde hücre içi pH'ını sabit bir değerde tutacak mekanizmaya sahiptir [61].

2.4.3.2. Sıcaklık

Mikroorganizmanın biyolojik aktivitesini pH kadar etkileyen bir diğer parametre de sıcaklıktır. Bu etki sıcaklığın ortamdaki çözünmüş oksijen derişimini etkilemesi ve buna bağlı olarak da biyolojik aktiviteyi etkilemesi ile gerçekleşebildiği gibi, sıcaklık arttıkça veya azaldıkça, enzim aktivitesinde de değişiklik oluşacağından, metabolizmanın olumsuz yönde etkilenmesiyle de gerçekleşmektedir. Mikroorganizmaların gelişebildiği bir sıcaklık aralığı ve bu aralıkta bir optimum değeri vardır. Bu optimum sıcaklık, mikropların üremeleri ve büyümeleri için genellikle iyi olsa da, mikrobiyal süreçteki yan ürünlerden bazılarının (çeşitli metabolitlerin, enzim, toksin, endüstride değeri olan ürünlerin vs.) sentezlenebilmesi için her zaman uygun olmayabilir.

2.4.3.3. Çözünmüş Oksijen İhtiyacı

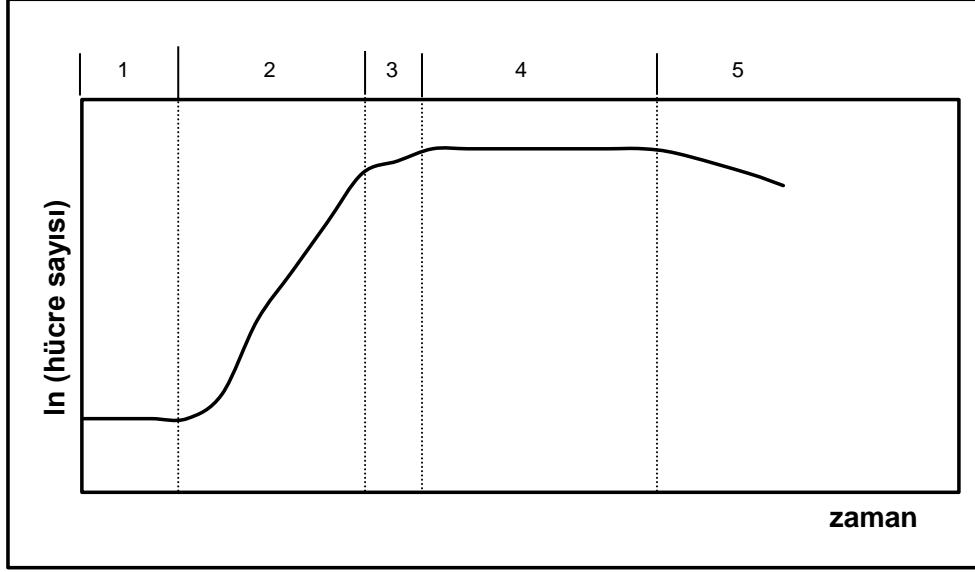
Aerobik mikroorganizmaların gelişebilmesi için oksijene ihtiyaçları vardır. Bunlar oksijensiz ortamlarda enerji elde edebilecek mekanizmaya sahip olmadıkları için havasız koşullar altında gelişemezler. Aerobik mikroorganizmaların oksijen ihtiyacı, havadan besin ortamının yüzeyine difüzyonla transfer olan oksijenle sağlanır. Bu etkileşimi arttırmak için sürekli karıştırma uygulamak etkin olarak kullanılan bir yöntemdir. Karıştırma substratın oksijenle temasını artırır [59, 61, 62]. Bu tür mikropların enzim sistemleri, hidrojeni (H⁺), serbest oksijene (O₂) transfer ederek hidrojen peroksit (H₂O₂) oluştururlar. Bu madde toksik olduğundan katalaz enzimi tarafından hemen H₂O ve O₂ 'ye ayrıştırılır (H₂O₂ → H₂O + 1/2O₂). Aerobik mikroorganizmaların aksine anaerobik mikroplar ise oksijenin bulunmadığı ortamlarda gelişebilirler. Oksijen anaerobik mikroorganizmalar için zehirleyici etkidir. Bu etki, enzimlerinin oksijen tarafından bloke edilmesiyle gerçekleşir. Enzim sistemleri, hidrojeni (H⁺), oksijene transfer edemez ve başka oksijen alıcısı (nitrat, sülfat, karbonat, vb) kullanırlar [65]. Anaerobik mikroorganizmalar için daha iyi oksijensiz ortam yaratmak için ise besin ortamına CO₂ veya N₂ ilave edilmesi uygulanan işlemlerdendir [61].

2.4.3.4. Engelleyici Maddeler (İnhibitörler)

Besin ortamında bulunan, mikroorganizmanın üreme verimini ve üreme hızını olumsuz yönde etkileyen bileşiklere inhibitör denilmektedir. Bu maddelerin başında fenol, pestisit gibi kimyasallar gelirken, yüksek substrat veya ürün derişimi de inhibisyona sebep olabilmektedir. Özellikle sitrik asit ve etil alkol fermantasyon proseslerinde ürünün belli bir derişime ulaştığında mikroorganizma üzerinde toksik etkisi olduğu bilinmektedir [61]. Mikroorganizmaların inhibitörlere karşı toleransı ve adaptasyon yeteneği ortamdaki bileşenlere, mikroorganizmanın yapısına ve o andaki fizyolojik durumuna bağlı olarak değişmektedir [66].

2.4.4. Mikrobiyal Üreme

Üreme mikroorganizmanın sayısal veya kütleli artışı şeklinde tanımlanır. Mikrobiyal üreme süreçlerinde besin ortamına hazırda üremiş halde bulunan kültürün ilave edilmesiyle birlikte başlayan çeşitli üreme evreleri gerçekleşmektedir. [59, 61]. Bu evreler Şekil 2.5.'te gösterilmiştir. Mikroorganizmanın kütlesi artarken bununla eş zamanlı olarak substrat kullanıldığı için substrat derişimi giderek azalır.



(1. Gecikme evresi, 2. Logaritmik veya üstel üreme evresi, 3. Duraklama evresi, 4. Sabit evre, 5. Ölüm evresi)

Şekil 2.5. Mikroorganizmanın Üreme Evreleri

Hazır üremiş kültürün besin ortamına aşılandıktan sonraki ilk anı gecikme evresi olarak tanımlanır. Bu evre hücrelerin ortama uyum sağlayıp çoğalmaya başlamasına kadar devam eder. Bu süreçte hücre sayısında çoğalma gözlenmez fakat hücre kütlelerinde az bir artış olabilir. Mikroorganizmaların ortama adapte olmalarıyla birlikte hücrelerin en yüksek hızla büyüdüğü, hücre kütlelerinin ve sayısının ani bir artış gösterdiği logaritmik faz olarak da bilinen üstel üreme evresi başlar. Bu evrede hücre sayısı ve kütlesi üstel olarak artar. Süre ilerledikçe bir veya birkaç besin maddesinin tükenmesi ve ortamdaki toksik yapıların artmasıyla birlikte büyüme yavaşlar ve bu evre duraklama evresi olarak bilinir. Bir süre sonra üreme hızı ölüm hızına eşit hale gelir ve ortamdaki hücre sayısı sabit kalır ve sabit evre başlamış olur. Bu evrede net üreme hızı sıfırdır fakat üremiş olan hücreler metabolik olarak aktiftir. Bu sürecin son evresi olan ölüm evresinde ise ölüm hızı üreme hızına göre oldukça fazladır ve ortamdaki hücre derişimi hızla azalır [59, 61].

2.4.5. Mayalar

Mayaların geçmişi ve insanlar tarafından kullanılmaları çok eski zamanlara dayanmaktadır. Halen de günümüzde çok çeşitli alanlarda ve farklı sebeplerden ötürü geniş lde kullanılmaları mevcuttur. Mayalardan endüstriyel lkte elde edilen ürünlerin başında ekmek mayası, alkol ve pigmentler gelmektedir. Mantar ailesinin büyük bir bölümünü oluşturan mayalar, doğada çok yaygın olarak bulunurlar ve hücre yapılarının % 75'i su, kalan kısım ise lipidler, nükleik asitler, polisakkaritler ve proteinlerdir. Hücre zarları ise protein, lipid ve fosfat yapısındadır. Mayalarda hidrolazlar ve desmolazlar olmak üzere iki enzim tipi bulunur. Karbohidrolaz, proteaz ve esteraz olan enzimler hidrolaz sınıfından olan enzimlerdir. Desmolaz enzimleri ise yükseltgenme ve indirgenme tepkimelerini katalizlerler.

Maya hücresinin kısımları ve bu kısımların içerdikleri organeller aşağıda özetlenmiştir [59, 62].

Hücre duvarı: Maya hücresinin en dış kısmında bulunan, hücreyi koruyan ve şekil veren kısımdır. Hücrenin iç ve dış ortam arasındaki osmotik basıncını dengeler. Dış ortamdaki hücre içine madde aktarımını sağlayan ve duvarın yumuşak kalmasına olanak tanıyan glikonaz ve hidrolaz enzimlerini içerir. Ayrıca dış ortamdaki bütün maddelerin tanınmasından da hücre duvarı sorumludur [62].

Hücre zarı: Hücre duvarının altındaki kısımdır. Yarı geçirgen özelliği sayesinde hücre duvarından gelen besin maddelerini hücre içine alırken, üretilen ürünlerin de hücre dışına aktarılmasını sağlar [59, 62].

Stoplazma: İçeriğinde düşük ve büyük molekül ağırlıklı bileşikler, znmş proteinler, glikojen ve diğer znebilir bileşikleri bulunduran ve su miktarı fazla asidik bir sıvıdır. İçerdiği taneciklerin farklı görevleri vardır. Bunları açıklayacak olursak;

- a. Ribozom: Protein sentezinden sorumludur.
- b. Mitokondri: ubuk şeklinde ve solunumdan sorumludur. Enerji depolar. Enzim sentezi ve yedek besin maddelerinin üretiminde görev alır.
- c. Golgi aygıtı: Hücrenin atıklarının toplandığı kısımdır. Serbest hale gelen maddelerin kontrolünü sağlandığı yerdir.

- d. Endoplazmik Retikulum: En dıştan yani hücre zarından başlayarak en ie, stoplazmaya kadar uzanan bir ađ örgüsüdür. Çift katlı zar yapısındadır. Plazma iletimi yoludur.
- e. Lizozom: Depo görevi görür. Mitokondri de sentezlenen enzimlerin depolandığı yerdir.
- f. Sentrozom: Çekirdek bölünmesinde görev alır.
- g. Vakol (boşluk): İnce bir zarla çevrili olan bu boşlukların içerisinde düşük molekül ağırlıklı maddeleri içeren sıvı bulunur [59, 62].

Çekirdek: Kalıtsal genler olarak bilinen kromozomların bulunduğu, stoplazma içinde zarla çevrili olarak bulunan kısımdır. Yapısında DNA ve çeşitli proteinler bulunur. Ayrıca çekirdeğin içinde RNA'ca zengin küresel çekirdekçikler de mevcuttur.

Mayaların üremeleri genellikle bölünerek ya da tomurcuklanarak olmaktadır. Bölünerek çoğalan maya hücreleri, hücre ortasından bölünerek bir ara bölme oluşturur ve hücrenin buradan ikiye ayrılmasıyla aynı büyüklükte iki yavru hücre oluşur. Tomurcuklanarak çoğalan mayalar, uygun evre koşulları bulurlarsa tomurcuklanma ile bir hücreden bir veya daha çok çıkıntı meydana gelir ve bunlar yeni hücreler halinde gelişir. Gelişen bu hücreler daha sonra ana hücreden ayrılır. Tomurcuklanarak çoğalan bir maya hcesi yaklaşık 50-55 defa tomurcuklanabilmektedir [64]. Bu büyüme ve gelişme ortam şartlarına ve besin maddelerine bağlıdır. Bu şartlardan en çok etkili olan pH, sıcaklık ve oksijen derişimidir.

Çok geniş bir pH aralığında üreyebilen mayaların iyi gelişebilmeleri için optimum pH değerlerinin genellikle 4.0-5.5 arasında değiştiği bilinmektedir. Ancak fermantasyon sürecinde ortam pH'ı remeye bağlı olarak zamanla da değişmektedir. Kullanılan azot kaynağı da bu değişimi yönlendiren etkenlerden birisidir. Örneğin azot kaynağı olarak amonyum iyonları kullanıldıysa, amonyağın hücre tarafından kullanılması sebebiyle pH düşer ve hidrojen iyonları ortama serbest bırakılır. Azot kaynağının nitrat bileşikleri olduğu durumda ise, nitratı amonyağa indirgemek için hidrojen iyonları ortamdaki uzaklaştırılır ve pH yükselir. Hüresel faaliyetler sırasında bazların veya organik asitlerin üretildiği durumlarda da ortamın pH değerini değişmektedir. Karbondioksitin ortama eklenmesi ya da ortamdaki uzaklaştırılması işlemlerinin de pH üzerinde büyük etkisi vardır. pH değerinin tüm proses boyunca sabit kalması için pH kontrollü sistemler kullanılabilir.

Mayalar için üreme sıcaklığı 0-50°C arasında değişiklik göstermekle birlikte, genellikle en uygun üreme sıcaklığı değeri 25-30°C arasındadır. Sıcaklık değerinin optimum değerinin altında ya da üstünde olması metabolik aktiviteyi oldukça etkilemektedir.

Mayaların üremesini etkileyen bir diğer etken ise havalandırmadır. Havalandırmanın etkisi diğer parametrelere göre daha karmaşıktır. Genel olarak hücre büyümesi aerobik koşullarda daha hızlı gerçekleşse de etil alkol gibi ürünlerin oluşumu anaerobik koşullarda gerçekleşmektedir [61].

Mayaların üremesi ve ürün üretiminde diğer bahsedilen parametreler gibi ortamdaki besin bileşenlerinin çeşidi ve miktarı da önem taşımaktadır. Hücre büyümesini kontrol eden karbonhidratlar gibi N, P, Ca, Mg gibi elementler de hücre gelişimini doğrudan etkilemektedir.

Mayaların geçmişten günümüze kadar gelen kullanım alanlarının dışında gelecekte de yenilenebilir enerji kaynaklarında, çevresel biyoteknolojide ve insan sağlığını ilgilendiren pek çok biyolojik gelişmede kullanımının artacağı tahmin edilmektedir. Mayaların üretiminde besin kaynağı olarak yenilenebilir karbonhidratların kullanılmasının büyük bir avantaj sağlayacağı aşikardır [62].

Mayaların kullanıldığı çalışmalar arasında atıksulardan ağır metal iyonlarının biyosorpsiyon ve biyobirikim yöntemleri ile giderimi [67]; biyosorbent olarak atıksulardan boyarmaddelerin uzaklaştırılmasında kullanımı [68]; şeker pancarı küspesinden biyoetanol üretimi [64]; turunçgil kabuklarından mikrobiyal yöntemle pektin elde edilmesi; pektinden mikrobiyal olarak lipid elde edilmesi [69,70]; eş zamanlı atık değerlendirilmesi ve mikrobiyal pigment üretimi [71] verilebilir.

Bu tez çalışmasında ise atık portakal kabuklarından elde edilen doğal besin ortamında *Rhodotoroula glutinis* mayası ile pigment üretimi incelenmiştir.

2.4.5.1. Mayaların β -Karoten Üretiminde Kullanılması

1950'li yıllardan beri mikroorganizmalar kullanılarak β -Karoten üretimi konusunda bir çok çalışma yapılmaktadır. Çalışmaların ortak sonucu, üretilen β -Karoten miktarının mikroorganizmanın türüne ve ortam koşullarına bağlı olarak oldukça değişiklik gösterdiği, parametreler değiştirilerek çok farklı miktarlarda ürün elde edilebileceği olmuştur.

1993 yılında Martin ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada β -Karoten üreten *Rhodotorula rubra* mayasının ürün üretimi üzerine sıcaklığın, pH'ın, karıştırma hızının ve toplam karbonhidrat derişiminin etkileri incelenmiştir. Sonuç olarak 22°C, 5.5 pH, 200 rpm ve 15 g/L karbonhidrat derişiminin optimum koşullar olduğu bilgisi literatüre eklenmiştir [72].

Bir başka çalışmada Buzzini ve Martini atık değerlendirmeyi de dikkate alarak tarımsal atıkların mikrobiyal fermantasyonda karbon kaynağı olarak kullanılabilirliğini araştırmışlar ve soya fasulyesi unu özütü, konsantre üzüm kabuğu, glukoz şurubu, mısır unu özütü ve pancar melasını çalışmalarında kullanmışlar ve β -Karoten üretimi için en uygun besin ortamının konsantre üzüm kabuğundan elde edildiğini saptamışlardır [73].

Ortamda tuz bulunmasının *Rhodotorula glutinis*'in β -Karoten üretimi üzerine etkilerinin incelendiği bir çalışmada ise, Bhosale ve Gadre deniz suyu ve saf su ile çalışmışlar ve tuzun ürün üretimini olumlu yönde etkilediğini bulmuşlardır [74].

2014 yılında Gomez ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada günümüzde karotenoidlerin ilaç ve gıda başta olmak üzere bir çok endüstride çok revaçta olduğu, sadece vitamin A kaynağı olarak kullanılmayıp, renklendirme ve antioksidan etkilerinden de yararlandığı ve karotenoidlerin kimyasal olarak sentezlenmelerinin ya da bitkilerden elde edilmelerinin sınırlı ve düşük verimli olmasının aksine mikrobiyal olarak üretilen karotenoidlerin hem verim hem de maliyet bakımından çok daha avantajlı olduğuna dikkat çekmişlerdir [75].

2.4.5.2. *Rhodotorula* Türü Mayalar

Rhodotorula toprakta, havada, göllerde, okyanuslarda ve mandıralarda bulunan bir maya türüdür. Bitkilerde, insanlarda ve diğer memelilerde hızla büyüyen koloniler oluşturabilirler. Bu yapılar yumuşak, parlak ya da donuk renklere olabildikleri gibi bazen kabarık yapıda da olabilmektedirler. Seksüel olarak üreyen bu mayalar pembe, turuncu, sarı ya da mercan kırmızısı renklere olabilirler. *Rhodotorula glutinis*, *Rhodotorula minuta* ve *Rhodotorula mucilaginosa (rubra)* olmak üzere üç ayrı cinsi vardır. *Rhodotorula* ürün olarak pigment ve üreaz enzimi üretir [76].

Rhodotorula glutinis

Almanza ve arkadaşları 2014 yılında yaptıkları çalışmada *Rhodotorula glutinis*'in lipidleri, karotenoidleri, enzimleri ve bunların yanında bir çok bileşiği de

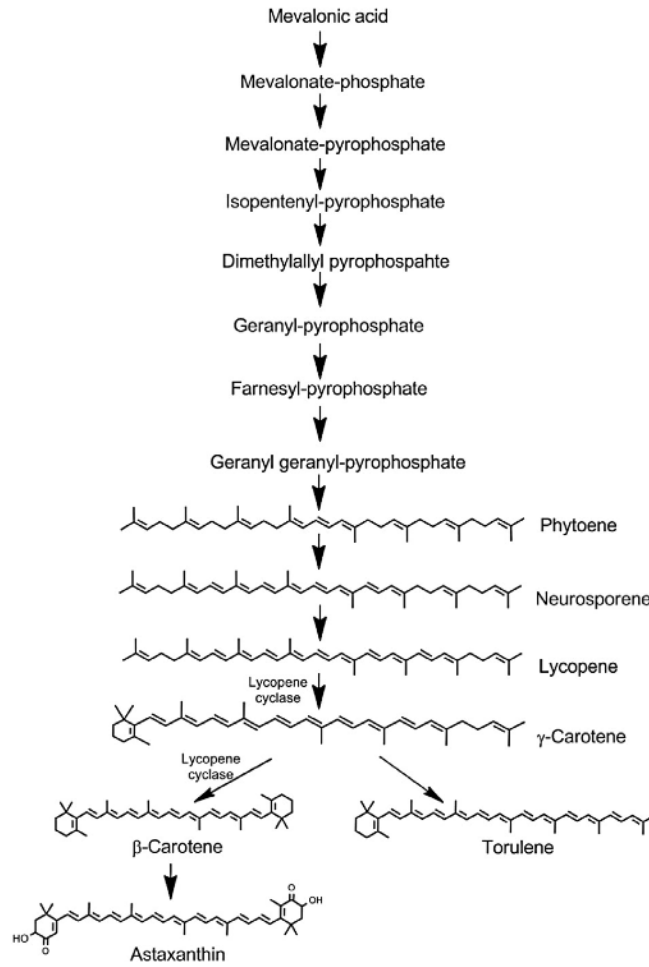
sentezlemesinin avantajlarının gıda, ilaç, kozmetik ve daha bir çok gelişmekte olan sektörde kullanıldığına dikkat çekmişlerdir [77]. Çizelge 2.8.'de *R. glutinis*'in ürettiği kimyasallar ve bu konuları çalışan gruplar belirtilmiştir.

Çizelge 2.8. *Rhodotorula glutinis*ten Üretilen Bileşikler [74, 77-90]

Bileşik	Referans
Lipidler	Alvarez ve ark. (1992), Cheirslip ve ark. (2012), Saenge ve ark. (2011), Liu ve ark. (2015), Almanza ve ark. (2014)
Yağ asidi	Davoli ve ark. (2004), Easterling ve ark. (2009)
Yağ	Lopes da Silva ve ark. (2011)
Lipaz	Papaparaskevas ve ark. (1992), Khayati ve Alizadeh (2013),
Timin hidroksilaz	Thornburg ve ark. (1993), Neidigh ve ark. (2009)
Tanaz	Taşkın (2012)
Pektinaz	Taşkın (2012)
İnvertaz	Canlı ve ark.(2011)
Karotenoid	Bhosale ve Gadre (2001), Bhosale ve ark.(2003), Davoli ve ark. (2004),Roadjnakamolson ve Suntornsuk (2010), Taşkın ve ark. (2011)

Rhodotorula glutinis üstel büyüme evresinde glikojen üretme kapasitesi gibi alışılmış metabolik özelliklerin yanı sıra, durgun fazda da pigment ve lipid üretme özellikleri ile tam bir aerobik maya türüdür. Basidiomycota filumunun Urediniomycetes sınıfında sporodial düzende yer alır. Hücreler 3-5 mikrometre boyutları arasında, elipsoit yapıda olup, çok kutuplu tomurcuklanma ile psödohif oluşturan kelepçe bağlantıları ve teliospor miselleri ile seksüel ürer [77].

Bu mikroorganizmalarla metabolik yol genellikle 3 aşamada tanımlanır: (1) İlk olarak (HMG-CoA) sintaz ile katalizlenen asetil-CoA reaksiyon sonucu 3-hidroksi-3-metil glutaril-CoA (HMG-CoA)'ya dönüşür. Daha sonra C₆ bileşiği olan mevalonik asite (MVA), ve bunu takiben fosforilasyon içeren bir dizi reaksiyonla dekarboksilasyonun takip ettiği MVA kinaz ile izopentil pirofosfata (IPP) dönüşüm gözlenir; (2) İkinci olarak ardarda üç IPP molekülünün birbirine eklenmesiyle IPP izomerleşerek DMAPP oluşur. Bu reaksiyonlar pirenil transferaz ile katalizlenerek geranil geranil pirofosfat (GGPP) isimli C₂₀ bileşiği elde edilir. İki tane GGPP molekülünün kondenzasyonu sonucu oluşan fitoenin desaturasyonu sonucu da likopen meydana gelir. (3) Son basamakta desaturasyon prosesinde fitoenin birinci ve ikinci çift bağlarının izomerizasyonu gerçekleşir. Şekil 2.6.'dan da görüldüğü gibi metabolik bir dizi reaksiyon sonucu oluşan halkasal karotenoidlerin başlangıç materyali likopendir [77, 91, 92].



Şekil 2.6. *Rhodorula* Türü Mayalarla β-Karoten ve Torulenin Mevalonik Asitten Biyosentetik Elde Ediliş Yolu [77]

Aksu ve Eren'in farklı şeker kaynaklarının, pH'ın, çalkalama hızının, havalandırma hızının ve sıcaklığın *R. glutinis*'in β -Karoten üretimi üzerine etkilerini inceledikleri çalışmalarında, pH 6.0 ve 30°C'daki ortam koşullarında karbon kaynağı olarak 20 g/L melas şurubu kullandıklarında, toplam karotenoid miktarı en yüksek değer olarak 125 mg karotenoid/fermantasyon hacmi olarak bulunmuştur [92, 93].

2011 yılında Saenge ve arkadaşları *R. glutinisten* lipid ve karotenoid üretimi için karbon kaynağı olarak gliserolü kullanmışlar ve nitrojen kaynağı olarak amonyum sülfat eklemiştir. Yarı kesikli fermentasyonla 6.05 g/L, % 60.7 hücresel lipid içeren lipid ve 135.25 mg/L β -Karoten üretimi gerçekleştirmişlerdir [80]. Bazı çalışmalarda *R. glutinis*'in atık su arıtımında kullanılabilirliğine dikkat çekilmiştir. Kimyasal çöktürme veya iyon değişimi gibi geleneksel yöntemler etkisiz olup ya da ekonomik olmayabilirken, sanayi atıkları ve kirleticileri uzaklaştırmak için *R. glutinis*'in kullanıldığı ucuz ve sürekli biyosorpsiyon yöntemlerinin alternatif bir yol olma potansiyelinin araştırılması üzerine çalışmalar gerçekleştirilmektedir [94].

3. DENEY SİSTEMİNİN MATEMATİKSEL TANIMLANMASI

3.1. Soksalet Ekstraksiyonuyla Pigment Üretiminin Matematiksel Tanımlanması

3.1.1. Portakal Kabuğunun Ekstrakte Edilebilen Pigment Kapasitesi (q)

Herhangi bir anda birim kuru portakal kabuğu kütlesi başına ekstrakte edilen fenolik pigment ve karoten pigment miktarları q_f ve q_k ile tanımlanmış ve Eşitlik 3.1. ve Eşitlik 3.2.'de tanımlanmıştır.

$$q_f = C_f \frac{V}{M} \quad (3.1.)$$

$$q_k = C_k \frac{V}{M} \quad (3.2.)$$

Burada;

q_f : Her hangi bir anda birim kuru portakal kabuğu kütlesi başına ekstrakte edilen fenolik pigment miktarı (g fenolik pigment/g kuru kabuk)

q_k : Her hangi bir anda birim kuru portakal kabuğu kütlesi başına ekstrakte edilen karoten pigment miktarı (mg karoten pigment/g kuru kabuk)

C_f : Her hangi bir anda çözücüye geçen fenolik pigment derişimi (g fenolik pigment /L çözücü)

C_k : Her hangi bir anda çözücüye geçen karoten pigment derişimi (mg karoten pigment /L çözücü)

V : Ekstraksiyonda kullanılan çözücü hacmi (L)

M : Her bir portakal kabuğu türü için kuru kütle bazında kullanılan kabuk miktarı (g)

Ekstraksiyonun bitiminde kararlı durumda birim kuru portakal kabuğu kütlesi başına ekstrakte edilen fenolik pigment ve karoten pigment miktarları ise q_{mf} ve q_{mk} olarak tanımlanmıştır.

3.1.2. Başlangıç Ekstraksiyon Hızı

Çözücüye geçen deneysel pigment derişimi (C_f veya C_k)'nin t ile değişim eğrilerinin $t=0$ anındaki eğim değerleri deneysel başlangıç ekstraksiyonu hızlarını ($h_{f,deneysel}, h_{k,deneysel}$) verir.

3.1.3. Ekstraksiyon Verimi

Değişik türlerde hazırlanmış portakal kabuklarından ekstraksiyonla elde edilen fenolik ve karoten pigment verimleri sırasıyla Eşitlik 3.3. ve Eşitlik 3.4.'te tanımlanmıştır.

$$\text{Fenolik Pigment Verimi} = \frac{C_{mf}V}{M} 100\% \quad (3.3.)$$

$$\text{Karoten Pigment Verimi} = \frac{(C_{mk}/1000)V}{M} 100\% \quad (3.4.)$$

Burada,

C_{mf} : Ekstraksiyonun bitiminde kararlı duruma ulaşıldığında çözücüye geçen toplam fenolik pigment derişimi (g/L)

C_{mk} : Ekstraksiyonun bitiminde kararlı duruma ulaşıldığında çözücüye geçen toplam karoten pigment derişimi (mg/L)

3.1.4. Ekstraksiyon Kinetik Modelinin Tanımlanması

Portakal kabuğundan pigment ekstraksiyonunda genel olarak bitkilerden antioksidan niteliğindeki maddelerin, polifenollerin, uçucu yağların ve pigmentlerin katı-sıvı ekstraksiyonlarına uygulanan, ekstraksiyon mekanizmasını ve kinetiğini açıklayan ve Eşitlik 3.5. ile verilen ikinci derece bir kinetik model kullanılmıştır. [95-98].

$$\frac{dC_i}{dt} = k_i(C_i - C_{si})^2 \quad (3.5.)$$

Burada;

C_i : Her bir pigment için her hangi bir anda çözücüye geçen pigment derişimi (g fenolik pigment/L; g karoten pigment/L çözücü)

k_i : Her bir pigment için ikinci derece ekstraksiyon hız sabiti (L/g dk)

C_{si} : Her bir pigment için teorik ekstraksiyon dengesi durumunda çözücüye geçen pigment derişimi (g/L)

t : Zaman (dk)'dır.

$t=0$ anında $C_{si}=0$ başlangıç sınır koşulu kullanılarak Eşitlik 3.5.'in integrasyonu ile Eşitlik 3.6. elde edilir.

$$C_i = \frac{k_i t C_{si}^2}{1 + k_i t C_{si}} \quad (3.6.)$$

Eşitlik 3.6.'nın düzenlenmesiyle Eşitlik 3.7 bulunur.

$$\frac{C_i}{t} = \frac{k_i C_{si}^2}{1 + k_i t C_{si}} \quad (3.7.)$$

Eşitlik 3.7.'nin doğrusallaştırılmasıyla Eşitlik 3.8. bulunur.

$$\frac{t}{C_i} = \frac{1}{k_i C_{si}^2} + \frac{t}{C_{si}} \quad (3.8.)$$

t/C_i 'ye karşı çizilen t grafiğinin eğiminden C_{si} ve doğrunun y eksenini kesim noktasından ise k_i değerleri saptanır.

$t \rightarrow 0$ 'a giderken Eşitlik 3.7'nin sol tarafı başlangıç ekstraksiyon hızı (h_i , g/L dk) olur. Bu durumda eşitliğin sağ tarafının paydası 1'e eşitlenir ve başlangıç ekstraksiyon hızı,

$$h_i = k_i C_{si}^2 \quad (3.9.)$$

olarak tanımlanır.

Eşitlik 3.8. ters çevrilip Eşitlik 3.9. yerine konduğunda Eşitlik 3.10. elde edilir. Bu eşitlikten teorik C_i - t eğrileri elde edilebilir.

$$C_i = \frac{t}{1/C_{si} + t/h_i} \quad (3.10.)$$

3.2. Kesikli Sistemde Mikrobiyal Üremenin ve Pigment Üretiminin Matematiksel Tanımlanması

3.2.1. Mikroorganizma Özgül Üreme Hızı

Kesikli sistemde üreyen mikroorganizmanın üstel üreme evresinde derişiminin zamanla değişimi özgül üreme hızı olarak tanımlanır ve Eşitlik 3.11. ile ifade edilir [59, 61].

$$\frac{dX}{dt} = \mu X \quad (3.11.)$$

t=0 anında $X=X_0$, t=t anında $X=X$ sınır koşullarında Eşitlik 3.11.'in integrasyonu ile Eşitlik 3.12. elde edilir.

$$\ln \frac{X}{X_0} = \mu t \quad (3.12.)$$

Bu eşitliklerde;

μ : Özgül üreme hızı (1/sa),

X : Kuru mikroorganizma derişimi (g kuru mo/L),

t : Zaman (sa)'dır.

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

3.2.2. Mikroorganizmanın Substrat Tüketim Hızı

Mikrobiyal β -Karoten üretiminde, hem karbon kaynağı olarak glukozun kullanıldığı yapay besin ortamında, hem de karbon kaynağı olarak kuru portakal kabuğunun kullanıldığı doğal besin ortamında substrat olarak ortamdaki toplam indirgen şeker tanımlanmıştır. Üstel üreme evresindeki substrat tüketim hızı Eşitlik 3.13. ile verilmiştir [59, 61].

$$\eta = -\frac{1}{X_m} \frac{dS}{dt} \quad (3.13.)$$

Bu eşitlikte;

S : Substrat (toplam indirgen şeker) derişimi (g/L),

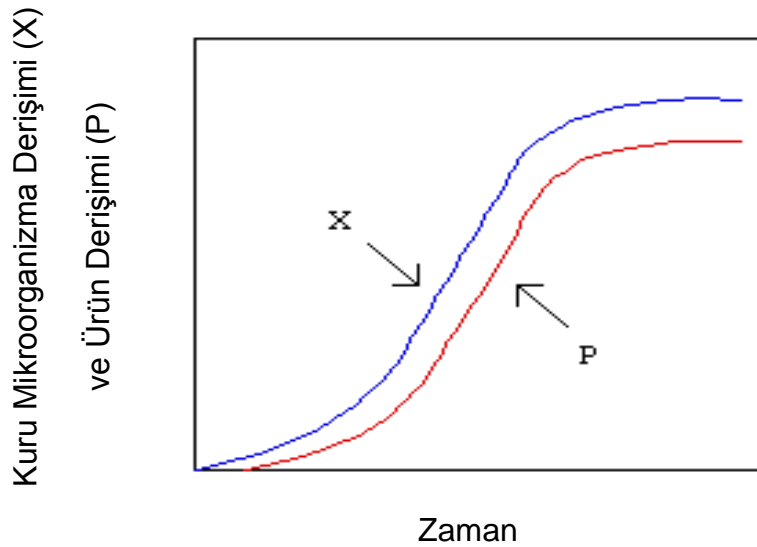
X_m : Üstel üreme evresinin sonunda elde edilen kurutulmuş mikroorganizma derişimi (g/L),

η : Substrat tüketim hızı (g substrat/g kuru mo.sa)'dır.

Substrat derişimine karşı zaman grafiğinin üstel üreme evresindeki eğimi, üstel üreme evresinin sonunda elde edilen kurutulmuş mikroorganizma derişimine bölünerek substrat tüketim hızı bulunur.

3.2.3. Mikroorganizmanın Pigment Üretim Hızı

Mikrobiyal ürünler mikroorganizmanın ürünü hücresel üremenin hangi evresinde ürettiğine bağlı olarak büyüme orantılı ürün oluşumu, karışık büyüme orantılı ürün oluşumu ve büyüme orantısız ürün oluşumu olmak üzere üç grupta sınıflandırılabilirler. Tez çalışmasında hücre üremesiyle eş zamanlı olarak pigment üretimi gözleendiğinden bu durum üremeye bağlı ürün oluşumu (Şekil 3.1.) olarak tanımlanmış ve pigment üretim hızı Eşitlik 3.14.'de verilmiştir.



Şekil 3.1. Üremeye Bağlı Ürün Oluşumu

$$v = \frac{1}{X_m} \frac{dP}{dt} \quad (3.14.)$$

Burada;

v : Pigment üretim hızı (mg pigment/g kuru mo.sa),

P : Pigment derişimi (mg β -Karoten /L),

P_m : Üstel üreme evresinin sonunda elde edilen pigment derişimi (mg β -Karoten/L)'dir

Oluşan pigment derişimine karşı zaman grafiğinin üstel üreme evresindeki eğimi X_m 'e bölünerek pigment üretim hızı bulunmuştur.

3.2.4.Pigment (β -Karoten) Verimi

Deney sisteminde pigment verimi mikroorganizma derişimine, substrat derişimine ve kullanılan kuru portakal kabuğu miktarına bağlı olmak üzere üç şekilde tanımlanmıştır.

3.2.4.1. Mikroorganizma Derişimine Bağlı Pigment Verimi

Ürün oluşumunun mikroorganizma derişimi ile paralel gittiği sistemlerde, ürün oluşum hızı ile özgül üreme hızı arasındaki sabit oran mikroorganizma derişimine bağlı ürün (β -Karoten) verimi olarak tanımlanır. Bu verim Eşitlik 3.15.'te tanımlanmıştır.

$$Y_{P/X} = \frac{\Delta P}{\Delta X} \quad (3.15.)$$

Başlangıçta ürün derişimi sıfır olduğundan ve logaritmik fazın sonunda en fazla ürün derişimi (P_m) ve en yüksek mikroorganizma derişimi (X_m) elde edileceğinden Eşitlik 3.15. Eşitlik 3.16.'ya dönüşür.

$$Y_{P/X} = \frac{P_m}{X_m} \quad (3.16.)$$

Burada;

$Y_{P/X}$: Birim kuru mikroorganizma kütlesi başına elde edilen pigment miktarı (mg pigment/g kuru mo)'dır.

3.2.4.2. Başlangıç Substrat Derişimine Bağlı Pigment Verimi

Logaritmik fazın sonunda elde edilen en yüksek ürün derişimi (P_m)'nin üremeyi kısıtlayıcı substratın başlangıç derişimi (S_o)'ne oranı başlangıç substrat derişimine bağlı ürün verimi olarak tanımlanmıştır (Eşitlik 3.17.).

$$Y_{P/S} = \frac{P_m}{S_o} \quad (3.17.)$$

Burada;

$Y_{P/S}$: Birim substrat kütlesi başına elde edilen pigment miktarı (mg pigment/g substrat)'dır

3.2.4.3. Kullanılan Kuru Portakal Kabuğu Miktarına Bağlı Pigment Verimi

Logaritmik fazın sonunda elde edilen en yüksek ürün derişimi (P_m)'nin doğal besin ortamındaki kuru portakal kabuğu derişimine (M/V , g kuru kabuk/L besin ortamı) oranı kuru portakal kabuğu miktarına bağlı pigment verimi olarak tanımlanmıştır (Eşitlik 3.18.).

$$Y_{P/M} = \frac{P_m}{M/V} \quad (3.18.)$$

Burada;

$Y_{P/M}$: Birim kuru portakal kabuğu kütlesi başına elde edilen pigment miktarı (mg pigment/g k.kabuk)'dır.

3.3. Yapay ve Portakal Kabuğundan Elde Edilen Besin Ortamlarında Üreyen Mikroorganizmanın Tek Substratın Kısıtlayıcı Olduğu Durumda Büyüme Kinetiğinin Modellenmesi

Kesikli sistemde substrat inhibisyonunun gözlenmediği durumda özgül üreme hızı ile mikroorganizmanın üreme hızını kontrol eden besin maddesi (substrat) arasındaki ilişki Monod eşitliği ile verilir (Eşitlik 3.19.) [59, 61].

$$\mu = \frac{\mu_m S}{K_s + S} \quad (3.19.)$$

Burada;

μ_m : En yüksek özgül üreme hızı (1/sa),

K_s : Doygunluk sabiti (en yüksek üreme hızının elde edildiği substrat derişiminin yarısına karşılık gelen substrat derişimi (g/L)'dir.

μ_m ve K_s değerlerinin büyüklüğü kullanılan mikroorganizmanın ve substratın türüne göre bağılı olarak değişiklik göstermektedir. Eşitlik 3.19.'un doğrusallaştırılmasıyla Eşitlik 3.20. elde edilir.

$$\frac{1}{\mu} = \frac{1}{\mu_m} + \frac{K_s}{\mu_m S} \quad (3.20.)$$

$1/\mu'$ ye karşı $1/S_o$ grafiğinin y eksenini kesim noktasından μ_m ; doğrunun eğiminden ise K_s bulunur. Düşük K_s değeri mikroorganizmanın düşük substrat derişimlerinde de hızlı ürediğini gösterir.

3.4. Substrat İnhibisyonu Olduğu Durumda Üreme Kinetiğinin Modellenmesi

Yüksek substrat derişimi mikroorganizmanın özgül üreme hızı üzerinde olumsuz etki gösterip, büyümeyi engelleyebilir. Bu durumda Monod Eşitliği yerine substrat inhibisyonunu içeren ve buna bağılı olarak mikroorganizmanın özgül üreme hızını substrat derişimine bağılı olarak ifade eden ve literatürde bulunan çeşitli eşitlikler kullanılabilir. Tez çalışmasında substrat inhibisyonunun matematiksel tanımlanmasında yarışmasız ve yarışmalı substrat inhibisyon modelleri kullanılmış ve sırasıyla Eşitlik 3.21. ve Eşitlik 3.22.'de sunulmuştur [99, 100].

Yarışmasız Substrat İnhibisyon Modeli

$$\mu = \frac{\mu_m}{\left(1 + K_s/S\right)\left(1 + S/K_I\right)} \quad (3.21.)$$

Yarışmalı Substrat İnhibisyon Modeli

$$\mu = \frac{\mu_m S}{K_s \left(1 + S/K_I\right) + S} \quad (3.22.)$$

Burada K_I aşırı substrat derişiminin neden olduğu inhibisyon sabiti (g/L)'dir.

Tez çalışmasında inhibisyon modeli eşitliklerindeki tüm kinetik sabitler NLREG programı kullanılarak nonlineer regresyon yöntemiyle bulunmuş ve deneysel verilere uygunluğu araştırılmıştır.

4. DENEY SİSTEMİ VE YÖNTEMLERİ

Bu tez çalışmasında atık portakal kabuklarından soksalet ekstraksiyonuyla gıda sektöründe boyarmadde katkı maddesi olarak kullanılması düşünülen fenolik ve karoten pigmentlerin eldesine kabuk türünün, ekstraksiyon öncesinde kabuğa uygulanan ön işlemin, sıvı/katı oranının ve çözücü türünün etkisi incelenmiştir. Tez çalışmasında aynı zamanda hem yapay hem de atık portakal kabuğundan yeni bir doğal besin ortamı hazırlanarak, bu besin ortamlarında üretilen *Rhodotorula glutinis* mayasından β -Karoten üretimi de gerçekleştirilmiştir. Yapay besin ortamında başlangıç şeker derişiminin; portakal posasından hazırlanan doğal besin ortamında ise başlangıç pH'ının, katı/sıvı oranının ve kabuk türünün mikroorganizmanın özgül üreme hızına ve pigment üretimine etkileri araştırılmıştır.

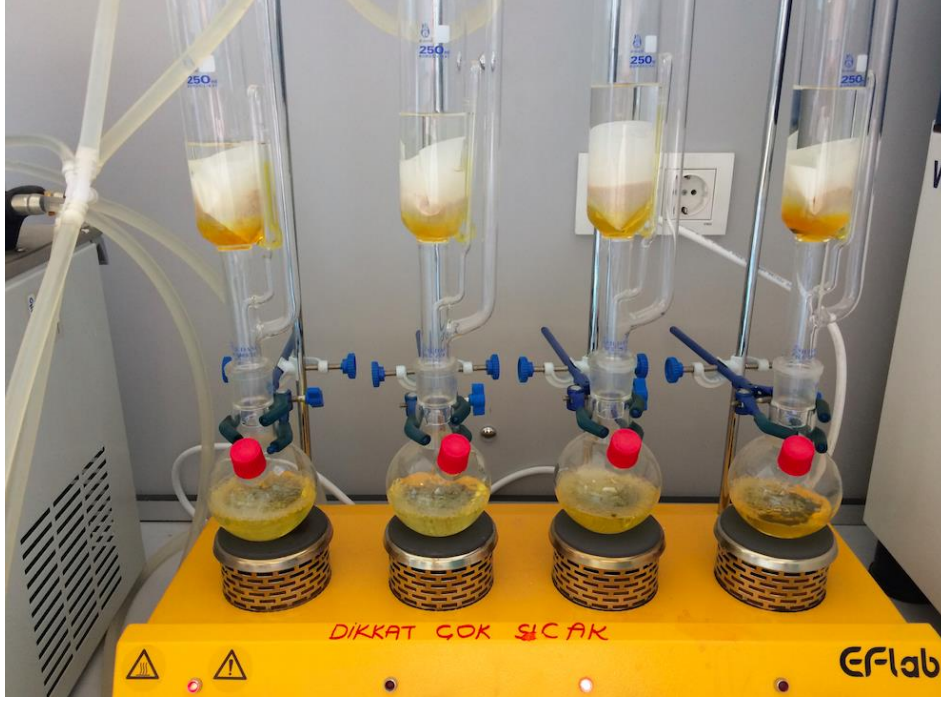
4.1. Soksalet Ekstraksiyonu Çalışmaları

4.1.1. Materyal

Tez çalışmasında, sıkıldıktan sonra geriye kalan atık olarak tanımlanan posalı portakal kabukları kullanılmıştır. Kabuklar Ankara Büyük Şehir Belediyesi meyve suyu satış duraklarından (Belso) toplanmıştır. Kabukların bir kısmı hiç bir ön işlem yapılmadan elle küçük parçalara bölünerek bekletilmeden -18°C 'da donmuş olarak kullanılmak üzere ayrılmış; bir kısmının iç zar kısmı çıkartılarak (posasız dış kabuk); bir kısmı ise alındığı hali ile güneş görmeyen ortamda açık havada kurumaya bırakılmıştır (posalı kabuk). Kurutulan kabukların öğütücü yardımı ile boyutları küçültülmüştür. Küçük parçalar haline getirilmiş tanecikler elek analiziyle istenilen boyutlara ayrılmış ve kullanılıncaya kadar karanlık ortamda hava almayacak şekilde saklanmıştır.

4.1.2. Deney Sistemi

Ekstraksiyon deneyleri dörtlü soksalet ekstraktörü ve çözücünün yoğuşmasını sağlayan ekstraktöre bağlı soğutmalı bir su sirkülatörü geri soğutucu ile gerçekleştirilmiştir. Deney düzeneği Şekil 4.1.'de görülmektedir.



Şekil 4.1. Deneysel Çalışmalarda Kullanılan Soksalet Ekstraktörü

Deneyler için çalışılan parametrelere göre (Çizelge 4.1.) uygun miktarda çözücü en alttaki balon jojeye eklenir. Üstteki cam hazneye çalışılacak türdeki belli miktardaki portakal kabuğu Iso Lab marka yavaş akış 125 mm gözenek çapındaki filtre kağıdının içine yerleştirilir. Çözücü ısıtıcısının ve geri soğutucunun çalıştırılmasıyla ekstraksiyon süreci başlatılır. Her bir sifon tamamlandıktan sonra sistem durdurulmadan her bir balon jojeye açılmış kapaklı örnek deliğinden otomatik pipetle 5 ml örnek alınır. Bu işlem yaklaşık 6 saat devam eder. Ekstraksiyon çalışmalarında % 97'lik Etanol (C_2H_5OH) ve saf su kullanılmıştır. Ekstraksiyon deneyleri Çizelge 4.1.'de gösterildiği şekilde planlanmıştır.

Çizelge 4.1. Ekstraksiyon Sürecinde Çalışılan Parametreler

Parametre	Çalışılan Değerler
Tanecik Boyut Aralığı (mm)	<0.500 0.500-1.19 1.190-1.410 1.410-3.360
Ön işlem	Şişirme
Sıvı/Katı Oranı (L/kg)	40:1 20:1 13.3:1 10:1
Portakal Kabuk Türü	Posalı Kabuk (PPK) Kurutulmuş Posalı Kabuk (KPPK) Dondurulmuş Posalı Kabuk (DPPK) Kurutulmuş Posasız Dış Kabuk (KPDPK)
Çözücü Türü/Çalışma Sıcaklığı	Etanol/79°C Saf su/100°C

Deneysel çalışmalarda ürün toz pigment karışımının elde edilmesi de hedeflenmiştir. Bu amaçla ekstraksiyon sonucunda elde edilen ve çözücü içinde çözülmüş halde bulunan turuncu renkli özüt, Heidolph marka Hei-VAP Precision model döner buharlaştırıcıda (Şekil 4.2.) çözücünün uzaklaştırılmasıyla yarı akışkan hale getirilmiş ve karanlık ortamda kurumaya bırakılarak toz pigment elde edilmiştir.

Döner buharlaştırıcıda ayrıca özütten ayrılan ve ardından geri soğutucu ile tekrar toplanan etanol de ekstraksiyon deneylerinde tekrar tekrar kullanılmıştır. Böylelikle deneysel çalışmalardaki etanol çözücüsünün tüketimi de oldukça azaltılmıştır.



Şekil 4.2. Deneysel Çalışmalarda Toz Pigment Eldesinde Kullanılan Döner Buharlaştırıcı

4.1.4. Analiz Yöntemleri

4.1.4.1. Pigment Derişimi Tayini

Her sifon sonunda (saat başına) alınan örneğin fenolik pigment içeriği 325 nm'de, karoten pigment içeriği ise 455 nm'de, referans olarak deneydeki saf çözücü kullanılarak, Thermo Scientific Genesys 10 UV marka ve model spektrofotometrede absorbans değerleri okunarak ve EK-2 ve EK-3'de verilen ve her bir çözücü için hazırlanmış çalışma doğrularından yararlanılarak belirlenmiştir.

Fenolik pigmentlerin spektrofotometrik tayini için, ekstraksiyonu sonrası döner buharlaştırıcı kullanılarak çözücünün uzaklaştırılmasıyla elde edilen toz pigmentten farklı çözücülerle hazırlanan çalışma doğruları kullanılmıştır. Fenolik pigmentlerin tayininde 325 nm'nin kullanılması, bu pigmentler için görünür bölgedeki optimum dalga boyunun 325 nm'de gözlenmesinden ve optimum dalga boyunun çözücü türüne göre değişmemesinden dolayıdır.

Karoten pigmentlerin spektrofotometrik tayini için ise Sigma Aldrich firmasından temin edilen C9750 kodlu sentetik toz β -Karotenden farklı çözücülerle hazırlanan çalışma doğruları kullanılmıştır. Karoten pigmentlerin tayininde β -Karotenin optimum dalga boyu olan 455 nm seçilmiştir.

4.1.4.2. FTIR ve TGA Analizleri

Ekstraksiyon deneylerinden elde edilen bazı örnekler, Thermo Scientific Nicolet 6700 Smart iTR FTIR cihazı ile analiz edilerek, elde edilen özütün yapısal analizi, özütün zamana bağlı olarak bozunup bozunmadığı, toz ve yarı akışkan formdaki pigmentlerin yapılarında fark olup olmadığı, farklı kabuk türlerinden elde edilen özütlerin yapılarında değişiklik olup olmadığı yönlerinden araştırılmıştır (EK-9).

SETEGRAM TG/DTA 6300 marka ve model TGA cihazı kullanılarak yapılan analiz ile portakal kabuğunun yapısında çalışılan ekstraksiyon sıcaklıklarında bir bozunma olup olmadığı tespit edilmiştir (EK-7).

4.2. Mikroorganizma Çalışmaları

4.2.1. Mikrobiyal Üremede Kullanılan Mikroorganizma ve Üreme Koşulları

Tez çalışmasının bu kısmında yapay ve atık portakal kabuğundan hazırlanan doğal besin ortamlarında üretilen ve Ankara Üniversitesi Biyoloji Bölümü'nden temin edilen İPRAŞ Rafinerisi atıksuyundan izole edilmiş *Rhodotorula glutinis* mayası ile β -Karoten üretimi araştırılmıştır.

4.2.1.1. Yapay Besin Ortamında *R. glutinis*'in Üretim Çalışmaları

Mikroorganizmanın ilk önce Çizelge 4.1.'de verilen besin ortamı bileşenleri ve miktarları kullanılarak, pH'ı 5.5 de hazırlanan steril besin ortamına ekimi gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla 150 ml besin ortamı içeren ve ağızları gazlı bez ve pamukla hazırlanmış ve alüminyum folyoya sarılmış kapaklarla kapatılmış erlenler kullanılmıştır. Bu erlenler 121°C'de -1 atm vakum altında 20 dk boyunca otoklavlanarak sterilleştirilmiştir. Ekilmiş erlenler 29°C ve 120 rpm çalkalama hızında çalışan Medline SI-600R marka ve model inkübatörlere konularak 10 gün boyunca inkübasyona bırakılmıştır.

Çizelge 4.2. *R. glutinis*'in Üretilmesi için Kullanılan Yapay Besin Ortamı Bileşenleri

Bileşen	Derişim (g/L)
Glukoz	10
Malt Özütü	3
Pepton	5
Yeast	3

4.2.1.2. Atık Portakal Kabuğundan Hazırlanan Doğal Besin Ortamında *R. glutinis*'in Üretim Çalışmaları

Atık portakal kabuğundan doğal besin ortamı hazırlanması amacı ile belirli miktarlarda yaş ya da kurutulmuş portakal kabukları küçük parçalar haline getirilerek, kaynamış saf su ile karıştırılmış ve otoklavlanmıştır. Vakum altında yüksek sıcaklığa maruz kalan kabuklardan ayrılan ve içinde kabuğun çözülmüş organik bileşenlerini de içeren sulu kısım, erlenlere 150 ml hacminde olacak şekilde alınmış ve tekrardan otoklavlanarak sterilizasyon işlemi gerçekleştirilmiş ve ekime hazır hale getirilmiştir (Şekil 4.3.).



Şekil 4.3. Atık Portakal Kabuğundan Hazırlanan ve Ekime Hazır Haldeki Doğal Besin Ortamları

Ekim yapılmış ortamlar 14 gün boyunca inkübasyona tabi tutulmuştur. Şekil 4.4.'te bu ortamda üreyen *R. glutinis* mayası gösterilmiştir.



Şekil 4.4. Atık Portakal Kabuğundan Hazırlanan Besin Ortamında Üremiş Olan *R. glutinis* Mayası

4.2.2. Deney Sistemi

Deneysel çalışmalar kesikli olarak 150 ml steril yapay ya da portakal kabuğundan hazırlanmış doğal besin ortamı içeren 250 ml'lik erlenlerde çalkalama hızı ve sıcaklığı kontrol edilebilen inkübatörde yapılmıştır. Deneysel daha önceden deney besin ortamı ile aynı olan besin ortamına alıştıırılarak üretilmiş *R. glutinis* çözeltilisinden 5 ml aşının (besin ortamı hacminin % 3.5'i) deney besin ortamına ilave edilmesiyle başlatılmıştır.

Yapay besin ortamı deneylerinde, 2.5-20 g/L arasında değişen başlangıç glukoz derişimlerinde çalışılarak, başlangıç substrat derişiminin mikrobiyal üremeye ve β -Karoten üretimine etkileri araştırılmıştır.

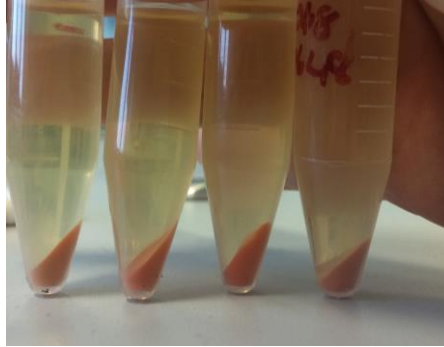
Portakal kabuğundan elde edilen doğal besin ortamı deneylerinde ise Çizelge 4.2.'de verilen parametrelerin ve çalışılan değerlerin mikrobiyal üremeye ve β -Karoten üretimine etkileri araştırılmıştır.

Çizelge 4.3.Portakal Kabuğundan Hazırlanan Doğal Besin Ortamlarında Mikrobiyal Üreme ve Mikroorganizmanın β -Karoten Üretiminde Araştırılan Parametreler

Parametre	Çalışılan Değerler
Tanecik boyut aralığı (mm)	püre <0.5 1.41-3.36
Katı/Sıvı oranı (g/L) (Şeker Derişimi (g/L))	8.33:1 (3.7) 16.6:1 (7.9) 33.2:1 (12.1) 66.6:1 (27.5) 100.0:1 (43.5) 133.3:1 (53.6)
Kabuk türü	Kuru Posalı kabuk Yaş Posalı kabuk
Başlangıç pH'ı	4 5 6 7

4.2.2. Analiz Yöntemleri

Yapay ve portakal kabuğundan hazırlanan doğal besin ortamlarında *R. glutinis* mayasının üremesi ve β -Karoten üretmesi sürecinde fermentasyon ortamından belirli zaman aralıklarında steril olarak alınan 5 ml'lik örneklerden mikroorganizma tayini, yapay ve doğal besin ortamlarında sırasıyla karbon kaynağı olarak kullanılan glukozun ve portakal kabuğundan gelen şekerlerin toplam derişimini veren toplam indirgen şeker tayini ve β -Karoten tayini Thermo Scientific Genesys 10 UV spektrofotometrede yapılmıştır. Alınan örnekten mikroorganizma derişimi tayini örnekten ya doğrudan ya da örneğin bir kısmının ve referans olarak kullanılan sterillenmiş ve ekim yapılmamış aynı deney koşullarındaki besin ortamının aynı oranda saf su ile seyreltilmesiyle gerçekleştirilmiştir. Daha sonra alınan örnek 5000 rpm'de 5 dakika MPW-251 marka ve model santrifüjde santrifüjlenmiş ve sıvı kısım ayrılarak ve uygun oranda seyreltilerek toplam indirgen şeker tayini yapılmıştır. β -Karoten analizi için ise santrifüjden sonra dipte kalan mikroorganizma kütlesi kullanılmıştır (Şekil 4.5.). Tez çalışması kapsamında mikrobiyal olarak üretilen ve ekstraksiyondan elde edilen toplam karoten pigmentinin karşılaştırılabilmesi için hem ekstraksiyon ile elde edilen, hem de mikrobiyal yolla ile üretilen karoten pigmentlerin hepsi β -Karoten olarak kabul edilmiştir.



Şekil 4.5. Santrifüj Sonucunda Besin Ortamından Ayrılan ve β -Karoten Pigmentini İçeren Maya Hücreleri

4.2.2.1. Mikroorganizma Derişimi Tayini

Mikroorganizma tayini öncelikle örnekten ya doğrudan ya da örneğin bir kısmının ve referansın aynı oranda saf su ile seyreltilmesiyle mayanın optimum dalga boyu olan 600 nm'de spektrofotometrik olarak gerçekleştirilmiştir. Okunan absorbans değeri EK-4.2'de verilen absorbansa karşı yaş mikroorganizma derişimi çalışma

doğrusundan g yaş mikroorganizma/L cinsinden bulunmuştur. Daha sonra yaş ağırlık-kuru ağırlık mikroorganizma çalışma doğrusundan (EK-4.1) yararlanılarak g kuru mikroorganizma/L derişimine geçilmiştir.

4.2.2.2. Toplam İndirgen Şeker Derişimi Tayini

Hazırlanan örnekteki toplam indirgen şeker derişimi g/L cinsinden şekerlerin DNS çözeltisiyle verdiği sarı renkli kompleks yardımıyla spektrofotometrik olarak 575 nm'de absorbans okunarak tayin edilmiştir [101] (EK-6).

4.2.2.3. β -Karoten Derişimi Tayini

Hücre içi bir ürün olan β -Karotenin hücre dışına alınmasını sağlamak amacı ile örneğin santrifüjlenmesiyle dipte kalan biyokütle 1 damla % 37'lik HCl ile 30 sn boyunca vortekslenmiştir. Daha sonra bu kütle, örneğin yarı hacminde (2.5ml) %80'lik aseton ile karıştırılarak 24 saat boyunca karanlıkta bekletilmiş ve β -Karotenin asetona özütlenmesi sağlanmıştır. Bu sürenin sonunda elde edilen karışım tekrardan santrüjlenerek sıvı faz ayrılmış ve sonuçta aseton faza geçen β -Karoten 455 nm'de referans aseton kullanılarak spektrofotometrik olarak tayin edilmiştir (EK-5).

4.2.2.4. Kurutulmuş Posalı Portakal Kabuğunun ve Bundan Hazırlanan Doğal Besin Ortamının İnorganik Madde Tayini

Kurutulmuş posalı portakal kabuğu ve bundan hazırlanan doğal besin ortamının inorganik madde içeriğinin tayini Ulusal Referans Laboratuvarında bulunan Agilent 7500-CX marka ve model ICP-MS cihazı ile yapılmıştır (EK-8).

5. DENEYSEL SONUÇLAR

Tez çalışmasının ilk kısmı narenciye grubundan olan portakal meyvesinin atık kabuklarından ekstraksiyon yöntemiyle gıda sektöründe katkı maddesi olarak kullanılması düşünülen fenolik ve karoten pigmentlerin üretimini kapsamaktadır. Deneysel çalışmalarda pigment ekstraksiyonunun hız ve verimine kabuk türünün, tanecik boyut aralığının, sıvı/katı oranının, çözücü türünün ve ekstraksiyon öncesinde kabuğa uygulanan ön işlemin etkileri incelenmiş ve ekstraksiyonun ikinci dereeden kinetik modellemesi yapılarak kinetik sabitler bulunmuştur. Deneysel sonuçlar herhangi bir zamanda birim çözücü hacmi başına ekstrakte edilen fenolik veya karoten pigment miktarı (C_f , g/L; C_k , mg/L), herhangi bir zamanda birim kuru kabuk kütlesi başına ekstrakte edilen fenolik veya karoten pigment miktarı (q_f , g/g; q_k , mg/g), ekstraksiyonun bitiminde kararlı durumda birim çözücü hacmi başına ekstrakte edilen fenolik veya karoten pigment miktarı (C_{mf} , g/L; C_{mk} , mg/L), ekstraksiyonun bitiminde kararlı durumda birim kuru kabuk kütlesi başına ekstrakte edilen fenolik veya karoten pigment miktarı (q_{mf} , g/g; q_{mk} , mg/g) ve pigment verimi cinsinden verilmiştir.

Çalışmaların ikinci kısmı ise ekstraksiyon ile elde edilen karotenoid cinsi pigmentlerin hem yapay hem de kurutulmuş ve yaş posalı portakal kabuğundan elde edilen doğal besin ortamlarında mikrobiyal yolla üretilen pigmentlerle hız ve verim açısından karşılaştırılabilmesi için *R. glutinis* mayasından β -Karoten üretimini içermektedir. Atık portakal kabuğundan ilk defa yeni bir doğal besin ortamı hazırlanarak *R. glutinis*'in üremesi ve β -Karoten üretimi gerçekleştirilmiştir. Yapay besin ortamında başlangıç glukoz derişiminin; kuru portakal posasından hazırlanan doğal besin ortamında ise başlangıç pH'ının, katı/sıvı oranının (toplam indirgen şeker derişiminin) ve kabuk türünün mikroorganizmanın üreme hızına ve β -Karoten üretim hız ve verimine etkileri araştırılmıştır. Yapay ve doğal besin ortamlarında *R. glutinis*'e ait kinetik sabitler Monod Eşitliğinden bulunmuş, ayrıca doğal besin ortamında mikroorganizmanın üremesine aşırı substrat derişiminin neden olduğu inhibisyon da modellenerek inhibisyon sabiti de hesaplanmıştır. Deneysel sonuçlar mikrobiyal üremenin herhangi bir zamanındaki kuru mikroorganizma derişimi (X , g kuru mo/L), substrat derişimi (S , g substrat/L), pigment derişimi (P , mg β -Karoten/L); üstel üreme evresinin sonunda elde edilen en yüksek kurutulmuş mikroorganizma derişimi (X_m , g kuru mo/L), en yüksek pigment derişimi (P_m , mg β -Karoten/L); *R.*

*glutinis*in özgül üreme hızı (μ , sa^{-1}), mikroorganizmanın β -Karoten üretim hızı (v , $\text{mg } \beta\text{-Karoten/g kuru mo. sa}$), substrat (toplam indirgen şeker) tüketim hızı (η , $\text{g substrat/g kuru mo. sa}$), birim kuru mikroorganizma kütlesi başına elde edilen pigment miktarı ($Y_{P/X}$, $\text{mg pigment/g kuru mo}$), birim substrat kütlesi başına elde edilen pigment miktarı ($Y_{P/S}$, $\text{mg pigment/g substrat}$) ve birim kuru kabuk başına elde edilen pigment miktarı ($Y_{P/M}$, $\text{mg pigment/g kuru kabuk}$) cinslerinden verilmiştir.

5.1. Atık Portakal Kabuğu ile Ekstraksiyon Çalışmaları

Ekstraksiyon çalışmalarında atık portakal kabukları, posalı kabuk (PPK)'un

- Kurutulmuş posalı kabuk (KPPK)
- Dondurulmuş posalı kabuk (DPPK)

şeklinde; posasız dış kabuk (PDPK)'un ise

- Kurutulmuş posasız dış kabuk (KPDPK)

şeklinde hazırlanmasıyla kullanılmıştır.

5.1.1. Posalı Portakal Kabuğu ile Yapılan Çalışmalar

PPK çalışmaları KPPK ve DPPK olmak üzere iki kabuk türü ile gerçekleştirilmiştir.

5.1.1.1. Kurutulmuş Posalı Portakal Kabuğu (KPPK) Çalışmaları

5.1.1.1.1. Tanecik Boyutunun Etkisi

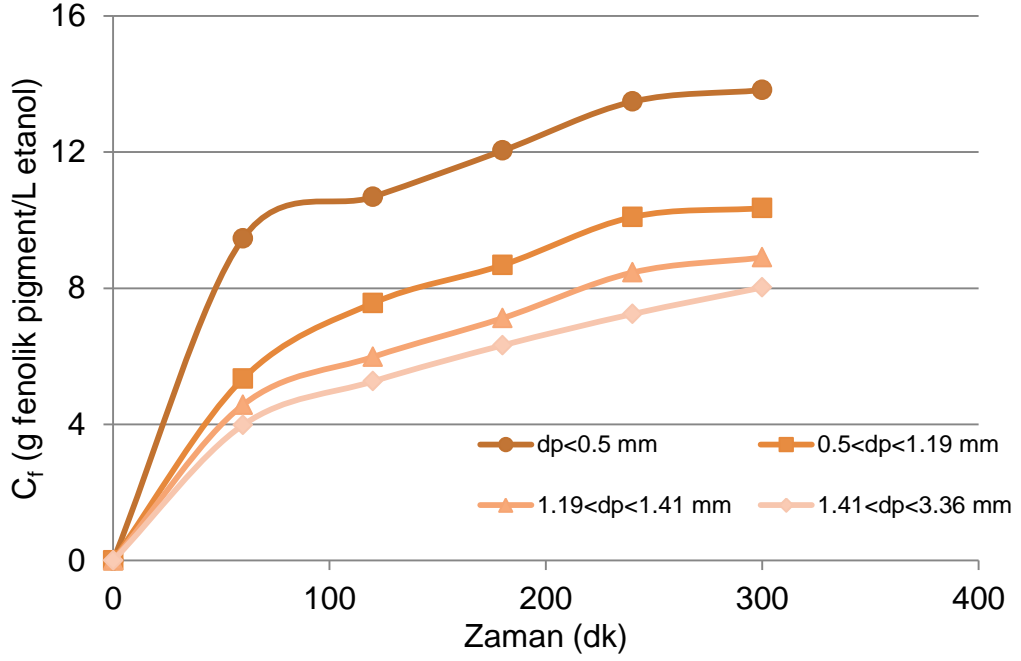
% 97'lik etanol çözücüsü ile 79°C 'da 40:1 L/kg S/K oranında yapılan KPPK'dan fenolik pigment ve karoten pigment ekstraksiyonu çalışmalarında, tanecik boyut aralığının ekstraksiyon kinetiği ve verimi üzerine etkileri araştırılmış ve elde edilen sonuçlar aşağıda sunulmuştur.

Fenolik Pigment Ekstraksiyonu Sonuçları

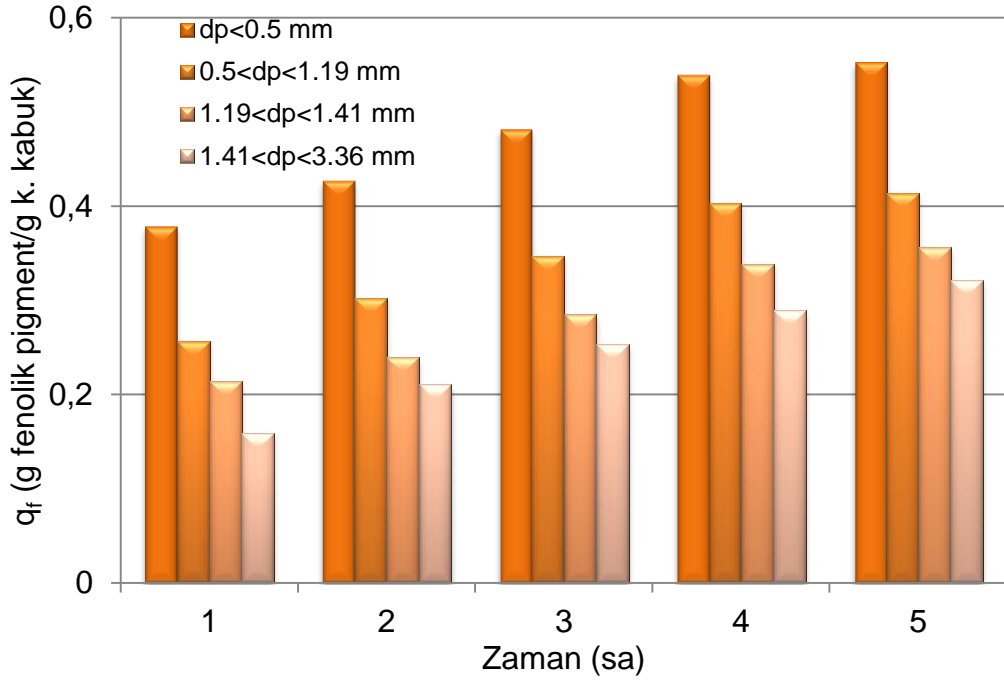
Çözücüye geçen fenolik pigment derişiminin tanecik boyutuna bağlı olarak zamanla değişim eğrileri Şekil 5.1.'de, birim kuru kabuk kütlesi başına özütlenen fenolik pigment miktarının zamanla değişimi ise sütun grafiklerle Şekil 5.2.'de verilmiştir. Her iki şekilden de tanecik boyutu küçüldükçe, yüzey alanının artmasıyla ve çözücünün tanecik yüzeyine daha rahat ulaşmasıyla çözücüye geçen fenolik pigment derişiminin ve birim kuru kabuk kütlesi başına özütlenen fenolik pigment miktarının arttığı, küçük taneciklerle birinci saatin sonunda ekstraksiyonun büyük

kısının tamamlandığı gözlenmektedir. Birinci saatin sonunda 0.5 mm'den küçük taneciklerden fenolik pigment ekstraksiyonunda özütlemenin % 68.5'inin, 1.41-3.36 mm aralığındaki taneciklerden fenolik pigment ekstaksiyonunda ise özütlemenin ancak % 49.6'sının tamamlandığı görülmektedir. Yine her iki şekilden de tüm tanecik boyutlarında soksalet ekstraksiyonunun birinci saatinde çözücüye geçen ve birim kabuk başına özütlenen fenolik pigment miktarlarının küçük tanecik boyutlarında daha hızlı bir artış gösterdiği, ancak çalışılan tüm tanecik boyut aralıklarında ekstraksiyonun ilerleyen sürelerinde özütlemenin azalarak arttığı, 4-5 saatin sonunda ise kararlı hale ulaşarak özütlenen fenolik pigment derişiminin hemen hemen sabit kaldığı görülmektedir. Sonuç olarak 4-5 saatlik bir ekstraksiyon süresinin özütleme için yeterli olduğu söylenebilir. Şekil 5.1.'den çalışılan tüm tanecik boyut aralıklarında bir saatin sonunda gözlenen yüksek hız ve verimlilik değerleri, fenolik pigmentin kuru portakal kabuğu taneciklerinin yüzeyinde daha fazla olduğunu göstermektedir. İlerleyen sürelerde ise çözücünün taneciklerin içine doğru difüzlenererek tanecik içindeki pigmenti çözme ve pigmenti içeren çözücünün tekrar tanecik dışına difüzlenermesi basamaklarından dolayı daha düşük hız ve verim değerleri elde edilmiştir. Ayrıca karıştırma olmayan sistemde tanecik boyutu arttıkça hız ve verim değerlerinin önemli ölçüde azalması, çözücünün posalı kabuk yüzeyi ile temasının zorlaşmasının neden olduğu dış difüzyon dirençleri ile de açıklanabilir.

Farklı tanecik boyutlarında elde edilen kararlı durumda birim çözücü hacmi başına ekstrakte edilen fenolik pigment miktarları, kararlı durumda birim kuru kabuk kütlesi başına ekstrakte edilen fenolik pigment miktarları ve % fenolik pigment verimleri Çizelge 5.1.'de sunulmuştur. Çizelgeden tanecik boyutu azaldıkça özütlenen fenolik pigment derişiminin ve ekstraksiyon veriminin oldukça fazla arttığı, en düşük taneciklerde en yüksek değerlerin elde edildiği görülmektedir. 1.41-3.36 mm boyut aralığındaki taneciklerle çalışıldığında elde edilen özütlenen fenolik pigment derişimi ve fenolik pigment verimi sırasıyla 8.0 g/L ve % 32.1 iken, bu değerler 0.5 mm'den küçük taneciklerle çalışıldığında yaklaşık iki katı artarak 13.8 g/L ve % 55.3 değerlerine ulaşmıştır.



Şekil 5.1. KPPK'dan Fenolik Pigment Ekstraksiyonunda Tanecik Boyutunun Çözücüye Geçen Fenolik Pigment Derişimine Etkisi (Sıcaklık=79°C; S/K=40:1 L/kg; Çözücü=% 97'lik Etanol)



Şekil 5.2. KPPK'dan Fenolik Pigment Ekstraksiyonunda Tanecik Boyutunun Birim Kuru Kabuk Kütlesi Başına Özütlenen Fenolik Pigment Miktarına Etkisi (Sıcaklık=79°C; S/K=40:1 L/kg; Çözücü=% 97'lik Etanol)

Çizelge 5.1. KPPK'dan Fenolik Pigment Ekstraksiyonunda Farklı Tanecik Boyut Aralıklarında Elde Edilen Kararlı Durumda Birim Çözücü Hacmi Başına Ekstrakte Edilen Fenolik Pigment Miktarları (C_{mf}), Birim Kuru Kabuk Kütlesi Başına Ekstrakte Edilen Fenolik Pigment Miktarları (q_{mf}) ve % Fenolik Pigment Verimleri

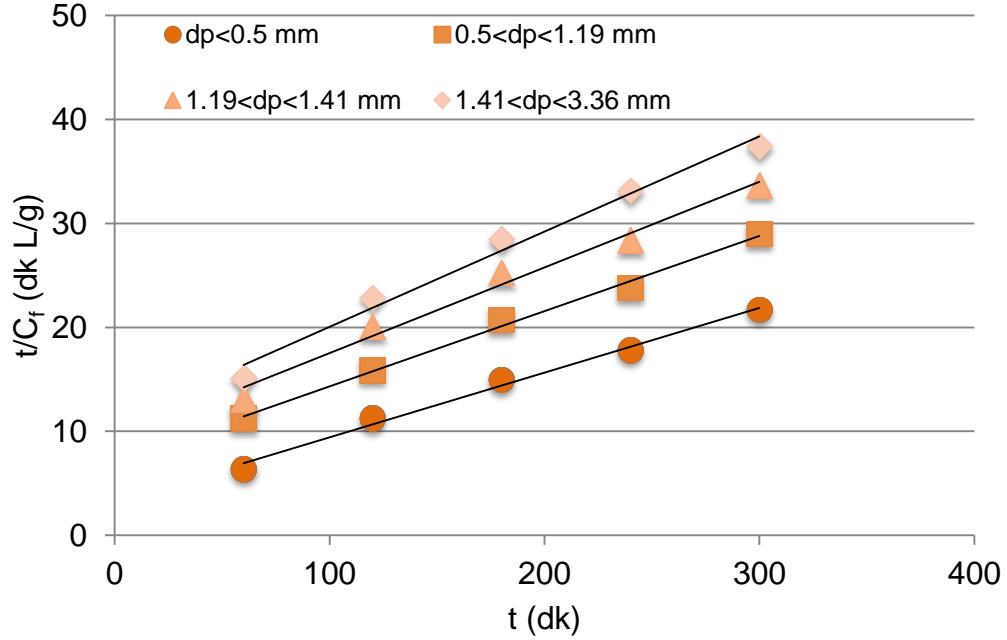
d_p (mm)	C_{mf} (g/L)	q_{mf} (g/g)	% Fenolik Pigment Verimi
<0.5	13.8	0.55	55.3
0.5-1.19	10.6	0.41	41.4
1.19-1.41	8.9	0.36	35.6
1.41-3.36	8.0	0.32	32.1

Fenolik Pigmentin Ekstraksiyon Kinetiği

Pek çok araştırmacı ekstraksiyon kinetiğinin ve mekanizmasının tanımlanması üzerine çalışmalar yapmaktadır. Bu çalışmalara göre katı-sıvı ekstraksiyonu iki temel aşamada gerçekleşmektedir. Bunlardan birinci ve hızlı olan basamak çözücünün katının yüzeyindeki özütü çözmektedir. Daha sonra ve yavaş gerçekleşen ve ekstraksiyonu kontrol eden basamaklar ise çözücünün katının içine difüzyonunu, buradaki özütü çözmesi ve özütün çözücüyle geri dışarı difüzyonudur [97, 102, 103]. Eşitlik 3.5.'te verilen ve tüm bu basamakları içeren ikinci derece ekstraksiyon kinetik modeli deneysel verilere uygulanarak modelin geçerliliği araştırılmış ve bulunan sonuçlar aşağıda sunulmuştur.

Çalışılan tüm tanecik boyut aralıklarında Eşitlik 3.5.'in doğrusallaştırılmasıyla elde edilen Eşitlik 3.8.'in uygulanması için t/C_f 'ye karşı t değerleri grafiğe alınarak elde edilen doğruların (Şekil 5.3.) eğim değerlerinden teorik ekstraksiyon dengesi durumunda çözücüye geçen fenolik pigment derişimi (C_{sf}) değerleri, doğruların grafiğin y eksenini kesim noktalarından ikinci derece ekstraksiyon sabiti (k_f) değerleri bulunmuş ve R^2 değerleri ile birlikte Çizelge 5.2.'de verilmiştir. Çizelgede ayrıca farklı tanecik boyutlarında Eşitlik 3.9.'dan hesaplanan başlangıç ekstraksiyon hız değerleri deneysel değerlerle birlikte sunulmuştur. Çizelgeden de görüldüğü ve beklendiği üzere, tüm kinetik parametreler tanecik boyutu ile ters orantılı olarak

değişmekte ve 0.5 mm'den küçük taneciklerle en yüksek başlangıç ekstraksiyon hızına, ekstraksiyon hız sabitine ve teorik dengede çözücüye geçecek olan fenolik pigment derişimine ulaşılmaktadır [97].

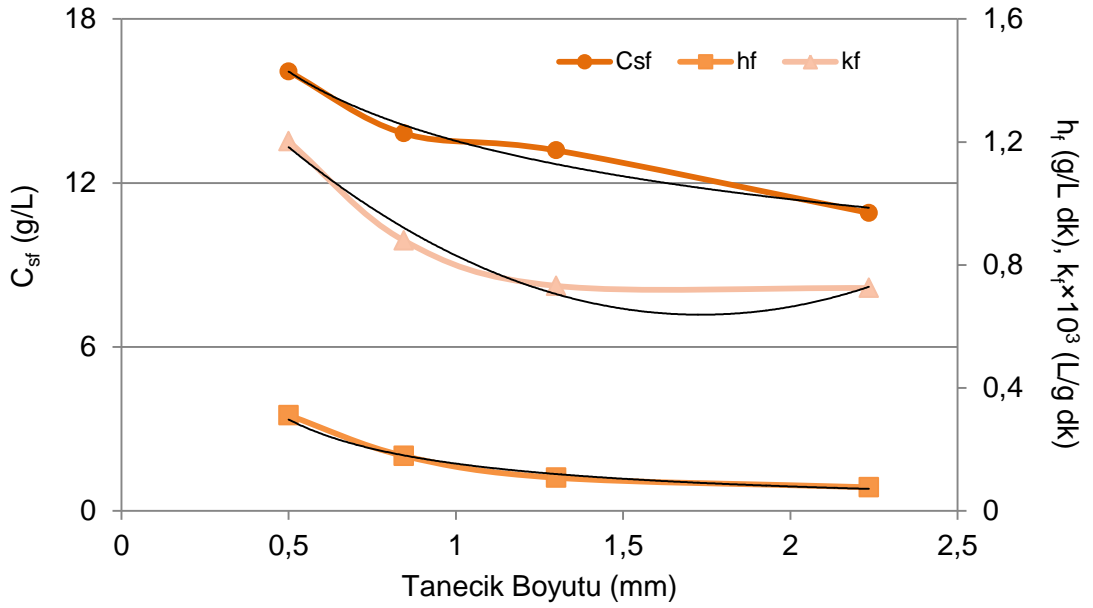


Şekil 5.3. KPPK'dan Fenolik Pigment Ekstraksiyonunda Farklı Tanecik Boyut Aralıklarında Elde Edilen İkinci Derece Kinetik Doğruları

Çizelge 5.2. KPPK'dan Fenolik Pigment Ekstraksiyonunda Farklı Tanecik Boyut Aralıklarında Elde Edilen İkinci Derece Kinetik Sabitler, Teorik ve Deneysel Başlangıç Hızları ve Teorik Dengede ve Deneysel Kararlı Durumlarda Birim Çözücü Hacmi Başına Ekstrakte Edilen Fenolik Pigment Miktarları

d_p (mm)	$k_f \times 10^3$ (L/g dk)	$h_{f,teo.}$ (g/L dk)	$h_{f,den.}$ (g/L dk)	C_{sf} (g/L)	C_{mf} (g/L)	R^2
<0.5	1.202	0.311	0.157	16.1	13.8	0.995
0.5-1.19	0.879	0.179	0.090	13.8	10.6	0.992
1.19-1.41	0.732	0.108	0.077	13.2	8.9	0.986
1.41-3.36	0.725	0.077	0.066	10.9	8.0	0.994

Çalışılan tanecik boyut aralığında çalışılmayan herhangi bir boyut aralığındaki kinetik sabitleri tahmin etmek amacı ile tanecik boyutu ile değişen C_{sf} , k_f ve h_f değerleri tanecik boyutuna karşı grafiğe alınarak Şekil 5.4.'te verilen eğriler elde edilmiştir. Bu eğrilerden Office Excel 2007 programı yardımıyla bulunan sırasıyla C_{sf} , k_f ve h_f , değişkenlerinin tanecik boyutuna (d_p) bağlı olarak uydukları üssel, polinomial ve üssel fonksiyonlar Eşitlik 5.1., 5.2. ve 5.3.'te R^2 değerleri ile birlikte verilmiştir.



Şekil 5.4. KPPK'ya Fenolik Pigment Ekstraksiyonunda Elde Edilen Denge Fenolik Pigment Derişimi(C_{sf})'nin, Ekstraksiyon Hız Sabiti(k_f)'nin ve Başlangıç Ekstraksiyon Hızı(h_f)'nin Tanecik Boyutuyla Değişim Eğrileri

$$C_{sf} = 13.54d_p^{-0.248} \quad R^2 = 0.970 \quad (5.1.)$$

$$k_f = 0.359 \times 10^{-3}d_p^2 - 1.243 \times 10^{-3}d_p + 1.715 \times 10^{-3} \quad R^2 = 0.981 \quad (5.2.)$$

$$h_f = 0.154d_p^{-0.95} \quad R^2 = 0.984 \quad (5.3.)$$

Çalışılmayan herhangi bir tanecik boyut aralığında herhangi bir zamanda çözücüye geçen fenolik pigment derişimini tahmin etmek için ise Eşitlik 3.10.'da yer alan h_f ve C_{sf} 'in d_p 'ye bağlı fonksiyonları eşitliğe yerleştirilerek Eşitlik 5.4. elde edilmiştir.

$$C_f = \frac{t}{\frac{1}{(0.154d_p^{-0.95})} + \frac{t}{(13.54d_p^{-0.248})}} \quad (5.4.)$$

Eşitlik 5.4.'ün deneysel verileri sağlayıp sağlamadığını kontrol etmek amacıyla çalışılan tanecik boyut aralıklarının aritmetik ortalamaları ve deneysel t değerleri kullanılarak C_f değerleri hesaplanmıştır. Bulunan teorik $C_{f,teo}$ değerleri deneysel $C_{f,den}$ değerleri ile % hata değerleri verilerek Çizelge 5.3.'de karşılaştırılmıştır. % Hata değerleri ise Eşitlik 5.5.'ten hesaplanmıştır.

$$\%Hata = [(C_{f,deneysel} - C_{f,teorik}) / (C_{f,deneysel})] \times 100 \quad (5.5.)$$

Çizelge 5.3.'ten genel olarak ortalama tanecik boyutu arttıkça ortalama % hata değerlerinin % 3.4'ten % 6.9'a arttığı gözlenmiştir. Ancak ortalama % hata değerlerinin genelde oldukça düşük bulunması Eşitlik 5.4'ün herhangi bir tanecik boyutunda ve herhangi bir zamanda etanole özütlenen fenolik pigment derişiminin yaklaşık olarak doğru bulunmasında kullanılabileceğini göstermektedir.

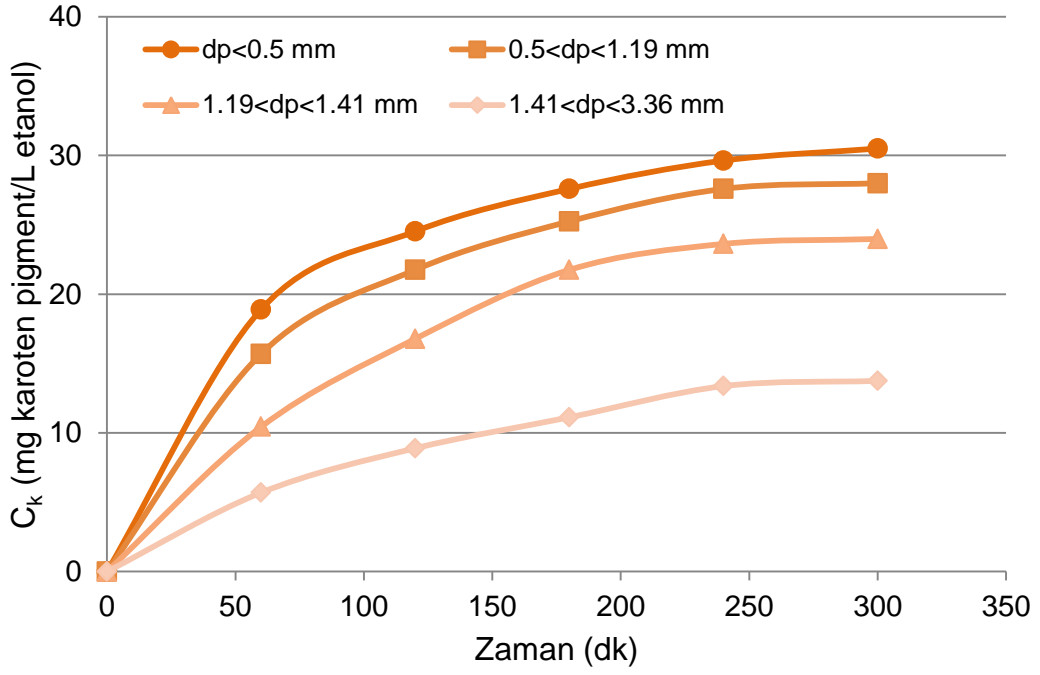
Çizelge 5.3. KPPK'dan Fenolik Pigment Ekstraksiyonunda Ortalama Tanecik Boyutunda Elde Edilen Deneysel C_f Değerlerinin Teorik C_f Değerleri ile % Hata Değerleri Verilerek Karşılaştırılması

$D_{p,ort}=0.5$ mm			
t(dk)	$C_{f,den}(g/L)$	$C_{f,teo}(g/L)$	%Hata
60	9.12	8.43	7.56
120	10.68	11.04	3.36
180	12.04	12.30	2.15
240	13.48	13.05	3.29
300	13.48	13.55	0.49
Ortalama % Hata			3.37
$D_{p,ort}=0.845$ mm			
t(dk)	$C_{f,den}(g/L)$	$C_{f,teo}(g/L)$	%Hata
60	5.98	6.11	2.17
120	7.96	8.52	2.51
180	8.89	9.79	9.79
240	10.09	10.60	5.02
300	10.35	11.14	7.63
Ortalama % Hata			5.42
$D_{p,ort}=1.3$ mm			
t(dk)	$C_{f,den}(g/L)$	$C_{f,teo}(g/L)$	%Hata
60	4.57	4.98	9.12
120	6.16	6.72	9.09
180	7.52	7.96	5.85
240	8.46	8.76	3.54
300	8.90	9.33	4.80
Ortalama % Hata			6.47
$D_{p,ort}=2.235$ mm			
t(dk)	$C_{f,den}(g/L)$	$C_{f,teo}(g/L)$	%Hata
60	3.28	3.10	5.60
120	5.26	4.83	8.13
180	6.32	5.95	5.95
240	7.24	6.72	8.10
300	7.81	7.29	6.69
Ortalama % Hata			6.90

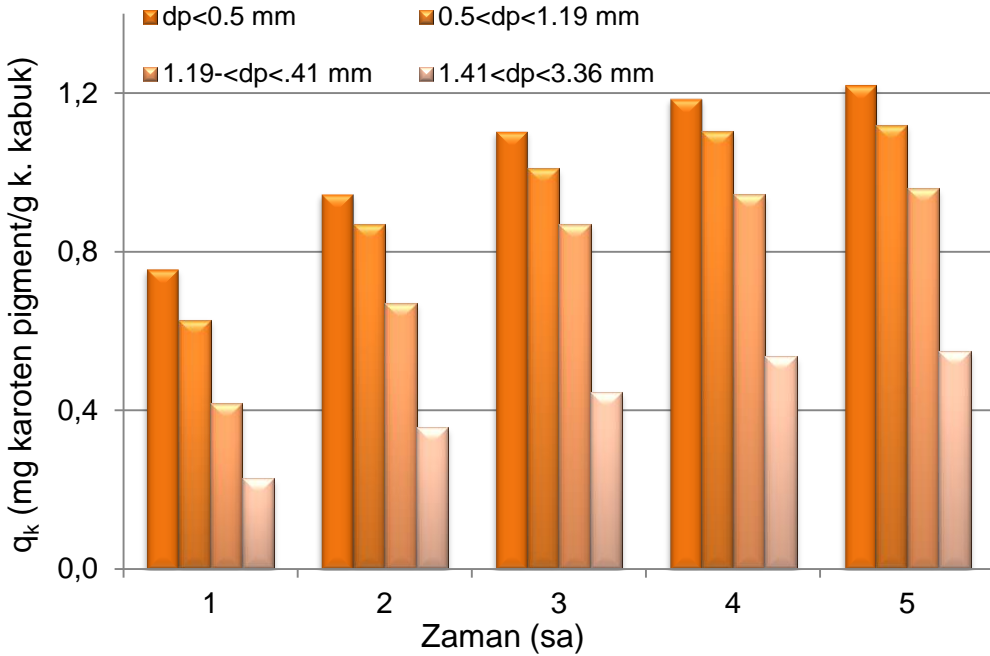
Karoten Pigment Ekstraksiyonu Sonuçları

KPPK'dan karoten pigment ekstraksiyonunda çözücüye geçen karoten pigment derişiminin tanecik boyutuna bağlı olarak zamanla değişim grafikleri Şekil 5.5.'te, birim kuru kabuk başına özütlenen karoten pigment miktarının zamanla değişimi ise sütun grafikler olarak Şekil 5.6.'da verilmiştir. Her iki şekilden de fenolik pigment ekstraksiyonuna benzer olarak tanecik boyutu küçüldükçe yüzey alanının artmasına bağlı olarak çözücüye geçen karoten pigment derişiminin ve birim kuru kabuk kütlesi başına özütlenen karoten pigment miktarının arttığı, tüm tanecik boyut aralıklarında soksalet ekstraksiyonunun birinci saatinde çözücüye geçen ve birim kabuk kütlesi başına özütlenen karoten pigment miktarlarının hızlı bir artış gösterdiği, ekstraksiyonun ilerleyen sürelerinde ise özütlemenin azalarak arttığı, dördüncü saatin sonunda ise kararlı hale ulaşarak özütlenen karoten pigment derişiminin hemen hemen sabit kaldığı görülmektedir. Sonuç olarak tüm tanecik boyutlarında başlangıç ekstraksiyon hızlarının yüksek olması karoten pigmentin yüzeyde daha fazla olduğunu ve dört saatlik bir ekstraksiyon süresinin karoten pigmentin özütlenmesinde kararlı hale gelmek için yeterli olduğu söylenebilir. Şekil 5.5.'ten küçük taneciklerle ekstraksiyonda başlangıç hızlarının ve ekstrakte edilen karoten pigment miktarlarının çok daha yüksek olduğu da gözlenmektedir. Bu durum tanecik çapı küçüldükçe kabuk yüzeyinde yer alan karoten pigment miktarının arttığını ve iç difüzyonun daha kısa sürede tamamlandığını göstermektedir. Büyük taneciklerle ise iç kısımlarda yer alan karoten pigmentin difüzyonunun daha uzun sürdüğü düşünölmektedir.

Farklı tanecik boyutlarında elde edilen kararlı durumda birim kuru kabuk kütlesi başına ekstrakte edilen karoten pigment miktarları, kararlı durumda birim çözücü hacmi başına ekstrakte edilen karoten pigment miktarları ve % karoten pigment verimleri Çizelge 5.4.'te sunulmuştur. Çizelgeden tanecik boyutu azaldıkça özütlenen karoten pigment derişiminin ve ekstraksiyon veriminin oldukça fazla arttığı görülmektedir. 1.41-3.36 mm boyut aralığındaki taneciklerle çalışıldığında elde edilen özütlenen karoten pigment derişimi ve karoten pigment verimi sırasıyla 11.8 mg/L ve % 0.047 iken, bu değerler 0.5 mm'den küçük taneciklerle çalışıldığında yaklaşık üç katı artarak 30.5 mg/L ve % 0.122 değerlerine ulaşmıştır.



Şekil 5.5. KPPK'dan Karoten Pigment Ekstraksiyonunda Tanecik Boyutunun Çözücüye Geçen Karoten Pigment Derişimine Etkisi (Sıcaklık=79°C; S/K=40:1 L/kg; Çözücü =% 97'lik Etanol)



Şekil 5.6. KPPK'dan Karoten Pigment Ekstraksiyonunda Tanecik Boyutunun Birim Kuru Kabuk Kütlesi Başına Özütlenen Karoten Pigment Miktarına Etkisi (Sıcaklık=79°C; SK=40:1 L/kg; Çözücü =% 97'lik Etanol)

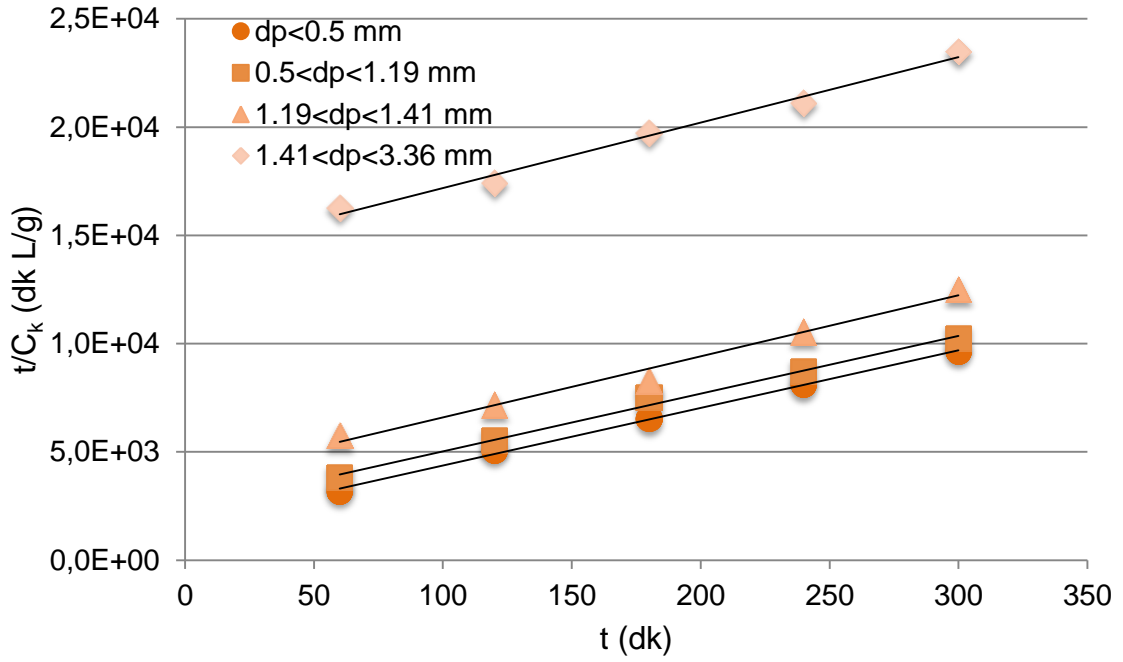
Çizelge 5.4. KPPK'dan Karoten Pigment Ekstraksiyonunda Farklı Tanecik Boyut Aralıklarında Elde Edilen Kararlı Durumda Birim Çözücü Hacmi Başına Ekstrakte Edilen Karoten Pigment Miktarları (C_{mk}), Birim Kuru Kabuk Kütlesi Başına Ekstrakte Edilen Karoten Pigment Miktarları (q_{mk}) ve % Karoten Pigment Verimleri

d_p (mm)	C_{mk} (mg/L)	q_{mk} (mg/g)	% Karoten Pigment Verimi
<0.5	30.5	1.22	0.122
0.5-1.19	28.0	1.12	0.112
1.19-1.41	24.0	0.96	0.096
1.41-3.36	11.8	0.47	0.047

Karoten Pigmentin Ekstraksiyon Kinetiği

KPPK'ya karoten pigment ekstraksiyonunda da Eşitlik 3.5.'te verilen ve tüm bu basamakları içeren ikinci derece ekstraksiyon kinetik modeli deneysel verilere uygulanarak modelin geçerliliği araştırılmış ve bulunan sonuçlar aşağıda sunulmuştur.

Çalışılan tüm tanecik boyut aralıklarında t/C_k 'ye karşı t değerleri grafiğe alınarak elde edilen doğruların (Şekil 5.7.) eğim değerlerinden teorik ekstraksiyon dengesi durumunda çözücüye geçen karoten pigment derişimi (C_{sk}) değerleri, doğruların grafiğin y eksenini kesim noktalarından ikinci derece ekstraksiyon sabiti (k_k) değerleri bulunmuş ve R^2 değerleri ile birlikte Çizelge 5.5.'te verilmiştir. Çizelgede ayrıca farklı tanecik boyut aralıklarında Eşitlik 3.9.'dan hesaplanan başlangıç ekstraksiyon hız değerleri deneysel değerlerle birlikte sunulmuş ve karşılaştırılmıştır. Çizelgeden de görüldüğü ve beklendiği üzere, tüm kinetik parametreler tanecik boyutu ile ters orantılı olarak değişmekte ve 0.5 mm'den küçük taneciklerle en yüksek başlangıç ekstraksiyon hızına, ekstraksiyon hız sabitine ve teorik dengede çözücüye geçecek olan karoten pigment derişimine ulaşılmıştır [97]. Çizelgeden özellikle büyük taneciklerden elde edilen teorik denge C_{sk} ve deneysel kararlı hal C_{mk} değerlerinin birbirinden çok farklı olması, büyük taneciklerle çalışıldığında ekstraksiyonun tamamlanması için dört saatlik sürenin yetmediğini göstermektedir.



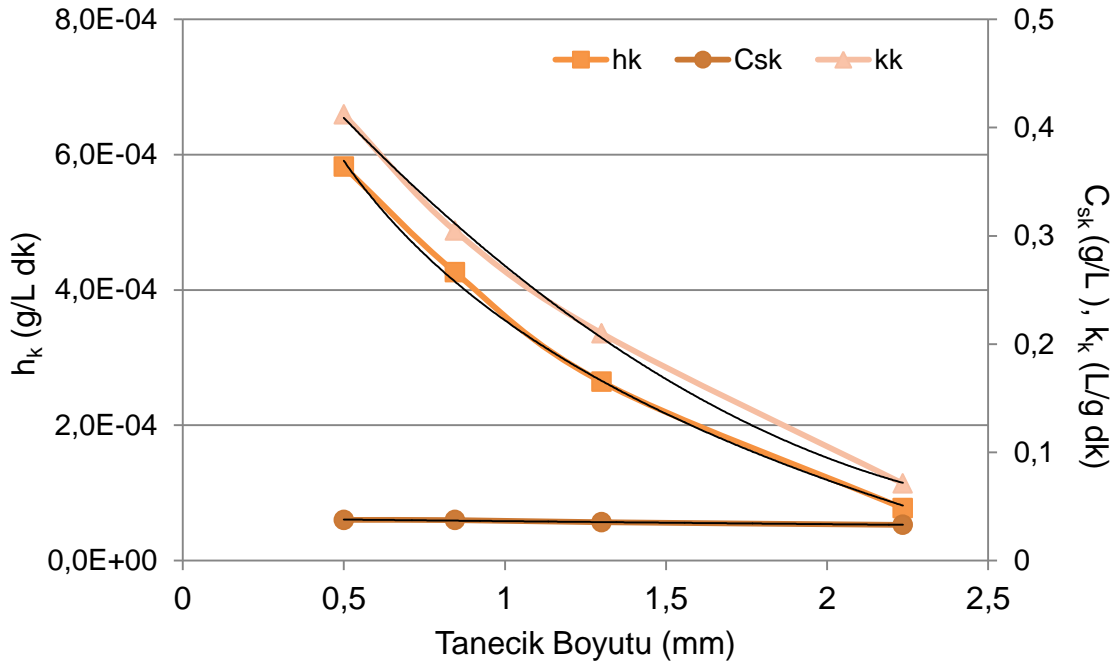
Şekil 5.7. KPPK'dan Karoten Pigment Ekstraksiyonunda Farklı Tanecik Boyut Aralıklarında Elde Edilen İkinci Derece Kinetik Doğruları

Çizelge 5.5. KPPK'dan Karoten Pigment Ekstraksiyonunda Farklı Tanecik Boyut Aralıklarında Elde Edilen İkinci Derece Kinetik Sabitler, Teorik ve Deneysel Başlangıç Hızları ve Teorik Denge ve Deneysel Kararlı Durumlarda Birim Çözücü Hacmi Başına Ekstrakte Edilen Karoten Pigment Miktarları

d_p (mm)	k_k (L/g dk)	$h_{k,teo.} \times 10^3$ (g/L dk)	$h_{k,den.} \times 10^3$ (g/L dk)	C_{sk} (g/L)	C_{mk} (g/L)	R^2
<0.5	0.412	0.582	0.315	0.038	0.031	0.998
0.5-1.19	0.305	0.426	0.261	0.037	0.028	0.983
1.19-1.41	0.210	0.264	0.173	0.035	0.024	0.994
1.41-3.36	0.071	0.077	0.062	0.033	0.012	0.988

Çalışılan tanecik boyut aralığında çalışılmayan herhangi bir boyut aralığındaki kinetik sabitleri tahmin etmek amacı ile tanecik boyutu ile değişen C_{sk} , k_k ve h_k değerleri tanecik boyutuna karşı grafiğe alınarak Şekil 5.8.'de verilen eğriler elde

edilmiştir. Bu eğrilerden Office Excel 2007 programı yardımıyla bulunan sırasıyla C_{sk} , k_k ve h_k , değişkenlerinin tanecik boyutuna (d_p) bağlı olarak uydukları üssel, polinomial ve eksponansiyel fonksiyonlar Eşitlik 5.6., 5.7. ve 5.8.'de R^2 değerleri ile verilmiştir.



Şekil 5.8. KPPK'dan Karoten Pigment Ekstraksiyonunda Denge Karoten Pigment Derişimi(C_{sk})'nin, Ekstraksiyon Hız Sabiti(k_k)'nin ve Başlangıç Ekstraksiyon Hızı(h_k)'nin Tanecik Boyutuyla Değişim Eğrileri

$$C_{sk} = 0.0395e^{-0.08d_p} \quad R^2 = 0.976 \quad (5.6.)$$

$$k_k = 0.0639d_p^2 - 0.369d_p + 0.5775 \quad R^2 = 0.998 \quad (5.7.)$$

$$h_k = -3 \times 10^{-4} \ln d_p + 4 \times 10^{-4} \quad R^2 = 0.998 \quad (5.8.)$$

Çalışılmayan herhangi bir tanecik boyut aralığında herhangi bir zamanda çözücüye geçen karoten pigment derişimini öngörmek için Eşitlik 3.10.'da yer alan h_k ve C_{sk} 'nin d_p 'ye bağlı fonksiyonları eşitliğe yerleştirilerek Eşitlik 5.9. elde edilir.

$$C_k = \frac{t}{\frac{1}{(-3 \times 10^{-4} \ln d_p + 4 \times 10^{-4})} + \frac{t}{0.0395e^{-0.08d_p}}} \quad (5.9.)$$

5.1.1.1.2. Sıvı/Katı Oranı (S/K) Etkisi

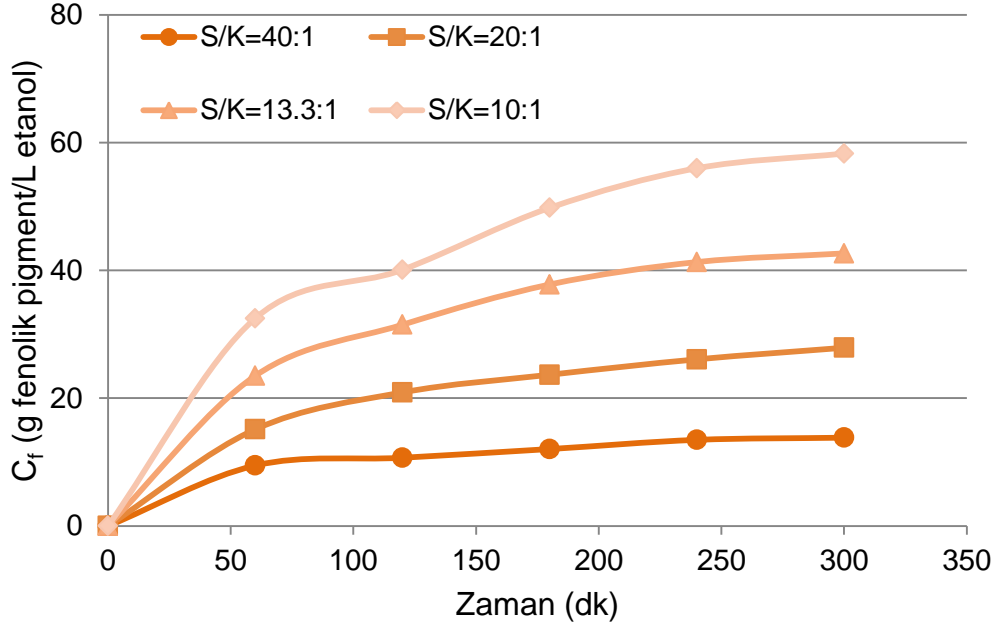
En küçük tanecik boyutundaki KPPK'dan fenolik ve karoten pigment ekstraksiyonu çalışmalarında 79°C'da 200 ml çözücü etanol ve 5,10,15 ve 20 g KPPK kullanılarak Sıvı/Katı oranı 40:1-10:1 L etanol/kg kuru kabuk aralığında değiştirilmiş ve S/K oranının ekstraksiyon kinetiği ve verimi üzerine etkileri araştırılarak elde edilen sonuçlar aşağıda sunulmuştur.

Fenolik Pigment Ekstraksiyonu Sonuçları

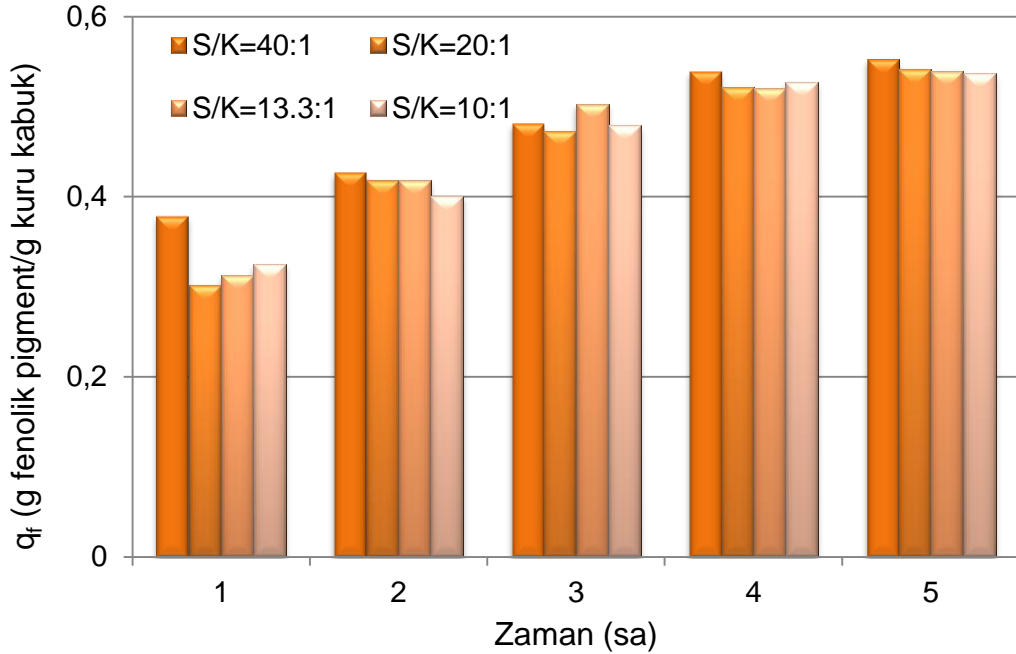
Çözücüye geçen fenolik pigment derişiminin S/K oranına bağılı olarak zamanla değişim eğrileri Şekil 5.9.'da, birim kuru kabuk kütlesi başına özütlenen fenolik pigment miktarının zamanla değişimi ise sütun grafiklerle Şekil 5.10.'da verilmiştir. Şekil 5.9.'dan S/K oranı azaldıkça (katı miktarı arttıkça), çözücüye geçen fenolik pigment derişiminin arttığı, ancak çözücünün katı ile etkileşiminin yeterli olmamasından dolayı kararlı durumun daha geç sürede oluştuğu görülmektedir. Büyük S/K oranlarında ise katının az olmasına bağılı olarak daha az miktarda fenolik pigment çözücüye geçmiştir ve katı ile sıvının oldukça iyi olan etkileşiminden dolayı daha kısa sürede dengeye ulaşılmıştır. Şekil 5.10.'dan sadece S/K=40:1 L/kg oranında katı-sıvı etkileşiminin oldukça iyi olması nedeniyle birinci saatin sonunda birim kuru kabuk kütlesi başına ekstrakte edilen fenolik pigment miktarının diğer S/K oranlarında elde edilenlerden 0.05 g/g fazla çıktığı, sonraki saatlerde tüm q_f değerleri için bu farkın ortadan kalktığı, kararlı durumda ise tüm q_f değerlerinin tüm S/K oranlarında hemen hemen eşitlendiği görülmektedir. Birinci saatin sonunda S/K=40:1 olduğunda fenolik pigment ekstraksiyonunda özütlemenin % 68.5'inin, S/K=10:1 olduğunda fenolik pigment ekstaksiyonunda ise özütlemenin ancak % 55.2'sinin tamamlandığı görülmektedir.

Farklı S/K oranlarında elde edilen % fenolik pigment verimleri, kararlı durumda birim kuru kabuk kütlesi başına ekstrakte edilen fenolik pigment miktarları (q_{mf}) ve birim çözücü hacmi başına ekstrakte edilen fenolik pigment miktarları (C_{mf}) Çizelge 5.6.'da sunulmuştur. Çizelgeden S/K oranının artmasıyla kuru portakal kabuğu kütlesi'nin azalmasına bağılı olarak çözücüye geçen fenolik pigment miktarının çok azaldığı, ancak kararlı durumda birim kuru kabuk kütlesi başına ekstrakte edilen fenolik pigment miktarıyla % fenolik pigment veriminin az da olsa arttığı gözlenmektedir. 40:1 S/K oranında çalışıldığında elde edilen özütlenen fenolik

pigment derişimi 13.8 g/L iken, S/K oranı 10:1'e düştüğünde bu değer 58.3 g/L'ye çıkmıştır, fenolik pigment verimi ise % 55.3'ten % 53.7'ye düşmüştür.



şekil 5.9. KPPK'dan Fenolik Pigment Ekstraksiyonunda S/K Oranının Çözücüye Geçen Fenolik Pigment Derişimine Etkisi ($d_p < 0.5\text{mm}$; Sıcaklık= 79°C ; Çözücü=% 97'lik Etanol)



şekil 5.10. KPPK'dan Fenolik Pigment Ekstraksiyonunda S/K Oranının Birim Kuru Kabuk Kütlesi Başına Özütlenen Fenolik Pigment Miktarına Etkisi ($d_p < 0.5\text{ mm}$; Sıcaklık= 79°C ; Çözücü =% 97'lik Etanol)

Çizelge 5.6. KPPK'dan Fenolik Pigment Ekstraksiyonunda Farklı S/K Oranlarında Elde Edilen, Kararlı Durumda Birim Çözücü Hacmi Başına Ekstrakte Edilen Fenolik Pigment Miktarları (C_{mf}), Birim Kuru Kabuk Kütlesi Başına Ekstrakte Edilen Fenolik Pigment Miktarları (q_{mf}) ve % Fenolik Pigment Verimleri

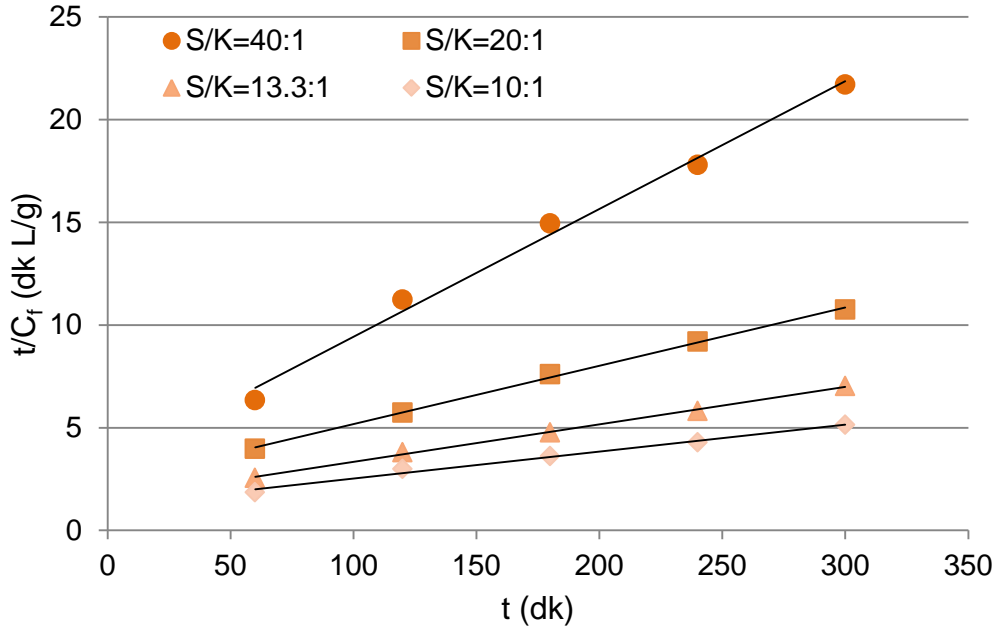
S/K Oranı (L/kg)	C_{mf} (g/L)	q_{mf} (g/g)	% Fenolik Pigment Verimi
10:1	58.3	0.537	53.69
13.3:1	42.7	0.539	53.90
20:1	27.9	0.544	54.42
40:1	13.8	0.553	55.28

Fenolik Pigmentin Ekstraksiyon Kinetiği

Eşitlik 3.5.'te verilen ve tüm bu basamakları içeren ikinci derece ekstraksiyon kinetik modeli deneysel verilere uygulanarak modelin geçerliliği araştırılmış ve bulunan sonuçlar aşağıda sunulmuştur.

Çalışılan tüm S/K oranlarında Eşitlik 3.5.'in doğrusallaştırılmasıyla elde edilen Eşitlik 3.8.'in uygulanması için t/C_f' ye karşı t değerleri grafiğe alınarak elde edilen doğruların (Şekil 5.11.) eğim değerlerinden teorik ekstraksiyon dengesi durumunda çözücüye geçen fenolik pigment derişimi (C_{sf}) değerleri, doğruların grafiğin y eksenini kesim noktalarından ikinci derece ekstraksiyon sabiti (k_f) değerleri bulunmuş ve R^2 değerleri ile birlikte Çizelge 5.7.'de verilmiştir. Çizelgede ayrıca farklı S/K oranlarında Eşitlik 3.9.'dan hesaplanan başlangıç ekstraksiyon hız değerleri deneysel değerlerle birlikte sunulmuştur. Çizelgeden görüldüğü gibi, başlangıç ekstraksiyon hızı ve ekstraksiyon dengesi durumunda çözücüye geçen fenolik pigment derişimi değerleri S/K oranı ile ters orantılı olarak değişmekte iken ikinci derece ekstraksiyon sabiti S/K oranı ile doğru orantılı olarak değişmektedir. S/K değeri 10:1 olduğunda en yüksek başlangıç ekstraksiyon hızına ve teorik dengede çözücüye geçecek olan fenolik pigment derişimine ulaşılırken, en düşük ekstraksiyon hız sabitine ulaşılmıştır. Bu durum aynı miktar çözücü içindeki en yüksek katı numune miktarının S/K=10:1'de olmasından kaynaklanmaktadır. S/K

oranının artmasıyla yüksek ekstraksiyon hız sabitlerine ulaşılması çözücü/katı oranının artmasının bir sonucu olarak ortaya çıkmakta olup deneysel sonuçlarla da uyum içindedir. Literatürde yapılan ve kinetik açıdan incelenen bir çok ekstraksiyon çalışmasının kinetik parametrelerinin S/K'ya bağlılığı açısından bulunan sonuçlar çalışmanın sonuçları ile uyum içindedir [97].

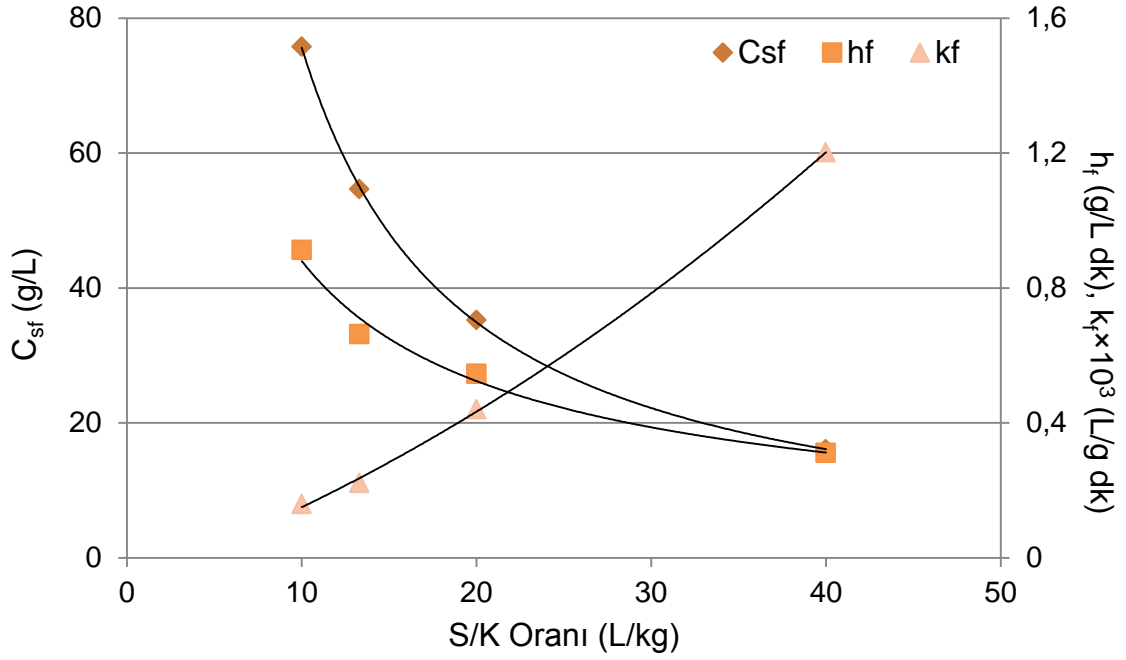


Şekil 5.11. KPPK'dan Fenolik Pigment Ekstraksiyonunda Farklı S/K Oranlarında Elde Edilen İkinci Derece Kinetik Doğruları

Çizelge 5.7. KPPK'dan Fenolik Pigment Ekstraksiyonunda Farklı S/K Oranlarında Elde Edilen İkinci Derece Kinetik Sabitler, Teorik ve Deneysel Başlangıç Hızları ve Teorik Dengede ve Deneysel Kararlı Durumlarda Birim Çözücü Hacmi Başına Ekstrakte Edilen Fenolik Pigment Miktarları

S/K Oranı (L/kg)	$k_f \times 10^3$ (L/g dk)	$h_{f,teo.}$ (g/L dk)	$h_{f,den.}$ (g/L dk)	C_{sf} (g/L)	C_{mf} (g/L)	R^2
10:1	0.159	0.912	0.541	75.8	58.3	0.988
13.3:1	0.222	0.663	0.391	54.7	42.7	0.997
20:1	0.344	0.426	0.252	35.2	27.9	0.998
40:1	1.202	0.311	0.157	16.1	13.8	0.992

Çalışılan S/K oranlarında çalışılmayan herhangi bir S/K oranındaki kinetik sabitleri öngörmek amacı ile S/K oranları ile değişen C_{sf} , k_f ve h_f değerleri S/K oranlarına karşı grafiğe alınarak Şekil 5.12.'de verilen eğriler elde edilmiştir. Bu eğrilerden Office Excel 2007 programı yardımıyla bulunan sırasıyla C_{sf} , k_f ve h_f değişkenlerinin S/K oranına (S/K) bağlı olarak uydukları üssel, üssel ve polinomial fonksiyonlar Eşitlik 5.10., 5.11. ve 5.12.'de R^2 değerleri ile verilmiştir.



Şekil 5.12. KPPK'ya Fenolik Pigment Ekstraksiyonunda Denge Fenolik Pigment Derişimi(C_{sf})'nin, Ekstraksiyon Hız Sabiti(k_f)'nin ve Başlangıç Ekstraksiyon Hızı(h_f)'nin S/K Oranıyla Değişim Eğrileri

$$C_{sf} = 985.94(S/K)^{-1,115} \quad R^2 = 0.999 \quad (5.10.)$$

$$k_f = 0.3 \times 10^{-3}(S/K)^2 + 0.18210^{-4}(S/K) - 0.0710^{-3} \quad R^2 = 0.999 \quad (5.11.)$$

$$h_f = 4.917(S/K)^{-0,747} \quad R^2 = 0.987 \quad (5.12.)$$

Çalışılmayan herhangi bir S/K oranında herhangi bir zamanda çözücüye geçen fenolik pigment derişimini tayin etmek için Eşitlik 3.10.'da yer alan h_f ve C_{sf} 'in S/K oranına bağlı fonksiyonları eşitliğe yerleştirilerek Eşitlik 5.13. elde edilir.

$$C_f = \frac{t}{\frac{1}{(4.917(S/K)^{-0,747})} + \frac{t}{(985.94(S/K)^{-1,115})}} \quad (5.13.)$$

Eşitlik 5.13.'ün deneysel verileri sağlayıp sağlamadığını kontrol etmek amacıyla çalışılan S/K oranlarının değerleri ve deneysel t değerleri kullanılarak C_f değerleri hesaplanmıştır. Bulunan teorik C_f değerleri deneysel C_f değerleri ile % hata değerleri verilerek Çizelge 5.8.'de karşılaştırılmıştır. % hata değerleri Eşitlik 5.6.'dan hesaplanmıştır.

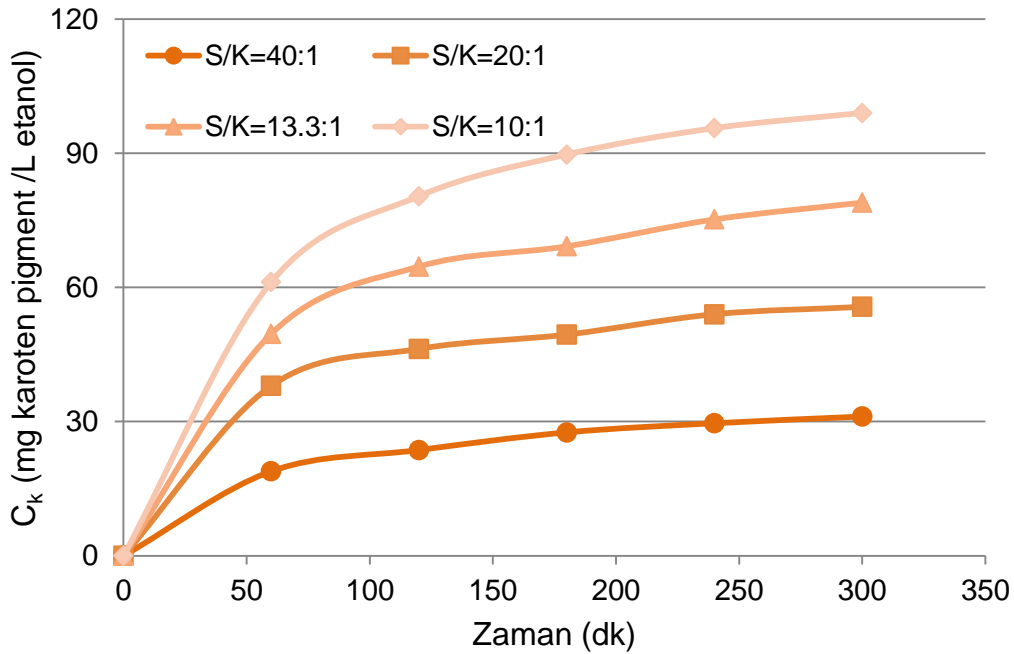
Çizelge 5.8.'den genel olarak S/K oranının arttıkça ortalama % hata değerlerinin % 2.82'den % 3.95'e arttığı gözlenmiştir. Ancak ortalama hata değerlerinin genelde oldukça düşük bulunması Eşitlik 5.13.'ün herhangi bir S/K oranında ve herhangi bir zamanda etanole özütlenen fenolik pigment derişiminin yaklaşık olarak doğru bulunmasında kullanılabileceğini göstermektedir.

Çizelge 5.8. KPPK'dan Fenolik Pigment Ekstraksiyonunda Farklı S/K Oranlarında Deneysel C_f Değerlerinin Teorik C_f Değerleri ile % Hata Değerleri Verilerek Karşılaştırılması

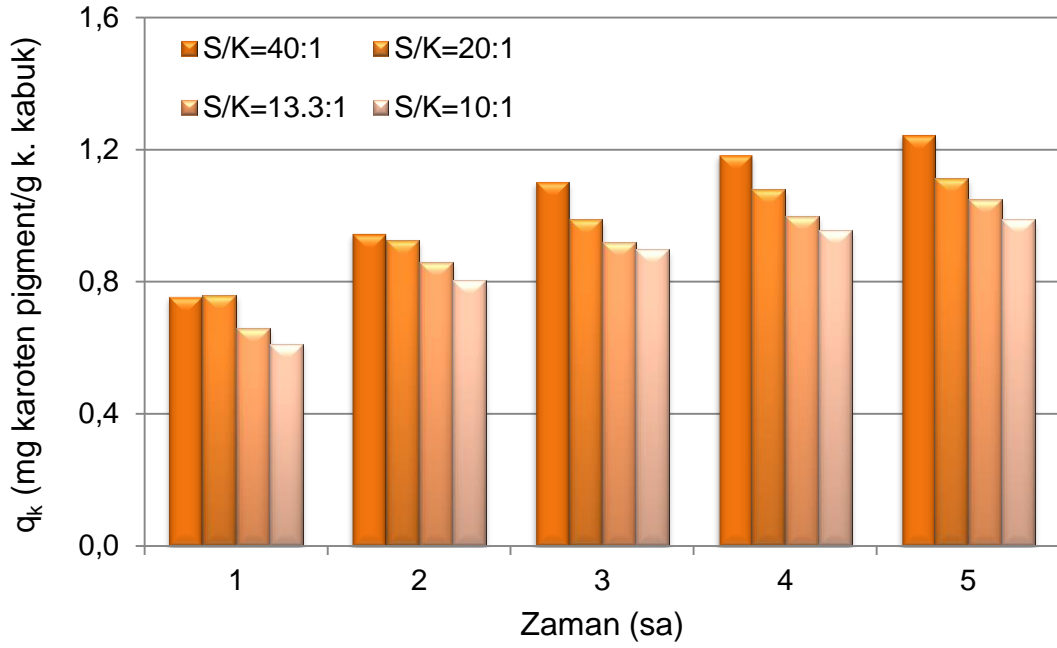
S/K Oranı=10:1 L/kg			
t(dk)	$C_{f,den}(g/L)$	$C_{f,teo}(g/L)$	%Hata
60	32.50	31.90	1.84
120	42.78	44.09	3.00
180	49.87	51.01	2.20
240	53.89	55.11	2.26
300	56.12	58.81	4.80
Ortalama % Hata			2.82
S/K Oranı=13.3:1 L/kg			
t(dk)	$C_{f,den}(g/L)$	$C_{f,teo}(g/L)$	%Hata
60	23.50	24.94	6.12
120	33.56	33.80	1.60
180	37.80	38.05	0.60
240	39.65	41.63	4.90
300	42.13	43.16	2.40
Ortalama % Hata			3.12
S/K Oranı=20:1 L/kg			
t(dk)	$C_{f,den}(g/L)$	$C_{f,teo}(g/L)$	%Hata
60	15.89	16.56	4.20
120	21.57	22.47	4.20
180	24.78	25.50	2.90
240	26.57	27.34	2.90
300	27.20	28.58	5.00
Ortalama % Hata			3.84
S/K Oranı=40:1 L/kg			
t(dk)	$C_{f,den}(g/L)$	$C_{f,teo}(g/L)$	%Hata
60	9.46	8.68	8.20
120	10.68	11.28	5.60
180	12.04	12.53	4.00
240	13.48	13.28	1.50
300	13.82	13.82	0.43
Ortalama % Hata			3.95

Karoten Pigment Ekstraksiyonu Sonuçları

KPPK'dan karoten pigment ekstraksiyonunda etanole geçen karoten pigment derişiminin S/K oranına bağlı olarak zamanla değişim eğrileri Şekil 5.13.'te, birim kuru kabuk başına özütlenen karoten pigment miktarının zamanla değişimi de sütun grafiklerle Şekil 5.14.'te verilmiştir. Şekil 5.13.'ten S/K oranı azaldıkça (katı miktarı arttıkça), çözücüye geçen karoten pigment derişiminin arttığı, ancak çözücünün katı ile etkileşiminin yeterli olmamasından dolayı kararlı durumun daha geç sürede oluştuğu görülmektedir. Büyük S/K oranlarında ise katının az olmasına bağlı olarak daha az miktarda karoten pigment çözücüye geçmiştir ve katı ile sıvının oldukça iyi olan etkileşiminden dolayı daha kısa sürede dengeye ulaşılmıştır. Ekstraksiyonun büyük kısmının her S/K oranında birinci saatte gerçekleştiği, daha sonraki dört saatte azalan eğimle arttığı görülmektedir. S/K oranı ile ekstrakte edilen karoten pigment derişimi ters orantılı olarak değişmektedir. Şekil 5.14.'te tüm saatlerde S/K oranı arttıkça katı-sıvı etkileşiminin daha iyi olması nedeniyle birim kuru kabuk kütlesi başına ekstrakte edilen karoten pigment miktarlarının da az da olsa arttığı görülmektedir.



Şekil 5.13. KPPK'dan Karoten Pigment Ekstraksiyonunda S/K Oranının Çözücüye Geçen Karoten Pigment Derişimine Etkisi ($d_p < 0.5\text{mm}$; Sıcaklık= 79°C ; Çözücü=% 97'lik Etanol)



Şekil 5.14. KPPK'dan Karoten Pigment Ekstraksiyonunda S/K Oranının Birim Kuru Kabuk Kütlesi Başına Özütlenen Karoten Pigment Miktarına Etkisi ($d_p < 0.5$ mm; Sıcaklık=79°C; Çözücü =% 97'lik Etanol)

Farklı S/K oranlarında elde edilen kararlı durumda birim çözücü hacmi başına ekstrakte edilen karoten pigment miktarları (C_{mk}), birim kuru kabuk kütlesi başına ekstrakte edilen karoten pigment miktarları (q_{mk}) ve % karoten pigment verimleri Çizelge 5.9.'da sunulmuştur. Çizelgeden S/K oranının artmasıyla kuru portakal kabuğu kütlesinin azalmasına bağlı olarak çözücüye geçen karoten pigment miktarının çok azaldığı, ancak kararlı durumda birim kuru kabuk kütlesi başına ekstrakte edilen karoten pigment miktarıyla % karoten pigment veriminin önemli ölçüde arttığı gözlenmektedir. 40:1 S/K oranında çalışıldığında elde edilen özütlenen karoten pigment derişimi 31.1 mg/L iken, S/K oranı 10:1'e düştüğünde bu değer 99.0 mg/L'ye çıkmıştır, karoten pigment verimi ise % 0.124'ten % 0.099'a düşmüştür. 10:1 ve 40:1 L/kg S/K oranlarında q_{mk} değerleri ise sırasıyla 0.99 mg/g ve 1.24 mg/g olarak bulunmuştur. Bu fark çözücü ve portakal kabuğu yüzeyi arasındaki sürücü gücün S/K=40:1 L/kg'da daha büyük olmasından ve ayrıca sistemde karıştırma olmaması nedeniyle oldukça büyük olan dış difüzyon dirençlerinin yüksek S/K oranında azalmasından kaynaklanmıştır. Bu sonuç literatürdeki ekstraksiyon çalışmaları ile örtüşmektedir [97].

Çizelge 5.9. KPPK'dan Karoten Pigment Ekstraksiyonunda Farklı S/K Oranlarında Elde Edilen, Kararlı Durumda Birim Çözücü Hacmi Başına Ekstrakte Edilen Karoten Pigment Miktarları (C_{mk}), Birim Kuru Kabuk Kütlesi Başına Ekstrakte Edilen Karoten Pigment Miktarları (q_{mk}) ve % Karoten Pigment Verimleri

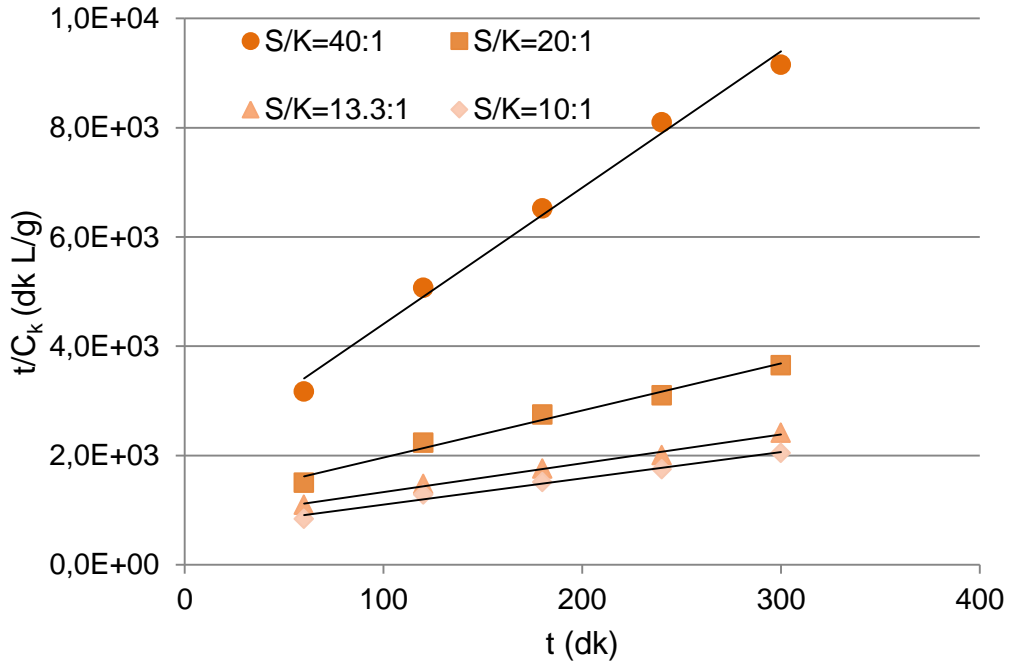
S/K Oranı (L/kg)	C_{mk} (mg/L)	q_{mk} (mg/g)	% Karoten Pigment Verimi
10:1	99.0	0.99	0.099
13.3:1	78.9	1.05	0.105
20:1	55.7	1.13	0.113
40:1	31.1	1.24	0.124

Karoten Pigmentin Ekstraksiyon Kinetiği

İkinci derece ekstraksiyon kinetik modeli KPPK'dan karoten pigment ekstraksiyonuna da uygulanarak modelin geçerliliği araştırılmış ve bulunan sonuçlar aşağıda sunulmuştur.

Çalışılan tüm S/K oranlarında t/C_k 'ye karşı t değerleri grafiğe alınarak elde edilen doğruların (Şekil 5.15.) eğim değerlerinden teorik ekstraksiyon dengesi durumunda çözücüye geçen karoten pigment derişimi (C_{sk}) değerleri, doğruların grafiğin y eksenini kesim noktalarından ikinci derece ekstraksiyon sabiti (k_k) değerleri bulunmuş ve R^2 değerleri ile birlikte Çizelge 5.10.'da sunulmuştur. Çizelgede ayrıca farklı S/K oranlarında Eşitlik 3.9.'dan hesaplanan başlangıç ekstraksiyon hız değerleri deneysel değerlerle birlikte verilmiştir. Çizelgeden görüldüğü üzere, teorik ve deneysel başlangıç ekstraksiyon hızları ve teorik ekstraksiyon dengesinde ve kararlı durumda çözücüye geçen karoten pigment derişimi değerleri S/K oranı ile ters orantılı olarak değişmekte iken, ikinci derece ekstraksiyon hız sabiti S/K oranı ile doğru orantılı olarak değişmektedir. S/K değeri 10:1 olduğunda en yüksek başlangıç ekstraksiyon hızına ve teorik dengede çözücüye geçecek olan karoten pigment derişimine ulaşılırken, en düşük ekstraksiyon hız sabitine ulaşılmıştır. Bu

durum aynı miktar çözücü içindeki en yüksek katı numune miktarının S/K=10:1'de olmasından kaynaklanmaktadır. S/K oranının artmasıyla yüksek ekstraksiyon hız sabitlerine ulaşılması çözücü/katı oranının artmasıyla dış difüzyon dirençlerinin azalmasının sonucu olarak ortaya çıkmakta ve deneysel sonuçlarla da uyum göstermektedir. Literatürde yapılan ve kinetik açıdan incelenen bir çok ekstraksiyon çalışmasında kinetik parametrelerinin S/K'ya bağlılığı açısından bulunan sonuçlar çalışmanın sonuçları ile uyum içindedir [97].

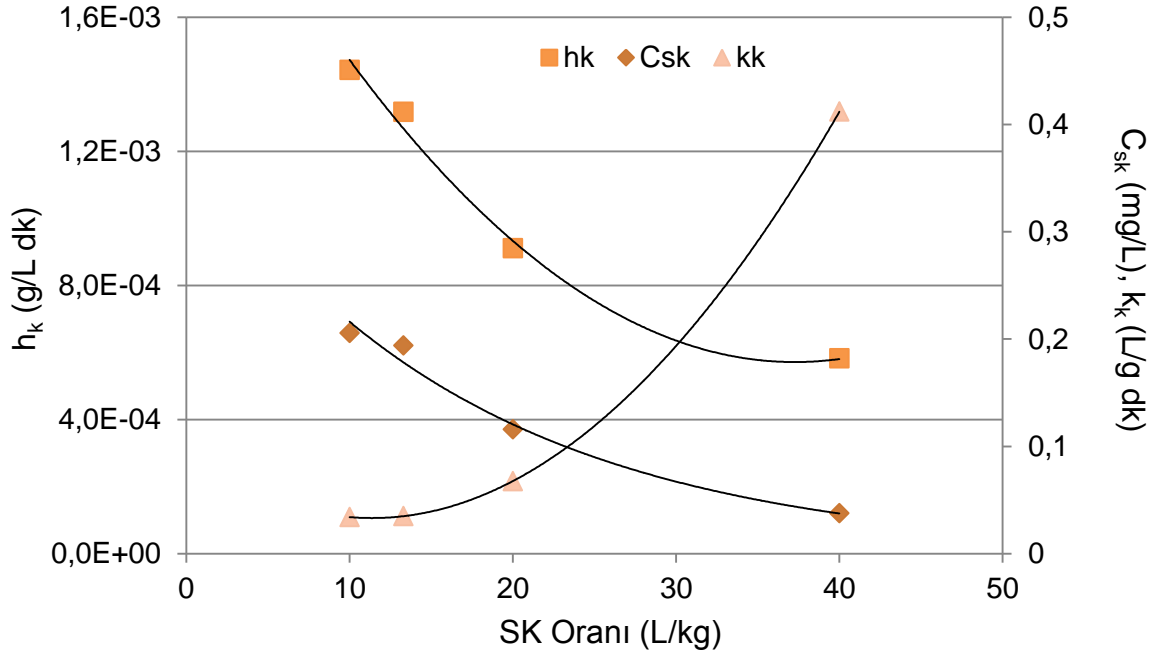


Şekil 5.15. KPPK'dan Karoten Pigment Ekstraksiyonunda Farklı S/K Oranlarında Elde Edilen İkinci Derece Kinetik Doğruları

Çizelge 5.10. KPPK'dan Karoten Pigment Ekstraksiyonunda Farklı S/K Oranlarında Elde Edilen İkinci Derece Kinetik Sabitler, Teorik ve Deneysel Başlangıç Hızları, Teorik Dengede ve Deneysel Kararlı Durumda Birim Çözücü Hacmi Başına Ekstrakte Edilen Karoten Pigment Miktarları

Sıvı/Katı Oranı (L/kg)	k_k (L/g dk)	$h_{k,teo.} \times 10^3$ (g/L dk)	$h_{k,den.} \times 10^3$ (g/L dk)	C_{sk} (g/L)	C_{mk} (g/L)	R^2
10:1	0.034	1.44	1.02	0.206	0.099	0.991
13.3:1	0.035	1.31	0.83	0.194	0.079	0.986
20:1	0.067	0.91	0.63	0.116	0.056	0.983
40:1	0.412	0.58	0.32	0.038	0.031	0.992

Çalışılan tüm S/K oranlarında, çalışılmayan herhangi bir S/K oranındaki kinetik sabitleri tahmin etmek amacı ile S/K oranı ile değişen C_{sk} , k_k ve h_k değerleri S/K oranına karşı grafiğe alınarak Şekil 5.16.'da verilen eğriler elde edilmiştir. Bu eğrilerden Office Excel 2007 programı yardımıyla bulunan sırasıyla C_{sk} , k_k ve h_k , değişkenlerinin S/K oranına bağlı olarak uydukları üssel, polinomial ve polinomial fonksiyonlar Eşitlik 5.14., 5.15. ve 5.16.'da R^2 değerleri ile verilmiştir.



Şekil 5.16. KPPK'ya Karoten Pigment Ekstraksiyonunda Toerik Denge Karoten Pigment Derişimi(C_{sk})'nin, Ekstraksiyon Hız Sabiti(k_k)'nin ve Başlangıç Ekstraksiyon Hızı(h_k)'nin S/K Oranıyla Değişim Eğrileri

$$C_{sk} = 0.3877e^{-0.058(S/K)} \quad R^2 = 0.994 \quad (5.14.)$$

$$k_k = 0.5 \times 10^{-3}(S/K)^2 - 0.011(S/K) + 0.1 \quad R^2 = 1.0 \quad (5.15.)$$

$$h_k = 10^{-6}(S/K)^2 - 0.94 \times 10^{-4}(S/K) + 0.23 \times 10^{-2} \quad R^2 = 0.992 \quad (5.16.)$$

Çalışılmayan herhangi bir S/K oranında herhangi bir zamanda çözücüye geçen karoten pigment derişimini öngörmek için Eşitlik 3.9.'da yer alan h_k ve C_{sk}'in S/K oranına bağlı fonksiyonları eşitliğe yerleştirilerek Eşitlik 5.17. elde edilmiştir.

$$C_k = \frac{t}{\frac{1}{(10^{-6}(S/K)^2 - 0.9 \times 10^{-4}(S/K) + 0.23 \times 10^{-2})} + \frac{t}{(0.3877e^{-0.058(S/K)})}} \quad (5.17.)$$

5.1.1.1.3. Çözücü Etkisi

Portakal kabuğundaki temel karotenoid bileşikler β -Karoten, α -Karoten, lutein ve zeaksantindir [104-106]. Bunun yanısıra flavonoidler, fenolik asitler, pektin ve waksar da portakal kabuğunun yapısında yer alan bileşenlerdendir [104]. Portakal kabuğundan ekstrakte edilen bileşenler ve bu bileşenlerin miktarları ekstraksiyon için kullanılan çözücü türüne önemli ölçüde bağlıdır. Etanol ve daha polar yapıda olan su apolar bir kimyasal olan β -Karotenin ekstraksiyonunda tercih edilen çözücüler değillerdir. Çözücünün polaritesi azaldıkça β -Karoten ekstraksiyonu artmaktadır. Etanol ve su ile ekstrakte edilen portakal kabuğu özütlerinde karotenlere ait 450 nm civarında gözlenen baskın pikleri görmek imkansızdır. Bunun nedeni çok az miktarlarda β -Karotenin ekstrakte edilebilmesi ve ekstrakte edilen tüm karoten cinslerinin piklerinin birbirini söndürmesidir. Dumbrava ve arkadaşları da 2010 yılında yaptıkları çalışmalarında portakal kabuğundan etanol ile yapılan ekstraksiyonda elde edilen β -Karoten miktarının görünür bölgede tespit edilebilmesi için çok az kaldığını belirtmişlerdir [107]. β -Karotenin etanol içindeki 30 mg/L olan çözünürlüğü, asetonun 200 mg/L, hekzanın 600 mg/L olan çözünürlük değerleriyle karşılaştırıldığında çok düşük kalmaktadır. Ancak Yi ve arkadaşları etanolün flavonoidlerin yüksek verimde ekstraksiyonunda çözücü olarak kullanılabileceğini göstermişlerdir [108].

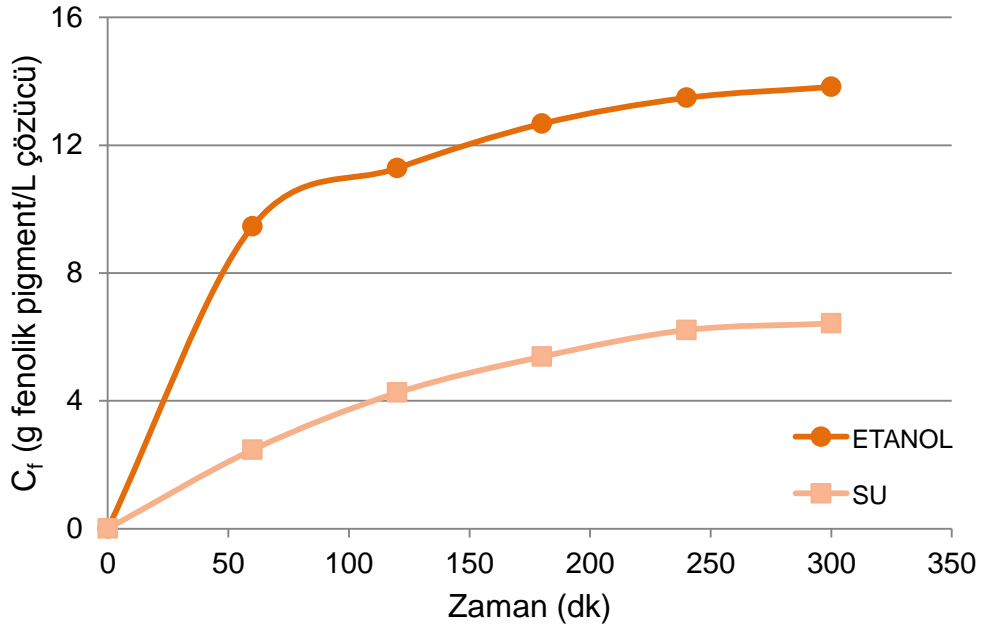
Tez çalışmasında portakal kabuğundan tüm fenolik ve karoten pigmentlerin ekstraksiyonu amaçlandığından ve ayrıca laboratuvar koşulları da dikkate alınarak çözücü olarak polar yapıdaki su ve suya göre polaritesi daha az olan etanol çözücüleri kullanılmıştır. Hekzan ve aseton çözücüleri birer kere deneysel çalışmalarda kullanılmış olup, ancak bu çözücülerin buharlarının yarattığı sağlıksız deney koşullarından dolayı, bundan sonraki tüm çalışmalar etanol ve su çözücüleri ile gerçekleştirilmiştir.

KPPK'dan fenolik pigment ve karoten pigment ekstraksiyonu çalışmalarında çözücü türünün ekstraksiyon kinetiği ve verimi üzerine etkileri 40:1 kg/L S/K oranında ve 0.5 mm'den küçük boyuta sahip taneciklerle araştırılmış ve elde edilen sonuçlar aşağıda sunulmuştur.

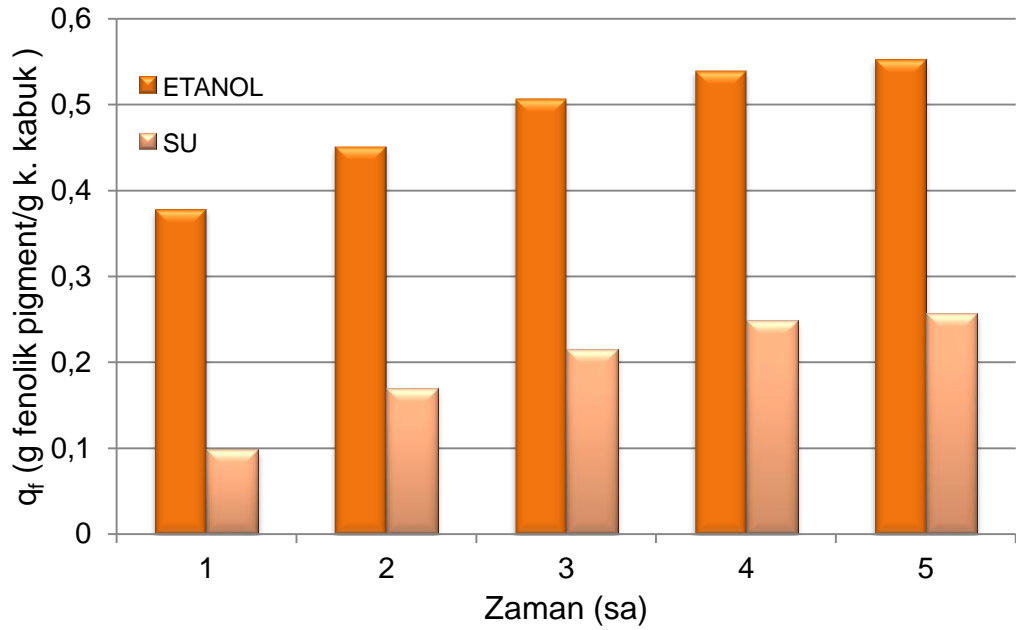
Fenolik Pigment Ekstraksiyonu Sonuçları

Etanol ve saf su çözücülerine geçen fenolik pigment derişiminin çözücü türüne bağlı olarak zamanla değişimi Şekil 5.17.'de, birim kuru kabuk kütlesi başına özütlenen fenolik pigment miktarının zamanla değişimi ise Şekil 5.18.'de sütun grafiklerle verilmiştir. Her iki şekilden de etanol ve su çözücüleri karşılaştırıldığında etanole geçen fenolik pigment derişimi ile birim kuru kabuk kütlesi başına özütlenen fenolik pigment miktarının, sudaki değerlerin yaklaşık iki katı yüksek olduğu, etanolla birinci saatin sonunda ekstraksiyonun büyük kısmının tamamlandığı, ancak su ile ekstraksiyonunun oldukça yavaş gerçekleştiği gözlenmektedir. Kullanılan çözücüler için hız değerleri oldukça farklı olsa da, her iki çözücü ile de dört saatlik bir ekstraksiyon süreci sonunda kararlı duruma ulaşıldığı ve özütlenen fenolik pigment derişiminin hemen hemen sabit kaldığı görülmektedir. Sonuç olarak dört saatlik bir ekstraksiyon süresinin özütleme için yeterli olduğu söylenebilir. Tüm bu sonuçlar KPPK'dan fenolik pigment ekstraksiyonunda etanolün yapısından dolayı suya göre daha iyi bir çözücü olduğunu göstermektedir.

KPPK'dan etanol ve saf suya fenolik pigment ekstraksiyonunda kararlı durumda birim çözücü hacmi başına ekstrakte edilen fenolik pigment miktarları, kararlı durumda birim kuru kabuk kütlesi başına ekstrakte edilen fenolik pigment miktarları ve % fenolik pigment verimleri Çizelge 5.11.'de sunulmuştur. Çizelgeden çözücü olarak saf su yerine etanol kullanıldığında, özütlenen fenolik pigment derişiminin ve ekstraksiyon veriminin oldukça fazla arttığı görülmektedir. Saf su ile çalışıldığında elde edilen özütlenen fenolik pigment derişimi ve fenolik pigment verim değerleri sırasıyla 6.42 g/L ve % 25.7 bulunmuşken, bu değerler etanolla çalışıldığında yaklaşık iki katı artarak 13.8 g/L ve % 55.3 değerlerine ulaşmıştır.



Şekil 5.17. KPPK'dan Fenolik Pigment Ekstraksiyonunda Çözücü Türünün Çözücüye Geçen Fenolik Pigment Derişimine Etkisi (Sıcaklık=79°C (Etanol), 100°C (Saf Su); S/K=40:1 L/kg; Tanecik Boyutu=<0.5 mm)



Şekil 5.18. KPPK'dan Fenolik Pigment Ekstraksiyonunda Çözücü Türünün Birim Kuru Kabuk Kütlesi Başına Özütlene Fenolik Pigment Miktarına Etkisi (Sıcaklık=79°C (Etanol), 100°C (Saf Su); S/K=40:1 L/kg; Tanecik boyutu=<0.5 mm)

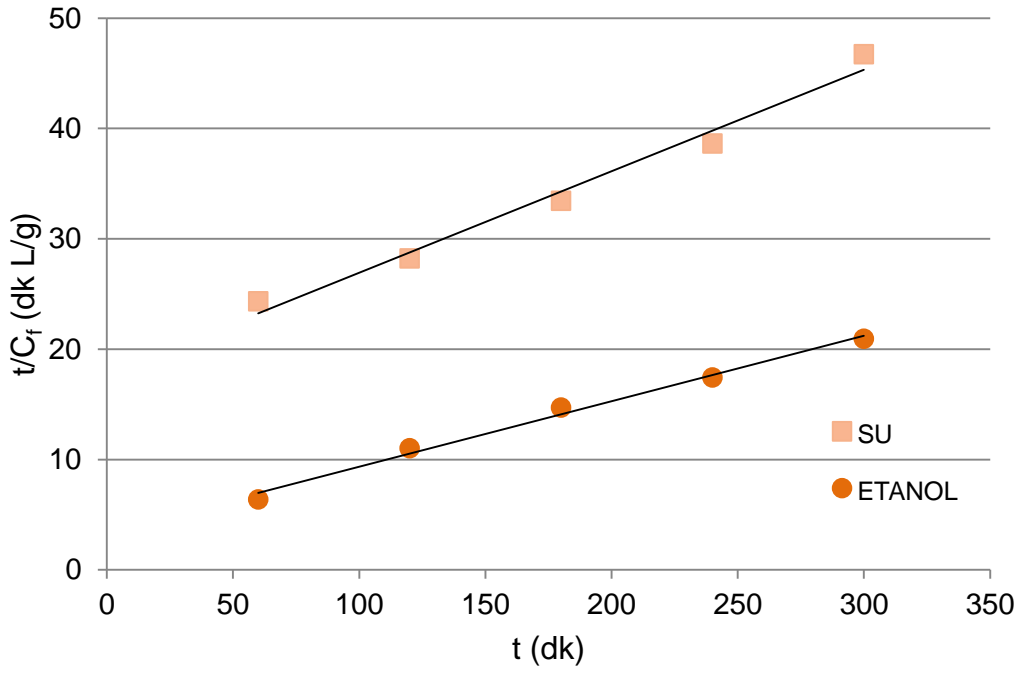
Çizelge 5.11. KPPK'dan Etanol ve Saf Su'ya Fenolik Pigment Ekstraksiyonunda Elde Edilen Kararlı Durumda Birim Çözücü Hacmi Başına Ekstrakte Edilen Fenolik Pigment Miktarları (C_{mf}), Birim Kuru Kabuk Kütlesi Başına Ekstrakte Edilen Fenolik Pigment Miktarları (q_{mf}) ve % Fenolik Pigment Verimleri

Çözücü Türü	C_{mf} (g/L)	q_{mf} (g/g)	% Fenolik Pigment Verimi
Etanol (97%)	13.8	0.55	55.3
Saf Su	6.4	0.26	25.7

Fenolik Pigmentin Ekstraksiyon Kinetiği

İkinci derece ekstraksiyon kinetik modelin çözücü türüne göre deneysel sonuçlara uygunluğu araştırılmış ve bulunan sonuçlar aşağıda sunulmuştur.

Çalışılan her iki çözücüyle elde edilen t/C_f 'ye karşı t doğrularının (Şekil 5.19.) eğim değerlerinden teorik ekstraksiyon dengesi durumunda çözücüye geçen fenolik pigment derişimi (C_{sf}) değerleri, doğruların grafiğın y eksenini kesim noktalarından ise ikinci derece ekstraksiyon sabiti (k_f) değerleri bulunmuş ve R^2 değerleri ile birlikte Çizelge 5.12.'de verilmiştir. Çizelgede ayrıca Eşitlik 3.9'dan hesaplanan ve deneysel başlangıç ekstraksiyon hızı değerleri de sunulmuştur. Çizelgeden görüldüğü üzere, başlangıç ekstraksiyon hızı, ikinci derece ekstraksiyon sabiti ve ekstraksiyon dengesi durumunda çözücüye geçen fenolik pigment derişimi değerleri etanolde suya nazaran çok daha yüksek değerlerde elde edilmiştir. Bu durum etanolün KPPK'dan fenolik pigment ekstraksiyonunda suya göre çok daha iyi bir çözücü olduğunu desteklemektedir.



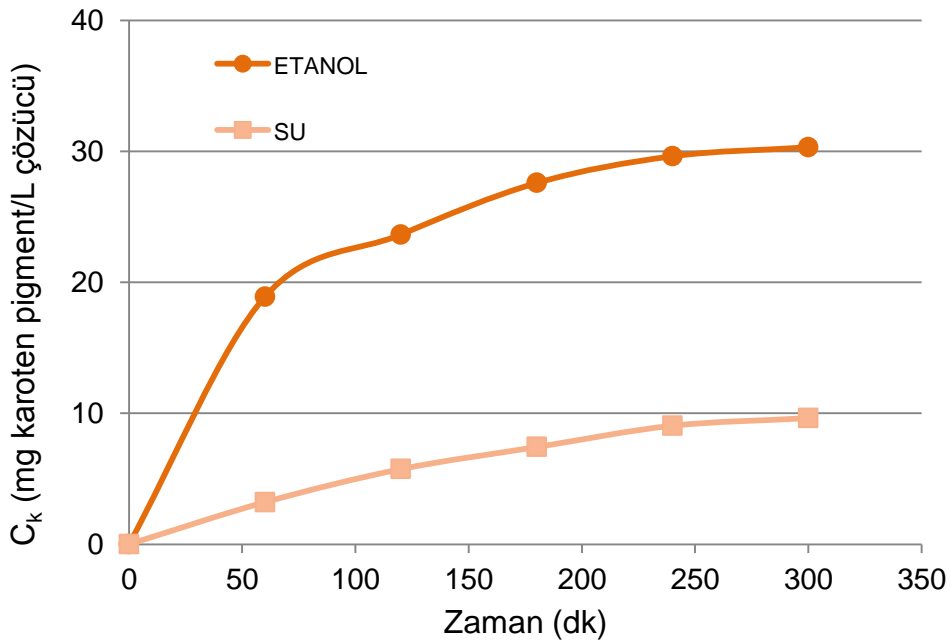
Şekil 5.19. KPPK'dan Fenolik Pigment Ekstraksiyonunda Farklı Çözücülerle Elde Edilen İkinci Derece Kinetik Doğruları

Çizelge 5.12. KPPK'dan Fenolik Pigment Ekstraksiyonunda Farklı Çözücülerle Elde Edilen İkinci Derece Kinetik Sabitler, Teorik ve Deneysel Başlangıç Hızları ve Teorik Dengede ve Deneysel Kararlı Durumlarda Birim Çözücü Hacmi Başına Ekstrakte Edilen Fenolik Pigment Miktarları

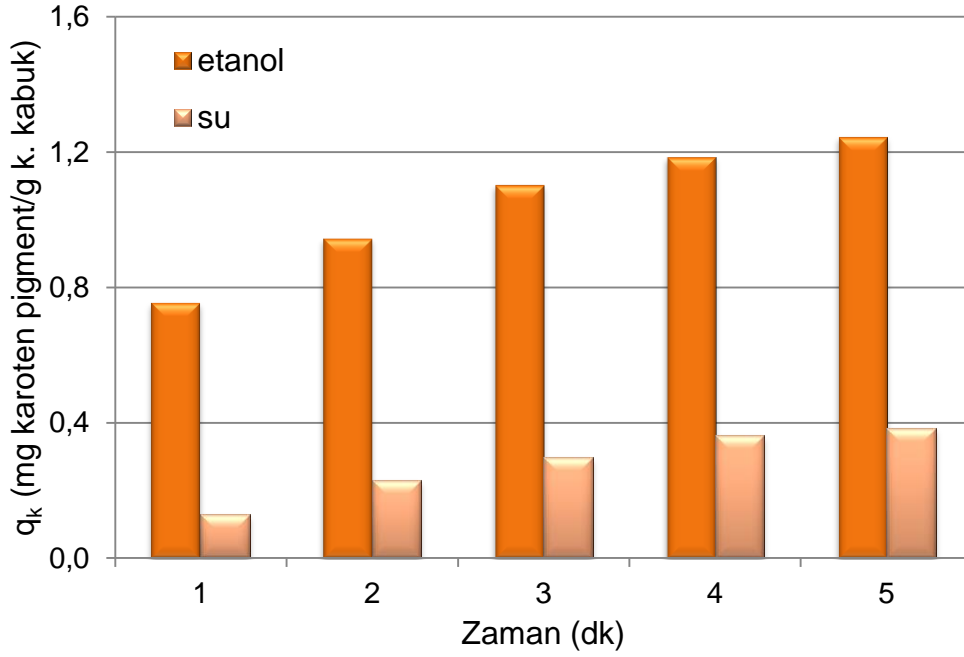
Çözücü Türü	$k_f \times 10^3$ (L/g dk)	$h_{f,teo}$ (g/L dk)	$h_{f,den}$ (g/L dk)	C_{sf} (g/L)	C_{mf} (g/L)	R^2
Etanol	1.202	0.311	0.410	16.1	13.8	0.992
Su	0.477	0.056	0.157	10.9	6.4	0.982

Karoten Pigment Ekstraksiyonu Sonuçları

Çözücüye geçen karoten pigment derişiminin çözücü türüne bağılı olarak zamanla değişim eğrileri Şekil 5.20.'de, birim kuru kabuk kütlesi başına özütlenen karoten pigment miktarının zamanla değişimi de sütun grafiklerle Şekil 5.21.'de verilmiştir. Her iki şekilden de etanolle çözücüye geçen karoten pigment derişiminin ve birim kuru kabuk kütlesi başına özütlenen karoten pigment miktarının suya göre daha yüksek değerlerde olduğu, etanol ile birinci saatin sonunda ekstraksiyonun büyük kısmının tamamlandığı fakat su ile daha düşük verimde ve daha yavaş bir ekstraksiyonun gerçekteştiği gözlenmektedir. Hız değerleri iki çözücü için oldukça farklı olsa da her iki çözücü ile de dört saatlik bir ekstraksiyon süreci sonunda kararlı duruma ulaşıldığı ve özütlenen karoten pigment derişiminin yaklaşık olarak sabit kaldığı görülmektedir. Sonuç olarak dört saatlik bir ekstraksiyon süresinin özütleme için yeterli olduğu söylenebilir. Şekil 5.21.'den de etanolden su ile kıyaslandığında daha yüksek hız ve verimlilik değerlerinin elde edildiği görülmektedir. Bu sonuçlar KPPK'dan fenolik pigment ekstraksiyonunda olduğu gibi karoten pigment ekstraksiyonunda da etanolün suya göre çok daha iyi bir çözücü olduğunu göstermektedir.



Şekil 5.20. KPPK'dan Karoten Pigment Ekstraksiyonunda Çözücü Türünün Çözücüye Geçen Karoten Pigment Derişimine Etkisi (Sıcaklık=79°C (Etanol), 100°C (Saf Su); S/K=40:1 L/kg; Tanecik boyutu=<0.5 mm)



Şekil 5.21. KPPK'dan Karoten Pigment Ekstraksiyonunda Çözücü Türünün Birim Kuru Kabuk Kütlesi Başına Özütlenen Karoten Pigment Miktarına Etkisi (Sıcaklık=79°C (Etanol), 100°C (Saf Su); S/K=40:1 L/kg; Tanecik boyutu=<0.5 mm)

Etanol ve su ile gerçekleştirilen ekstraksiyon deneylerinde elde edilen kararlı durumda birim çözücü hacmi başına ekstrakte edilen karoten pigment miktarları, birim kuru kabuk kütlesi başına ekstrakte edilen karoten pigment miktarları ve % karoten pigment verimleri Çizelge 5.13.'te sunulmuştur. Çizelgeden çözücü olarak saf su yerine etanol kullanıldığında özütlenen karoten pigment derişiminin ve ekstraksiyon veriminin oldukça fazla arttığı görülmektedir. Saf su ile çalışıldığında elde edilen özütlenen karoten pigment derişimi ve karoten pigment verimi sırasıyla 9.6 mg/L ve % 0.039 iken, bu değerler etanol çözücüsü ile çalışıldığında yaklaşık üç katı artarak 31.1 mg/L ve % 0.125 değerlerine ulaşmıştır.

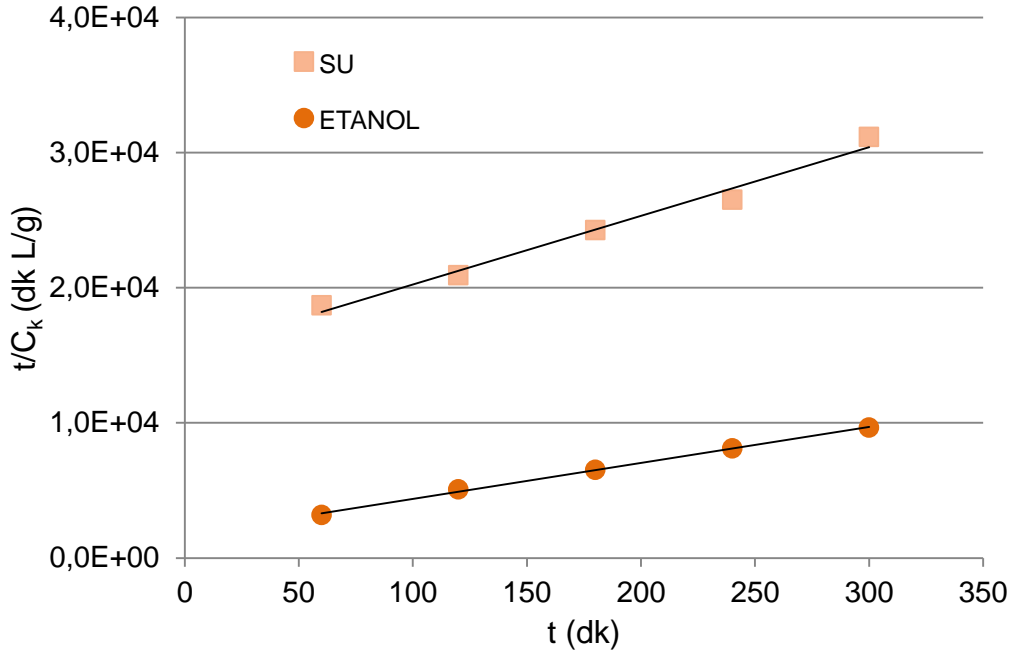
Çizelge 5.13. KPPK'dan Karoten Pigment Ekstraksiyonunda Farklı Çözücülerle Elde Edilen Kararlı Durumda Birim Çözücü Hacmi Başına Ekstrakte Edilen Karoten Pigment Miktarları (C_{mk}), Birim Kuru Kabuk Kütlesi Başına Ekstrakte Edilen Karoten Pigment Miktarları (q_{mk}) ve % Karoten Pigment Verimleri

Çözücü Türü	C_{mk} (mg/L)	q_{mk} (mg/g)	% Karoten Pigment Verimi
Etanol (97%)	31.1	1.25	0.125
Saf Su	9.6	0.39	0.039

Karoten Pigmentin Ekstraksiyon Kinetiği

İkinci derece ekstraksiyon kinetik modeli çözücü türüne göre deneysel sonuçlara uygulanmış ve bulunan sonuçlar aşağıda sunulmuştur.

Çalışılan her iki çözücüyle elde edilen t/C_k 'ya karşı t doğrularının (Şekil 5.22.) eğim değerlerinden teorik ekstraksiyon dengesi durumunda çözücüye geçen karoten pigment derişimi (C_{sk}) değerleri, doğruların grafiğın y eksenini kesim noktalarından ise ikinci derece ekstraksiyon sabiti (k_k) değerleri bulunmuş ve R^2 değerleri ile birlikte Çizelge 5.14.'te verilmiştir. Çizelgede ayrıca Eşitlik 3.9.'dan hesaplanan ve deneysel bulunan başlangıç ekstraksiyon hız değerleri de sunulmuştur. Çizelgeden görüldüğü üzere, başlangıç ekstraksiyon hızı, ikinci derece ekstraksiyon sabiti ve ekstraksiyon dengesi durumunda çözücüye geçen karoten pigment derişimi değerlerinin etanolde suya nazaran çok daha yüksek olduğu görülmektedir. Bu durum etanolün KPPK'dan karoten pigment ekstraksiyonunda suya göre çok daha iyi bir çözücü olduğunu desteklemektedir.



Şekil 5.22. KPPK'dan Karoten Pigment Ekstraksiyonunda Farklı Çözücülerle Elde Edilen İkinci Derece Kinetik Doğruları

Çizelge 5.14. KPPK'dan Karoten Pigment Ekstraksiyonunda Farklı Çözücülerle Elde Edilen İkinci Derece Kinetik Sabitler, Teorik ve Deneysel Başlangıç Hızları ve Teorik Dengede ve Deneysel Kararlı Durumda Birim Çözücü Hacmi Başına Ekstrakte Edilen Karoten Pigment Miktarları

Çözücü Türü	k_k (L/g dk)	$h_{k,teo} \times 10^3$ (g/L dk)	$h_{k,den} \times 10^3$ (g/L dk)	C_{sk} (g/L)	C_{mk} (g/L)	R^2
Etanol	0.412	0.580	0.316	0.037	0.031	0.998
Su	0.171	0.066	0.054	0.019	0.010	0.982

5.1.1.2. Dondurulmuş Posalı Portakal Kabuğu (DPPK) Çalışmaları

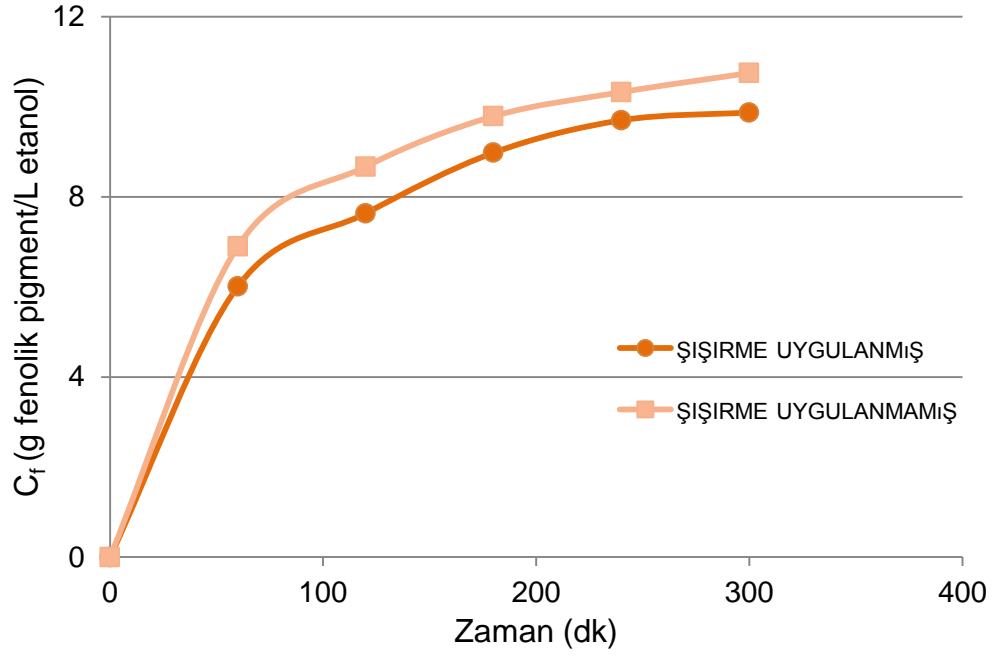
5.1.1.2.1. Ön İşlem (Şişirme) Etkisi

-18°C'da posalı olarak dondurularak hazırlanmış portakal kabukları iki şekilde ekstraksiyon deneylerinde kullanılmıştır. İlk durumda kuru kabuk bazında S/K=40:1 L/kg sıvı/katı oranını sağlayacak miktar donmuş kabuk çözünmeden soksalet ekstraktörünün yüksük kısmına yerleştirilmiş ve 79°C'daki etanolle ekstraksiyon işlemine tabi tutulmuştur. İkinci durumda etanolün şişirme etkisini inceleyebilmek için oda sıcaklığında S/K=40:1 L/kg sıvı/katı oranını sağlayacak miktar donmuş kabuk çözünmeden soksalet ekstraktörünün yüksük kısmına yerleştirilmiş ve bir sifon uygulanarak oda sıcaklığındaki etanolün yüksük kısmına geçmesi sağlanmış ve donmuş kabuk etanol içinde 24 saat boyunca bekletildikten sonra 79°C'da ekstraksiyon işlemi başlatılmıştır. Tüm donmuş kabuk çalışmaları 1.19-3.36 mm boyut aralığındaki taneciklerle gerçekleştirilmiştir. Elde edilen sonuçlar portakal kabuğuna ait yaş ağırlık-kuru ağırlık çalışma doğrusundan birim kuru kabuk kütlesi başına dönüştürülerek sunulmuştur.

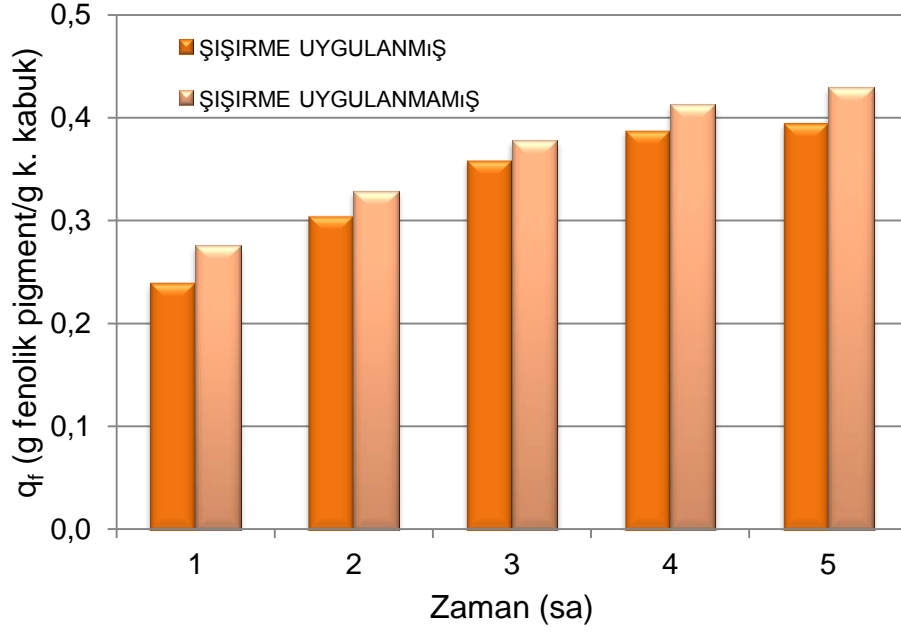
Fenolik Pigment Ekstraksiyonu Sonuçları

Şişirme uygulanmış ve uygulanmamış DPPK'ları ile fenolik pigment ekstraksiyonunda çözücüye geçen fenolik pigment derişimlerinin ve birim kuru kabuk kütlesi başına özütlenen fenolik pigment miktarlarının zamanla değişim eğrileri ve sütun grafikleri sırasıyla Şekil 5.22. ve Şekil 5.23.'te verilmiştir. Her iki şekilden de her ne kadar kararlı hale ulaşılma süresi değişmese de, şişirmenin ekstraksiyon hızını, çözücüye geçen fenolik pigment derişimini ve katıdan fenolik pigment özütleme kapasitesini az da olsa azalttığı gözlenmektedir. Şişirmenin verimi azaltmasının en önemli nedeni, etanol ile 24 saat boyunca şişen taneciklerin yapılarında ve flavonoidlerin bağlarında bozunma olması ve etken madde kaybının yaşanması şeklinde açıklanabilir.

Çizelge 5.15.'te şişirmenin fenolik pigment ekstraksiyonunda elde edilen kararlı durumda birim çözücü hacmi başına ekstrakte edilen fenolik pigment miktarları, birim kuru kabuk kütlesi başına ekstrakte edilen fenolik pigment miktarları ve % fenolik pigment verimleri sunulmuştur. Çizelgeden de şişirmenin çözücüye özütlenen ve kabuktan özütlenen fenolik pigment miktarını ve verimi az da olsa azalttığı gözlenmektedir.



Şekil 5.23. DPPK'dan Fenolik Pigment Ekstraksiyonunda Şişirmenin Etkisinin Çözücüye Geçen Fenolik Pigment Derişimine Etkisi (Sıcaklık=79°C; 1.19<d_p<3.36mm; S/K=40:1 L/kg; Çözücü =% 97'lik Etanol)



Şekil 5.24. DPPK'dan Fenolik Pigment Ekstraksiyonunda Şişirmenin Etkisinin Birim Kuru Kabuk Kütlesi Başına Özütlenen Fenolik Pigment Miktarına Etkisi (Sıcaklık=79°C; $1.19 < d_p < 3.36$ mm; S/K=40:1 L/kg; Çözücü=% 97'lik Etanol)

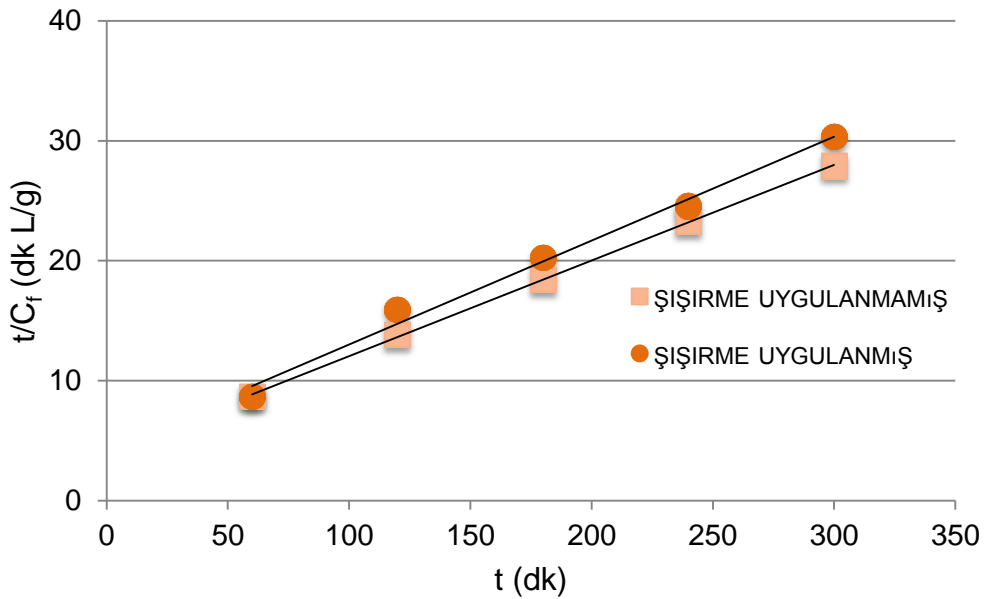
Çizelge 5.15. Şişirme Uygulanmış ve Uygulanmamış DPPK'dan Fenolik Pigment Ekstraksiyonunda Elde Edilen Kararlı Durumda Birim Çözücü Hacmi Başına Ekstrakte Edilen Fenolik Pigment Miktarları (C_{mf}), Birim Kuru Kabuk Kütlesi Başına Ekstrakte Edilen Fenolik Pigment Miktarları (q_{mf}) ve % Fenolik Pigment Verimleri

Ön İşlem	C_{mf} (g/L)	q_{mf} (g/g)	% Fenolik Pigment Verimi
Şişirme Uygulanmış	9.9	0.39	39.0
Şişirme Uygulanmamış	10.8	0.43	43.0

Fenolik Pigment Ekstraksiyonu Kinetiği

Şişirilmiş ve şişirilmemiş DPPK ile yapılan deneyler sonucunda bulunan C_f ve t değerlerinden yararlanarak, ikinci derece ekstraksiyon kinetik modelin deneysel sonuçlara uygunluğu araştırılmış ve bulunan sonuçlar aşağıda sunulmuştur.

t/C_f 'ye karşı t değerleri grafiğe alınarak elde edilen doğruların (Şekil 5.25.) eğim değerlerinden teorik ekstraksiyon dengesi durumunda çözücüye geçen fenolik pigment derişimi (C_{sf}) değerleri, doğruların grafiğin y eksenini kesim noktalarından ikinci derece ekstraksiyon sabiti (k_f) değerleri bulunmuş, R^2 değerleri ve Eşitlik 3.9'dan hesaplanan ve deneysel başlangıç ekstraksiyon hızı değerleri ile birlikte Çizelge 5.16.'da verilmiştir. Çizelgeden görüldüğü üzere, ön işlem uygulanmış DPPK'dan fenolik pigment ekstraksiyonunda ekstraksiyon sabiti değerleri ön işlem uygulanmamış DPPK'dan fenolik pigment ekstraksiyonundaki değerlerden daha düşük değerlerde elde edilmiştir.



Şekil 5.25. Şişirme Uygulanmış ve Uygulanmamış DPPK'dan Fenolik Pigment Ekstraksiyonunda Edilen İkinci Derece Kinetik Doğruları

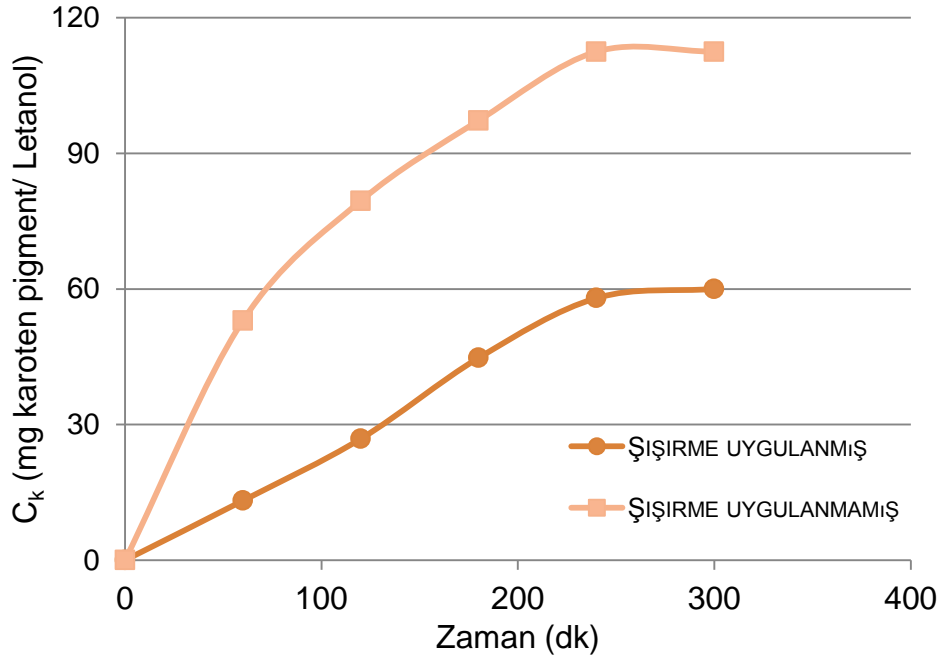
Çizelge 5.16. Şişirme Uygulanmış ve Uygulanmamış DPPK'dan Fenolik Pigment Ekstraksiyonunda Elde Edilen İkinci Derece Kinetik Sabitler, Teorik ve Deneysel Başlangıç Hızları ve Teorik Dengede ve Deneysel Kararlı Durumlarda Birim Çözücü Hacmi Başına Ekstrakte Edilen Fenolik Pigment Miktarları

Ön İşlem	$k_f \times 10^3$ (L/g dk)	$h_{f,teo}$ (g/L dk)	$h_{f,den}$ (g/L dk)	C_{sf} (g/L)	C_{mf} (g/L)	R^2
Şişirme Uygulanmış	1.347	0.218	0.102	11.5	9.9	0.990
Şişirme Uygulanmamış	1.730	0.230	0.115	12.7	10.8	0.996

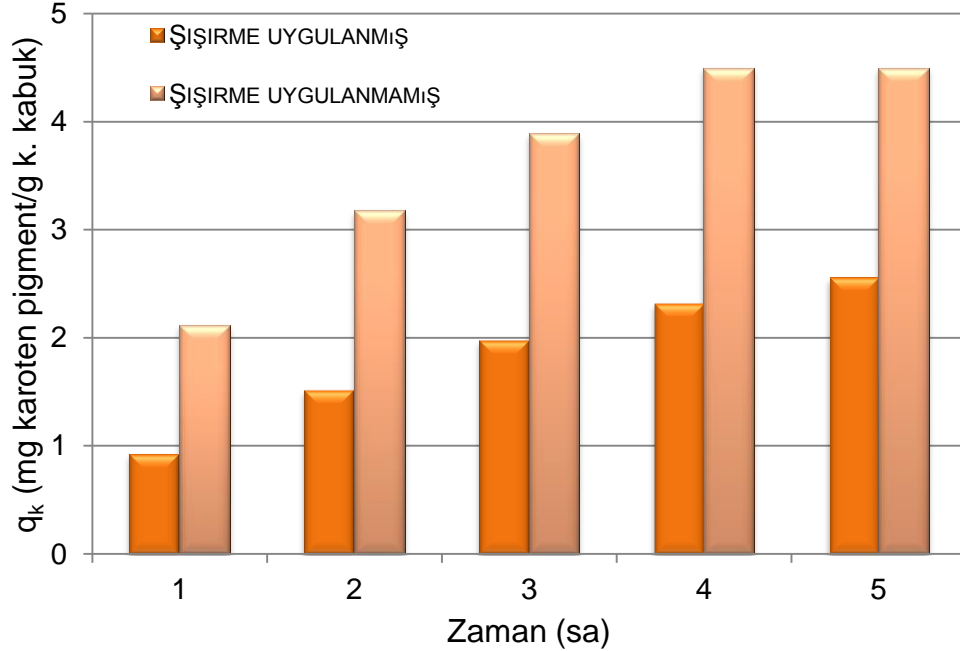
Karoten Pigment Ekstraksiyonu Sonuçları

Şişirme uygulanmış ve uygulanmamış DPPK'dan karoten pigment ekstraksiyonunda çözücüye geçen karoten pigment derişiminin ve birim kuru kabuk kütlesi başına özütlenen karoten pigment miktarının zamanla değişim eğrileri ve sütun grafikleri sırasıyla Şekil 5.26. ve Şekil 5.27.'de verilmiştir. Fenolik pigment ekstraksiyonuna benzer olarak her iki şekilden de her ne kadar kararlı hale ulaşımla süresi değişmese de, şişirmenin ekstraksiyon hızını, çözücüye geçen karoten pigment derişimini ve katıdan karoten özütleme kapasitesini çok fazla azalttığı gözlenmektedir. Şişirmenin hız ve verimi azaltmasının en önemli nedeni olarak karoten pigmentin etanol içinde 24 saat boyunca beklemesiyle yapısının bozunması görülmektedir.

Çizelge 5.17.'de şişirmenin karoten pigment ekstraksiyonunda elde edilen kararlı durumda birim çözücü hacmi başına ekstrakte edilen karoten pigment miktarları, birim kuru kabuk kütlesi başına ekstrakte edilen karoten pigment miktarları ve % karoten pigment verimleri sunulmuştur. Çizelgeden de şişirmenin çözücüye özütlenen ve kabuktan özütlenen karoten pigment miktarını ve verimi oldukça azalttığı gözlenmektedir.



Şekil 5.26. DPPK'dan Karoten Pigment Ekstraksiyonunda Şişirmenin Etkisinin Çözücüye Geçen Karoten Pigment Derişimine Etkisi (Sıcaklık=79°C; 1.19<d_p<3.36mm; S/K=40:1 L/kg; Çözücü =% 97'lik Etanol)



Şekil 5.27. DPPK'dan Karoten Pigment Ekstraksiyonunda Şişirmenin Etkisinin Birim Kuru Kabuk Kütlesi Başına Özütlenen Karoten Pigment Miktarına Etkisi (Sıcaklık=79°C; 1.19<d_p<3.36mm; S/K=40:1 L/kg; Çözücü=% 97'lik Etanol)

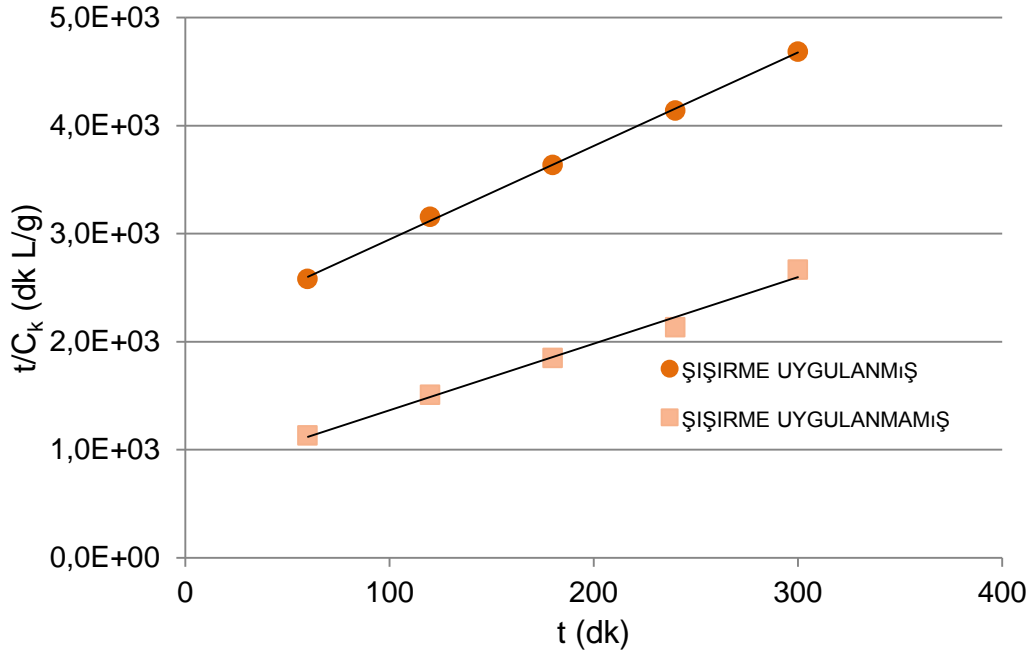
Çizelge 5.17. Şişirme Uygulanmış ve Uygulanmamış DPPK'dan Karoten Pigment Ekstraksiyonunda Elde Edilen Kararlı Durumda Birim Çözücü Hacmi Başına Ekstrakte Edilen Karoten Pigment Miktarları (C_{mk}), Birim Kuru Kabuk Kütlesi Başına Ekstrakte Edilen Karoten Pigment Miktarları (q_{mk}) ve % Karoten Pigment Verimleri

Ön İşlem	C_{mk} (mg/L)	q_{mk} (mg/g)	% Karoten Pigment Verimi
Şişirme Uygulanmış	64.0	2.56	0.27
Şişirme Uygulanmamış	112.5	4.50	0.45

Karoten Pigment Ekstraksiyonu Kinetiği

Şişirilmiş ve şişirilmemiş DPPK ile yapılan deneyler sonucunda bulunan C_k ve t değerlerinden yararlanarak, ikinci derece ekstraksiyon kinetik modelin deneysel sonuçlara uygunluğu araştırılmış ve bulunan sonuçlar aşağıda sunulmuştur.

t/C_k 'ye karşı t değerleri grafiğe alınarak elde edilen doğruların (Şekil 5.28.) eğim değerlerinden teorik ekstraksiyon dengesi durumunda çözücüye geçen karoten pigment derişimi (C_{sk}) değerleri, doğruların grafiğin y eksenini kesim noktalarından ikinci derece ekstraksiyon sabiti (k_k) değerleri bulunmuş, R^2 değerleri ve Eşitlik 3.9'dan hesaplanan ve deneysel bulunan başlangıç ekstraksiyon hız değerleri ile birlikte Çizelge 5.18.'de verilmiştir. Çizelgeden görüldüğü ve beklendiği üzere, ön işlem uygulanmış KPPK'dan karoten pigment ekstraksiyonunda elde edilen değerler ön işlem uygulanmamış KPPK'dan karoten pigment ekstraksiyonundaki değerlerden daha düşük elde edilmiştir.



Şekil 5.28. Şişirme Uygulanmış ve Uygulanmamış DPPK'dan Karoten Pigment Ekstraksiyonunda Edilen İkinci Derece Kinetik Doğruları

Çizelge 5.18. Şişirme Uygulanmış ve Uygulanmamış DPPK'dan Karoten Pigment Ekstraksiyonunda Elde Edilen İkinci Derece Kinetik Sabitler, Teorik ve Deneysel Başlangıç Hızları ve Teorik Denge ve Deneysel Kararlı Durumda Birim Çözücü Hacmi Başına Ekstrakte Edilen Karoten Pigment Miktarları

Ön İşlem	k_k (L/g dk)	$h_{k,teo} \times 10^3$ (g/L dk)	$h_{k,den} \times 10^3$ (g/L dk)	C_{sk} (g/L)	C_{mk} (g/L)	R^2
Şişirme Uygulanmış	0.036	0.66	0.22	0.116	0.064	0.999
Şişirme Uygulanmamış	0.049	1.33	0.88	0.165	0.112	0.989

5.1.2. Kurutulmuş Posasız Dış Portakal Kabuğu (KPDPK) ile Yapılan Çalışmalar

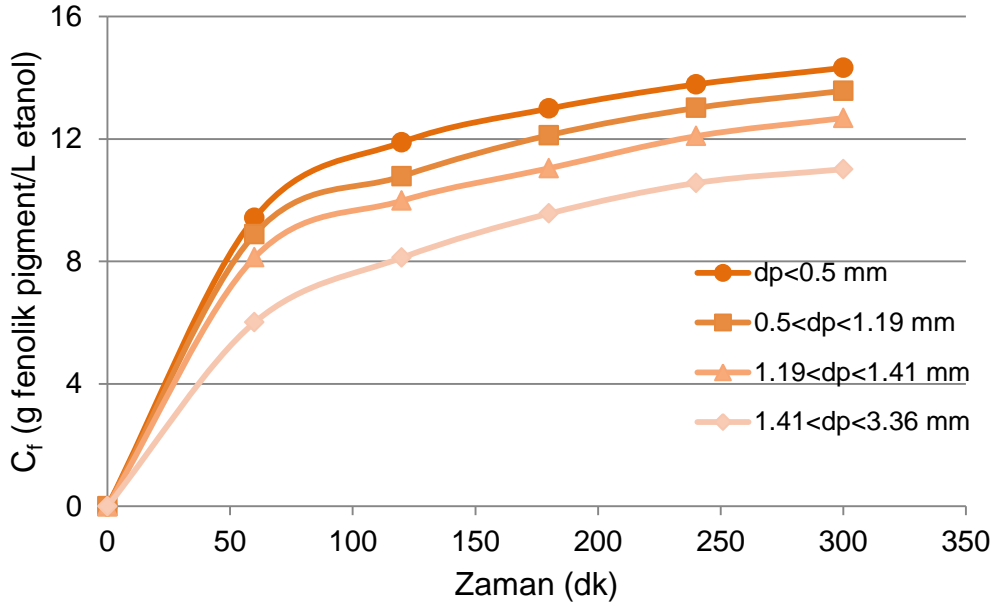
5.1.2.1. Tanecik Boyutu Etkisi

% 97'lik etanol çözücüsü ile 79°C'da 40:1 kg/L S/K oranında yapılan KPDPK'dan fenolik pigment ve karoten pigment ekstraksiyonu çalışmalarında, tanecik boyut aralığının ekstraksiyon kinetiği ve verimi üzerine etkileri araştırılmış ve elde edilen sonuçlar aşağıda sunulmuştur.

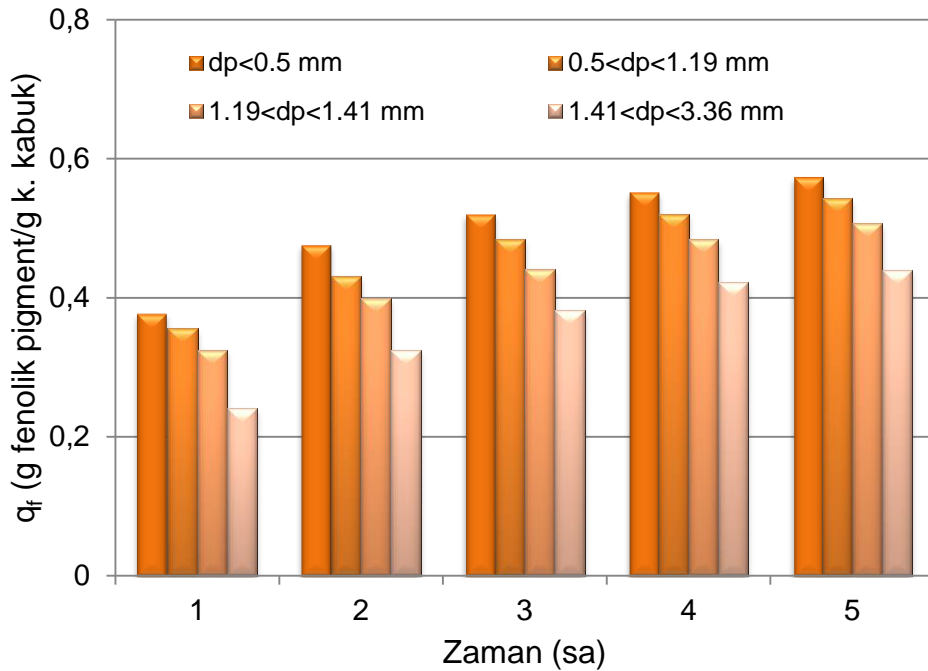
Fenolik Pigment Ekstraksiyonu Sonuçları

Etanole geçen fenolik pigment derişiminin tanecik boyutuna bağlı olarak zamanla değişim eğrileri Şekil 5.29.'da, birim kuru kabuk kütlesi başına özütlenen fenolik pigment miktarının zamanla değişimi ise sütun grafiklerle Şekil 5.30.'da verilmiştir. Her iki şekilden de tanecik boyutu küçüldükçe çözücüye geçen fenolik pigment derişiminin ve birim kuru kabuk kütlesi başına özütlenen fenolik pigment miktarının az da olsa arttığı, en büyük tanecik boyutu hariç tüm taneciklerle yapılan çalışmalarda birinci saatin sonunda ekstraksiyonun büyük ölçüde tamamlandığı gözlenmektedir. Birinci saatin sonunda 0.5 mm'den küçük taneciklerden fenolik pigment ekstraksiyonunda özütlemenin % 65.8'inin, 1.41-3.36mm aralığındaki taneciklerden fenolik pigment ekstaksiyonunda ise özütlemenin % 54.6'sının tamamlandığı görülmektedir. Yine her iki şekilden de tüm tanecik boyutlarında soksalet ekstraksiyonunun birinci saatinde çözücüye geçen ve birim kabuk başına özütlenen fenolik pigment miktarlarının hızlı bir artış gösterdiği, ekstraksiyonun ilerleyen sürelerinde özütlemenin azalarak arttığı, 4-5 saatin sonunda kararlı hale ulaşarak özütlenen fenolik pigment derişiminin hemen hemen sabit kaldığı gözlenmektedir. Şekil 5.29.'dan çalışılan tüm tanecik boyut aralıklarında bir saatin sonunda gözlenen yüksek hız ve verimlilik değerleri, fenolik pigmentin kuru portakal kabuğu taneciklerinin yüzeyinde daha fazla olduğunu göstermektedir. İlerleyen sürelerde ise çözücünün taneciklerin içine doğru difüzlenererek tanecik içindeki pigmenti çözme ve pigmenti içeren çözücünün tekrar tanecik dışına difüzlenermesi basamaklarından dolayı daha düşük hız ve verim değerleri elde edilmiştir. En büyük tanecik boyut aralığı hariç çalışılan diğer tanecik boyut aralıklarında yüksek ve benzer hız ve verim değerlerinin elde edilmesi bu boyut aralıklarında tanecik boyutunun ekstraksiyona etkisinin KPDPK'dan fenolik pigment ekstraksiyonu kadar

etkili olmadığını göstermektedir. Bunun nedeni sistemde karıştırma olmamasından dolayı çözücünün büyük taneciklerin yüzeyine ulaşmasının zorluğuyla açıklanabilir.



Şekil 5.29. KPDPK'dan Fenolik Pigment Ekstraksiyonunda Tanecik Boyutunun Çözücüye Geçen Fenolik Pigment Derişimine Etkisi (Sıcaklık=79°C; S/K=40:1 L/kg; Çözücü=% 97'lik Etanol)



Şekil 5.30. KPDPK'dan Fenolik Pigment Ekstraksiyonunda Tanecik Boyutunun Birim Kuru Kabuk Kütlesi Başına Özütlenen Fenolik Pigment Miktarına Etkisi (Sıcaklık=79°C; S/K=40:1 L/kg; Çözücü=% 97'lik Etanol)

Kararlı durumda farklı tanecik boyutlarında elde edilen birim çözücü hacmi başına ekstrakte edilen fenolik pigment miktarları, birim kuru kabuk kütlesi başına ekstrakte edilen fenolik pigment miktarları ve % fenolik pigment verimleri Çizelge 5.19.'da sunulmuştur. Çizelgeden küçük boyutlu taneciklerden özütlenen fenolik pigment derişimlerinin ve ekstraksiyon verimlerinin yakın olduğu, en büyük boyutlu taneciklerde ise daha düşük değerlerin elde edildiği görölmektedir. 1.41-3.36 mm boyut aralığındaki taneciklerle çalışıldığında elde edilen özütlenen fenolik pigment derişimi ve fenolik pigment verimi sırasıyla 11.0 g/L ve % 44 iken, bu değerler 0.5 mm'den küçük taneciklerle çalışıldığında 14.3 g/L ve % 57.3 değerlerine ulaşmıştır.

Çizelge 5.19. KPDPK'dan Fenolik Pigment Ekstraksiyonunda Farklı Tanecik Boyut Aralıklarında Elde Edilen Kararlı Durumda Birim Çözücü Hacmi Başına Ekstrakte Edilen Fenolik Pigment Miktarları (C_{mf}), Birim Kuru Kabuk Kütlesi Başına Ekstrakte Edilen Fenolik Pigment Miktarları (q_{mf}) ve % Fenolik Pigment Verimleri

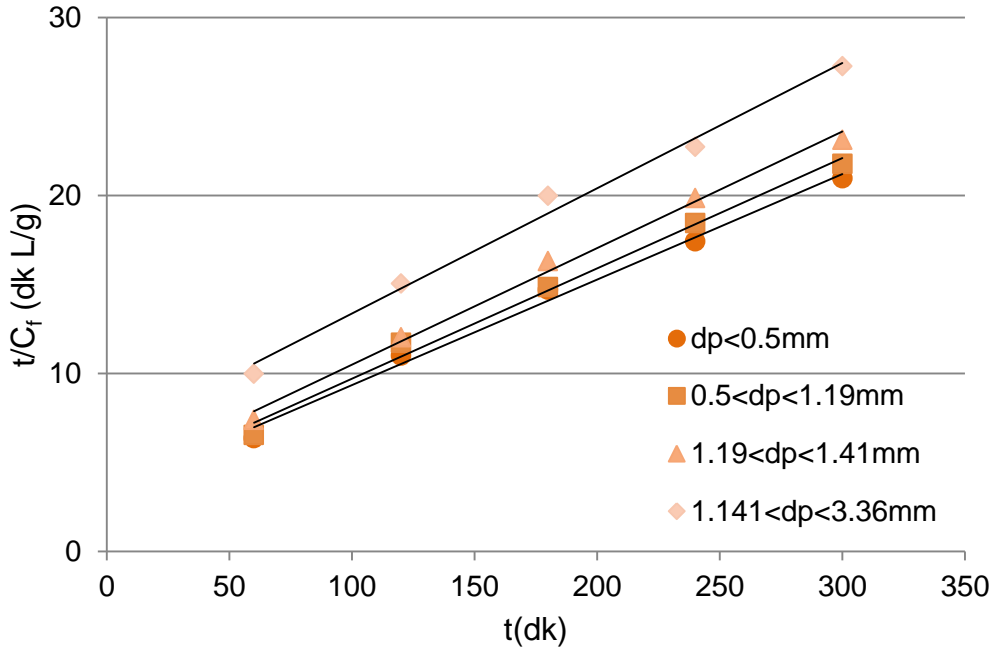
d_p (mm)	C_{mf} (g/L)	q_{mf} (g/g)	% Fenolik Pigment Verimi
<0.5	14.32	0.57	57.3
0.5-1.19	13.78	0.55	55.1
1.19-1.41	13.00	0.52	51.9
1.41-3.36	11.01	0.44	44.0

Fenolik Pigmentin Ekstraksiyon Kinetiği

KPDPK'ya fenolik pigment ekstraksiyonunda da Eşitlik 3.5.'te verilen ve tüm bu basamakları içeren ikinci derece ekstraksiyonu kinetik modeli deneysel verilere uygulanarak modelin geçerliliği araştırılmış ve bulunan sonuçlar aşağıda sunulmuştur.

Çalışılan tüm tanecik boyut aralıklarında t/C_f 'ye karşı t değerleri grafiğe alınarak elde edilen doğruların (Şekil 5.31.) eğim değerlerinden teorik ekstraksiyon dengesi durumunda çözücüye geçen fenolik pigment derişimi (C_{sf}) değerleri, doğruların grafiğin y eksenini kesim noktalarından ikinci derece ekstraksiyon sabiti (k_f) değerleri bulunmuş ve R^2 değerleri ile birlikte Çizelge 5.20.'de verilmiştir. Çizelgede

ayrıca farklı tanecik boyut aralıklarında Eşitlik 3.9.'dan hesaplanan başlangıç ekstraksiyon hız değerleri deneysel değerlerle birlikte sunulmaktadır. Çizelgeden de görüldüğü üzere, tüm kinetik parametreler çalışılan en büyük tanecik boyut aralığı hariç birbirine yakın çıkmış, en büyük taneciklerle en düşük başlangıç ekstraksiyon hızı, ekstraksiyon hız sabiti ve teorik dengede çözücüye geçecek olan fenolik pigment derişimi değerleri elde edilmiştir [97].

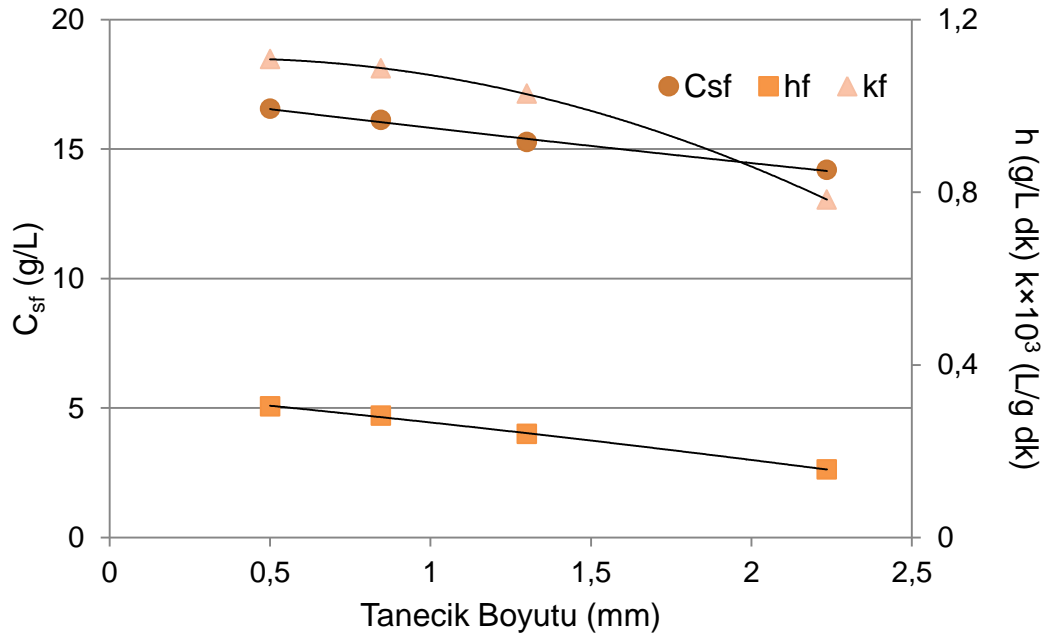


Şekil 5.31. KPDPK'dan Fenolik Pigment Ekstraksiyonunda Farklı Tanecik Boyut Aralıklarında Elde Edilen İkinci Derece Kinetik Doğruları

Çalışılan tanecik boyut aralığında çalışılmayan herhangi bir boyut aralığındaki kinetik sabitleri tahmin etmek amacı ile tanecik boyutu ile değişen C_{sf} , k_f ve h_f değerleri tanecik boyutuna karşı grafiğe alınarak Şekil 5.32.'de verilen eğriler elde edilmiştir. Bu eğrilerden Office Excel 2007 programı yardımıyla bulunan sırasıyla C_{sf} , k_f ve h_f , değişkenlerinin tanecik boyutuna (d_p) bağlı olarak uydukları üssel, polinomial ve polinomial fonksiyonlar Eşitlik 5.18., 5.19. ve 5.20.'de R^2 değerleri ile verilmiştir.

Çizelge 5.20. KPDPK'dan Fenolik Pigment Ekstraksiyonunda Farklı Tanecik Boyut Aralıklarında Elde Edilen İkinci Derece Kinetik Sabitler, Teorik ve Deneysel Başlangıç Hızları ve Teorik Dengede ve Deneysel Kararlı Durumlarda Birim Çözücü Hacmi Başına Ekstrakte Edilen Fenolik Pigment Miktarları

d_p (mm)	$k_f \times 10^3$ (L/g dk)	$h_{f,teo}$ (g/L dk)	$h_{f,den}$ (g/L dk)	C_{sf} (g/L)	C_{mf} (g/L)	R^2
<0.5	1.109	0.304	0.157	16.56	14.32	0.992
0.5-1.19	1.087	0.282	0.153	16.12	13.78	0.992
1.19-1.41	1.028	0.239	0.135	15.27	13.00	0.994
1.41-3.36	0.783	0.158	0.100	14.20	11.01	0.991



Şekil 5.32. KPDPK'ya Fenolik Pigment Ekstraksiyonunda Elde Edilen Denge Fenolik Pigment Derişimi (C_{sf})'nin, Ekstraksiyon Hız Sabiti (k_f)'nin ve Başlangıç Ekstraksiyon Hızı (h_f)'nin Tanecik Boyutuyla Değişim Eğrileri

$$C_{s(D)} = 17.305e^{-0.09d_p} \quad R^2 = 0.992 \quad (5.18.)$$

$$k_D = -0.0924 \times 10^{-3}d_p^2 - 0.0654 \times 10^{-3}d_p + 1.09 \times 10^{-3} \quad R^2 0.999 \quad (5.19.)$$

$$h_D = 0.0061d_p^2 - 0.0685d_p + 0.3412 \quad R^2 = 0.998 \quad (5.20.)$$

Çalışılmayan herhangi bir tanecik boyut aralığında herhangi bir zamanda çözücüye geçen fenolik pigment derişimini tahmin etmek için ise Eşitlik 3.10.'da yer alan h_f ve C_{sf} 'in d_p 'ye bağı fonksiyonları eşitliğe yerleştirilerek Eşitlik 5.21. elde edilmiştir.

$$C_t = \frac{t}{\frac{1}{(0.0061d_p^2 - 0.0685d_p + 0.3412)} + \frac{t}{(17.305e^{-0.09d_p})}} \quad (5.21.)$$

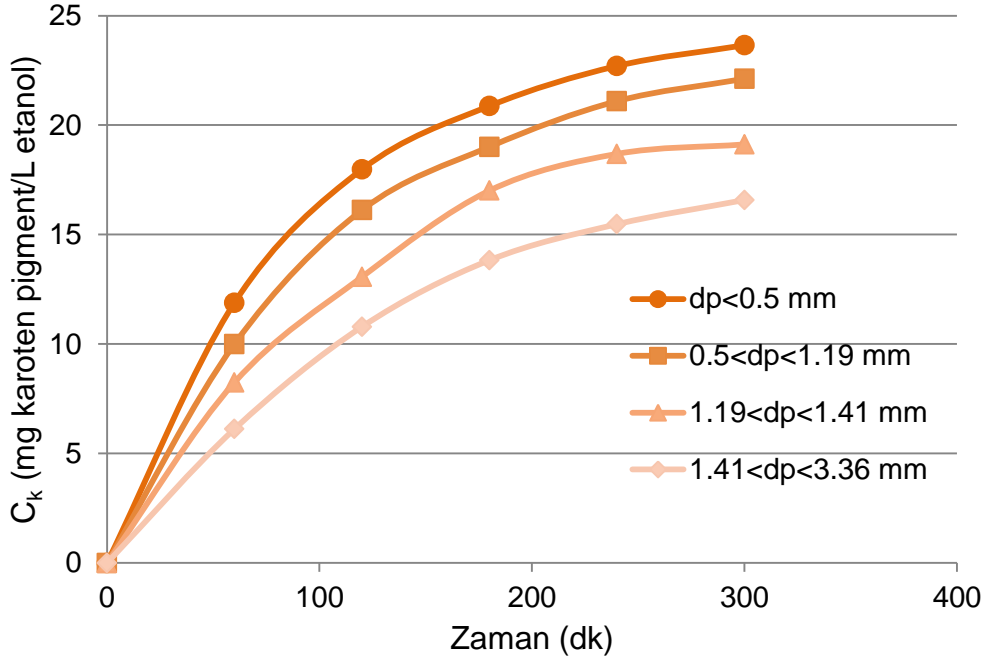
Çizelge 5.21.den en büyük ortalama tanecik boyutunda ortalama % hata değerleri daha küçük ortalama tanecik boyutundaki ortalama % hata değerlerinden daha yüksek çıkmış olsa da genel olarak ortalama % hata değerlerinin düşük bulunması Eşitlik 3.21.'in herhangi bir tanecik boyutunda ve herhangi bir zamanda etanole özütlenen fenolik pigment derişiminin yaklaşık olarak doğru olarak bulunmasında kullanılabileceğini göstermektedir.

Çizelge 5.21. KPDPK'dan Fenolik Pigment Ekstraksiyonunda Ortalama Tanecik Boyutunda Elde Edilen Deneysel C_f Değerlerinin Teorik C_f Değerleri ile % Hata Değerleri Verilerek Karşılaştırılması

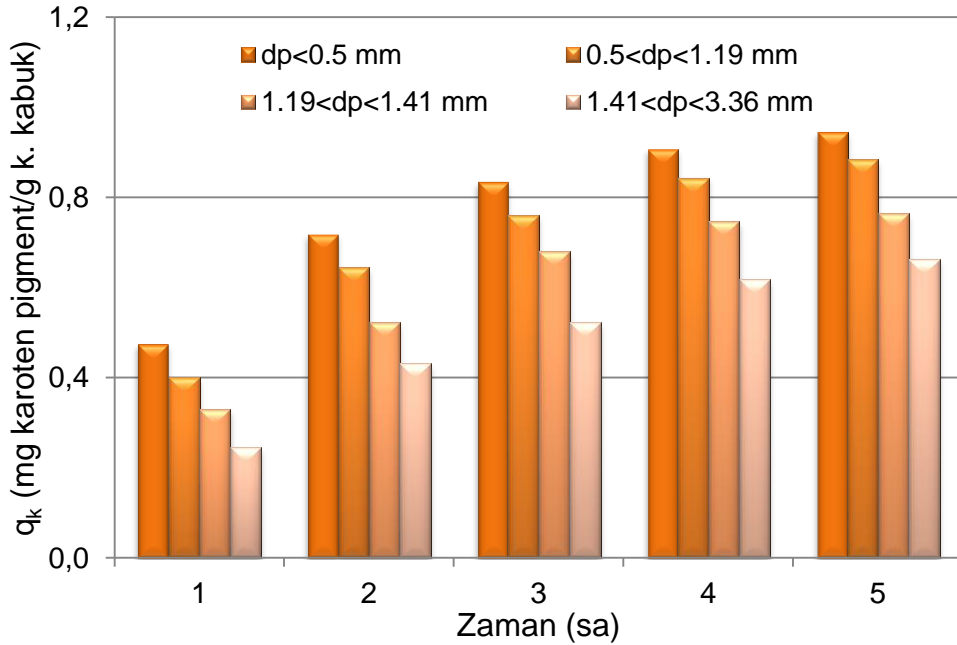
$D_{p,ort}=0.5$ mm			
t(dk)	$C_{f,den}(g/L)$	$C_{f,teo}(g/L)$	%Hata
60	9.42	8.73	7.28
120	10.90	11.43	4.87
180	12.24	12.70	4.11
240	13.78	13.52	1.89
300	14.32	14.03	2.02
Ortalama % Hata			4.06
$D_{p,ort}=0.845$ mm			
t(dk)	$C_{f,den}(g/L)$	$C_{f,teo}(g/L)$	%Hata
60	9.17	8.31	9.35
120	10.24	10.95	6.92
180	12.12	12.24	1.01
240	13.01	13.01	0.02
300	13.78	13.52	1.87
Ortalama % Hata			3.83
$D_{p,ort}=1.3$ mm			
t(dk)	$C_{f,den}(g/L)$	$C_{f,teo}(g/L)$	%Hata
60	8.13	7.78	4.26
120	9.98	10.34	3.59
180	11.04	11.61	5.15
240	12.09	12.37	2.30
300	12.98	12.87	0.82
Ortalama % Hata			3.22
$D_{p,ort}=2.235$ mm			
t(dk)	$C_{f,den}(g/L)$	$C_{f,teo}(g/L)$	%Hata
60	6.01	6.70	11.50
120	7.98	9.06	13.60
180	9.01	10.27	14.03
240	10.56	11.00	4.24
300	11.01	11.50	4.45
Ortalama % Hata			9.42

Karoten Pigment Ekstraksiyonu Sonuçları

KPPK'dan karoten pigment ekstraksiyonunda çözücüye geçen karoten pigment derişiminin tanecik boyutuna bağlı olarak zamanla değişim grafikleri Şekil 5.33.'te, birim kuru kabuk başına özütlenen karoten pigment miktarının zamanla değişimi ise sütun grafikler olarak Şekil 5.34.'te verilmiştir. Her iki şekilden de tanecik boyutu küçüldükçe yüzey alanının artmasına bağlı olarak çözücüye geçen karoten pigment derişiminin ve birim kuru kabuk kütlesi başına özütlenen karoten pigment miktarının arttığı, tüm tanecik boyut aralıklarında sokslet ekstraksiyonunun birinci saatinde çözücüye geçen ve birim kabuk kütlesi başına özütlenen karoten pigment miktarlarının hızlı bir artış gösterdiği, ekstraksiyonun ilerleyen sürelerinde ise özütlemenin azalarak arttığı, 4-5 saatin sonunda ise kararlı hale ulaşılarak özütlenen karoten pigment derişiminin hemen hemen sabit kaldığı görülmektedir. Sonuç olarak tüm tanecik boyutlarında başlangıç ekstraksiyon hızlarının yüksek çıkması, karoten pigmentin yüzeyde daha fazla olduğunu ve 4-5 saatlik bir ekstraksiyon süresinin karoten pigmentin özütlenmesinde kararlı hale gelmek için neredeyse yeterli olduğunu göstermektedir. Şekil 5.33.'ten tanecik boyutu azaldıkça başlangıç ekstraksiyon hızlarının ve ekstrakte edilen karoten pigment miktarlarının az da olsa arttığı gözlenmektedir. Bu durum tanecik çapı küçüldükçe kabuk yüzeyinde yer alan karoten pigment miktarının arttığını ve iç difüzyonun daha kısa sürede tamamlandığını göstermektedir. En büyük taneciklerle ise iç kısımlarda yer alan karoten pigmentin difüzyonunun daha uzun sürdüğü düşünölmektedir. Ayrıca tanecik boyutuyla başlangıç ekstraksiyon hızının azalması, sistemde karıştırmanın olmaması nedeniyle dış difüzyon dirençlerinin arttığını da göstermektedir.



Şekil 5.33. KPDPK'dan Karoten Pigment Ekstraksiyonunda Tanecik Boyutunun Çözücüye Geçen Karoten Pigment Derişimine Etkisi (Sıcaklık=79°C; S/K=40:1 L/kg; Çözücü =% 97'lik Etanol)



Şekil 5.34. KPDPK'dan Karoten Pigment Ekstraksiyonunda Tanecik Boyutunun Birim Kuru Kabuk Kütleşi Başına Özütlenen Karoten Pigment Miktarına Etkisi (Sıcaklık=79°C; SK=40:1 L/kg; Çözücü =% 97'lik Etanol)

Kararlı durumda farklı tanecik boyutlarında elde edilen birim kuru kabuk kütlesi başına ekstrakte edilen karoten pigment miktarları, birim çözücü hacmi başına ekstrakte edilen karoten pigment miktarları ve % karoten pigment verimleri Çizelge 5.22.'de sunulmuştur. Çizelgeden tanecik boyutu azaldıkça ve beklendiği üzere özütlenen karoten pigment derişiminin ve ekstraksiyon veriminin az da olsa arttığı görülmektedir. 1.41-3.36 mm boyut aralığındaki taneciklerle çalışıldığında elde edilen özütlenen karoten pigment derişimi ve karoten pigment verimi sırasıyla 16.6 mg/L ve % 0.066 iken, bu değerler 0.5 mm'den küçük taneciklerle çalışıldığında yaklaşık bir buçuk kat artarak 23.6 mg/L ve % 0.094 değerlerine ulaşmıştır.

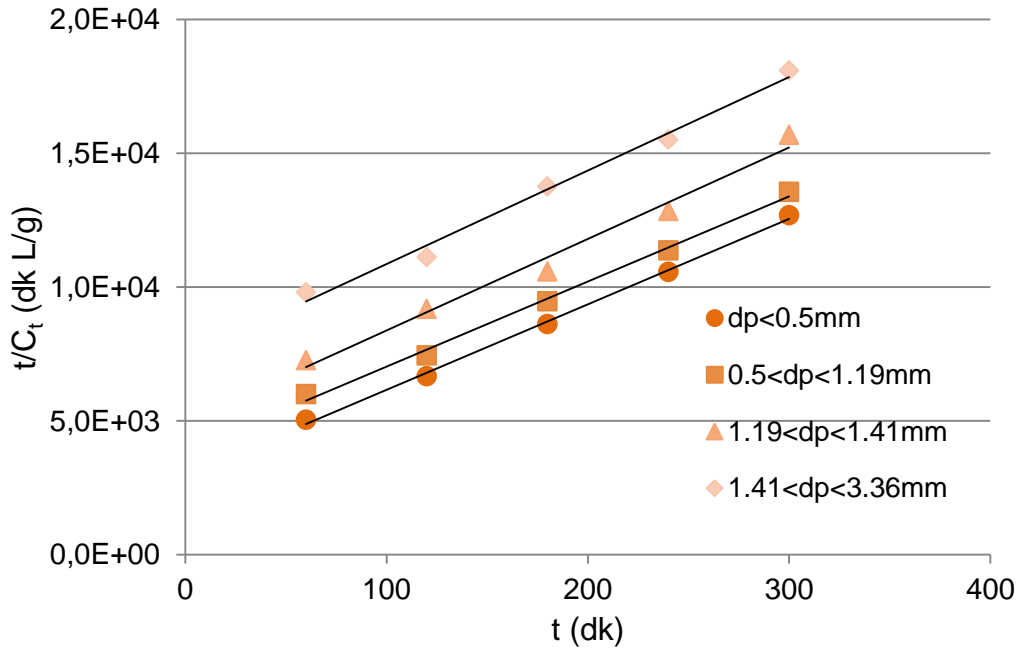
Çizelge 5.22. KPDPK'dan Karoten Pigment Ekstraksiyonunda Farklı Tanecik Boyut Aralıklarında Elde Edilen Kararlı Durumda Birim Çözücü Hacmi Başına Ekstrakte Edilen Karoten Pigment Miktarları (C_{mk}), Birim Kuru Kabuk Kütlesi Başına Ekstrakte Edilen Karoten Pigment Miktarları (q_{mk}) ve % Karoten Pigment Verimleri

d_p (mm)	C_{mk} (mg/L)	q_{mk} (mg/g)	% Karoten Pigment Verimi
<0.5	23.6	0.94	0.094
0.5-1.19	22.1	0.88	0.088
1.19-1.41	19.1	0.76	0.076
1.41-3.36	16.6	0.66	0.066

Karoten Pigmentin Ekstraksiyon Kinetiği

KPDPK'ya karoten pigment ekstraksiyonuna da ikinci derece kinetik modelin uygulanması için çalışılan tüm tanecik boyut aralıklarında t/C_k 'ye karşı t değerleri grafiğe alınarak elde edilen doğruların (Şekil 5.35.) eğim değerlerinden teorik ekstraksiyon dengesi durumunda çözücüye geçen karoten pigment derişimi (C_{sk}) değerleri, doğruların grafiğin y eksenini kesim noktalarından ikinci derece ekstraksiyon sabiti (k_k) değerleri bulunmuş ve R^2 değerleri ile birlikte Çizelge 5.23.'te verilmiştir. Çizelgede ayrıca farklı tanecik boyut aralıklarında Eşitlik 3.9.'dan hesaplanan başlangıç ekstraksiyon hız değerleri deneysel değerlerle birlikte sunulmuş ve karşılaştırılmıştır. Çizelgeden de görüldüğü ve beklendiği üzere, tüm

kinetik parametreler tanecik boyutu ile ters orantılı olarak değişmektedir. 0.5 mm'den küçük taneciklerle en yüksek başlangıç ekstraksiyon hızına, ekstraksiyon hız sabitine ve teorik dengede çözücüye geçecek olan karoten pigment derişimine ulaşılmıştır. Çizelgeden özellikle büyük taneciklerden elde edilen teorik denge C_{sk} ve deneysel kararlı hal C_{mk} değerlerinin birbirinden çok farklı olması, büyük taneciklerle çalışıldığında ekstraksiyonun tamamlanması için beş saatlik sürenin yetmediğini göstermektedir.

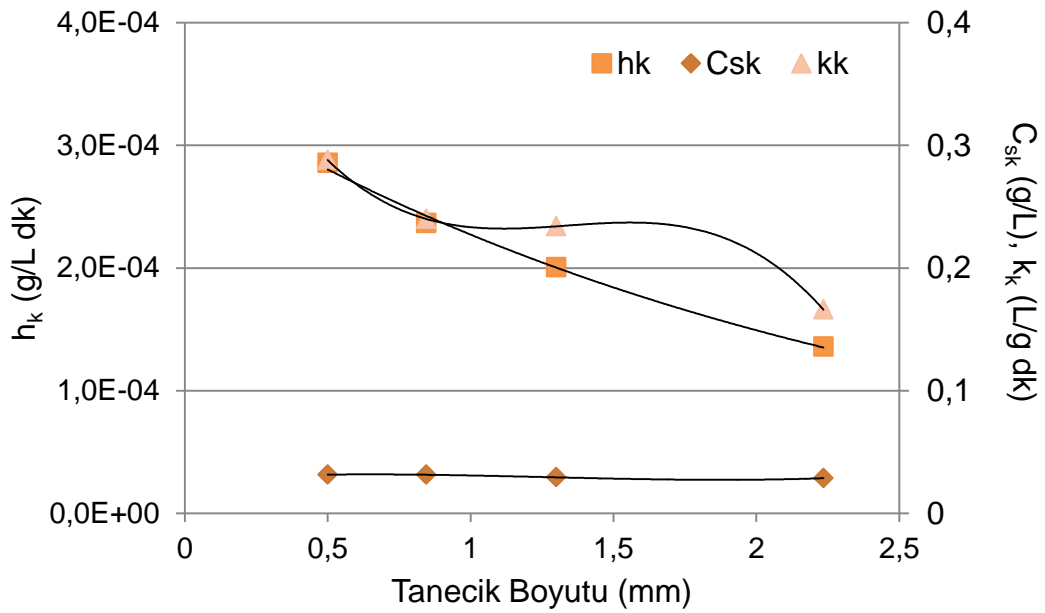


Şekil 5.35. KPDPK'dan Karoten Pigment Ekstraksiyonunda Farklı Tanecik Boyut Aralıklarında Elde Edilen İkinci Derece Kinetik Doğruları

Çalışılan tanecik boyut aralığında çalışılmayan herhangi bir boyut aralığındaki kinetik sabitleri tahmin etmek amacı ile tanecik boyutu ile değişen C_{sk} , k_k ve h_k değerleri tanecik boyutuna karşı grafiğe alınarak Şekil 5.36.'da verilen eğriler elde edilmiştir. Bu eğrilerden Office Excel 2007 programı yardımıyla bulunan sırasıyla C_{sk} , k_k ve h_k , değişkenlerinin tanecik boyutuna (d_p) bağlı olarak uydukları polinomial, polinomial ve eksponansiyel fonksiyonlar Eşitlik 5.22., 5.23. ve 5.24.'te R^2 değerleri ile verilmiştir.

Çizelge 5.23. KPDPK'dan Karoten Pigment Ekstraksiyonunda Farklı Tanecik Boyut Aralıklarında Elde Edilen İkinci Derece Kinetik Sabitler, Teorik ve Deneysel Başlangıç Hızları ve Teorik Dengede ve Deneysel Kararlı Durumlarda Birim Çözücü Hacmi Başına Ekstrakte Edilen Karoten Pigment Miktarları

d_p (mm)	k_k (L/g dk)	$h_{k,teo.} \times 10^3$ (g/L dk)	$h_{k,den.} \times 10^3$ (g/L dk)	C_{sk} (g/L)	C_{mk} (g/L)	R^2
<0.5	0.288	0.286	0.198	0.0315	0.0236	0.998
0.5-1.19	0.240	0.237	0.167	0.0371	0.0221	0.983
1.19-1.41	0.234	0.200	0.137	0.0293	0.0191	0.994
1.41-3.36	0.166	0.136	0.102	0.0286	0.0166	0.988



Şekil 5.36. KPDPK'dan Karoten Pigment Ekstraksiyonunda Denge Karoten Pigment Derişimi (C_{sk})'nin, Ekstraksiyon Hız Sabiti (k_k)'nin ve Başlangıç Ekstraksiyon Hızı (h_k)'nin Tanecik Boyutuyla Değişim Eğrileri

$$C_{s(D)} = 0.0048d_p^3 - 0.0181d_p^2 - 0.0174d_p + 0.0267 \quad R^2 = 1.0 \quad (5.22)$$

$$k_D = -0.1154d_p^3 + 0.4627d_p^2 - 0.60d_p + 0.4875 \quad R^2 = 1.0 \quad (5.23)$$

$$h_D = 0.0003e^{-0.42d_p} \quad R^2 = 0.997 \quad (5.24)$$

Çalışılmayan herhangi bir tanecik boyut aralığında herhangi bir zamanda çözücüye geçen karoten pigment derişimini öngörmek için Eşitlik 3.10.'da yer alan h_k ve C_{sk} 'nın d_p 'ye bağı fonksiyonları eşitliğe yerleştirilerek Eşitlik 5.25. elde edilir.

$$C_t = \frac{t}{\frac{1}{(0.0003e^{-0.42d_p})} + \frac{t}{(0.0048d_p^3 - 0.0181d_p^2 - 0.0174d_p + 0.0267)}} \quad (5.25)$$

5.2. *Rhodotorula glutinis* Mayası ile β -Karoten Üretim Çalışmaları

Mikrobiyal yolla üretilen β -Karotenin insan sağlığı açısından daha faydalı olmasından ve mayaların daha yüksek verimde karotenoid pigmentler üretebilmelerinden dolayı, endüstriyel üretimde kullanılacak mayaların β -Karoten üretim kapasitelerinin araştırılması ve kapasitelerinin artırılması çalışmalarının gerçekleştirilmesi gerekmektedir [75]. Çalışmanın bu kısmında Ankara Üniversitesi Biyoloji Bölümünden sağlanan *Rhodotorula glutinis* mayası ile kesikli karıştırmalı sistemde β -Karoten üretim çalışmaları yapay ve mikroorganizmanın karbon kaynağı olarak kullanabileceği düşüncesiyle atık portakal kabuklarından hazırlanmış doğal besin ortamlarında gerçekleştirilmiştir. Yapay besin ortamında farklı başlangıç glukoz derişimlerinde yapılan fermentasyon çalışmalarında başlangıç substrat derişiminin mikroorganizmanın üremesine ve pigment üretimine etkileri araştırılmıştır. Atık portakal kabuklarından hazırlanan doğal besin ortamında mikroorganizmanın hem üretimi hem de β -Karoten üretmesi sağlanmış ve mikrobiyal üreme ve ürün üretimine portakal kabuğu türü (yaş-kuru portakal kabuğu), başlangıç pH'ı, katı/sıvı oranı ve bu orandaki toplam indirgen şeker (substrat) derişiminin etkileri incelenmiştir.

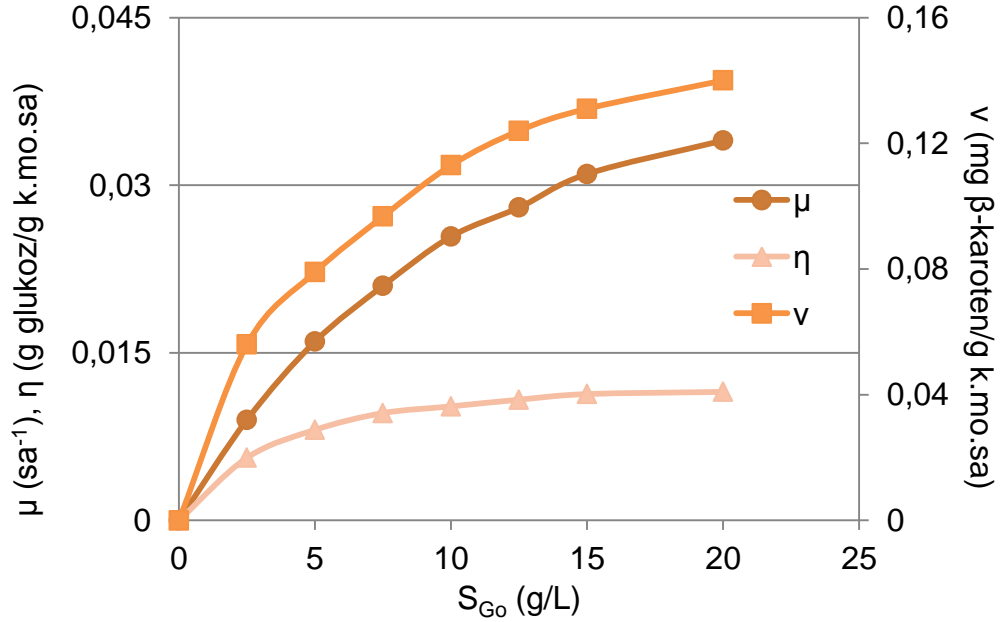
5.2.1. Yapay Besin Ortamında Yapılan Çalışmalar

5.2.1.1. Başlangıç Substrat Derişiminin Etkisi

Mikroorganizmaların üremesini ve ürün üretimini doğrudan etkileyen ve büyümeyi sınırlayan ana besin maddesi olan substrat, karbon ve enerji kaynağı olarak kullandıkları glukoz, fruktoz, laktoz ve sakkaroz gibi şeker türleridir. Yapay besin ortamı çalışmalarında substrat türü olarak glukoz kullanılmıştır.

Başlangıç glukoz derişiminin *R. glutinis'in* özgül üreme, β -Karoten oluşturma ve glukoz tüketim hızlarına etkisi 29°C sabit sıcaklıkta, glukoz derişimi 2.5-20 g/L aralığında değiştirilerek başlangıç pH değeri 5.5'te incelenmiş ve elde edilen sonuçlar Şekil 5.37.'de gösterilmiştir. Şekilden glukoz derişiminin 20 g/L'ye kadar artmasıyla hem özgül üreme hızının hem de üstel üreme bölgesindeki ürün oluşum ve substrat tüketim hız değerlerinin arttığı ve bu derişim aralığında substrat inhibisyonu olmadığı gözlenmektedir. Çizelge 5.24.'te ise farklı başlangıç glukoz derişimlerinde elde edilen en yüksek kuru mikroorganizma ve β -Karoten derişimleri ile başlangıç substrat ve en yüksek mikroorganizma derişimlerine bağlı ürün

verimleri sunulmuştur. Çizelgeden başlangıç glukoz derişiminin 2.5 g/L'den 20 g/L'ye kadar artmasıyla en yüksek mikroorganizma derişiminin 2.8 g k. mo./L'den 5.2 g k. mo./L'ye arttığı, en yüksek β -Karoten derişiminin ise 24.0 mg β -Karoten/L'den 101.0 mg β -Karoten/L'ye arttığı görülmektedir.

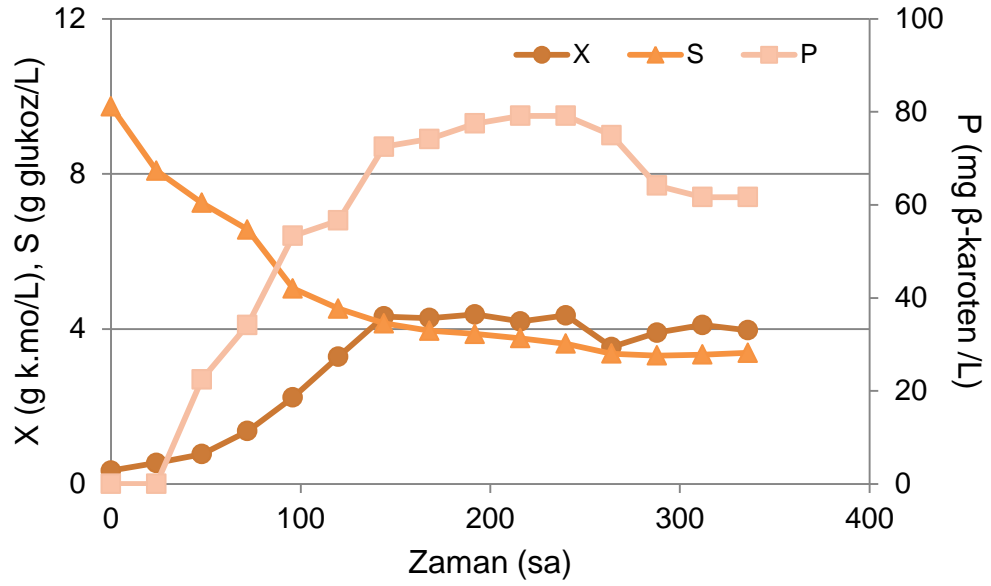


Şekil 5.37. Başlangıç Glukoz Derişiminin *R. glutinis*'in Özgül Üreme, β -Karoten Oluşum ve Glukoz Tüketim Hızlarına Etkisi (T=29°C; Başlangıç pH'ı=5.5; Çalkalama Hızı=120 rpm)

Çizelge 5.24. *R. glutinis* için Farklı Başlangıç Glukoz Derişimlerinde Elde Edilen En Yüksek Mikroorganizma ve β -Karoten Derişimleri ile β -Karoten Verim Değerleri

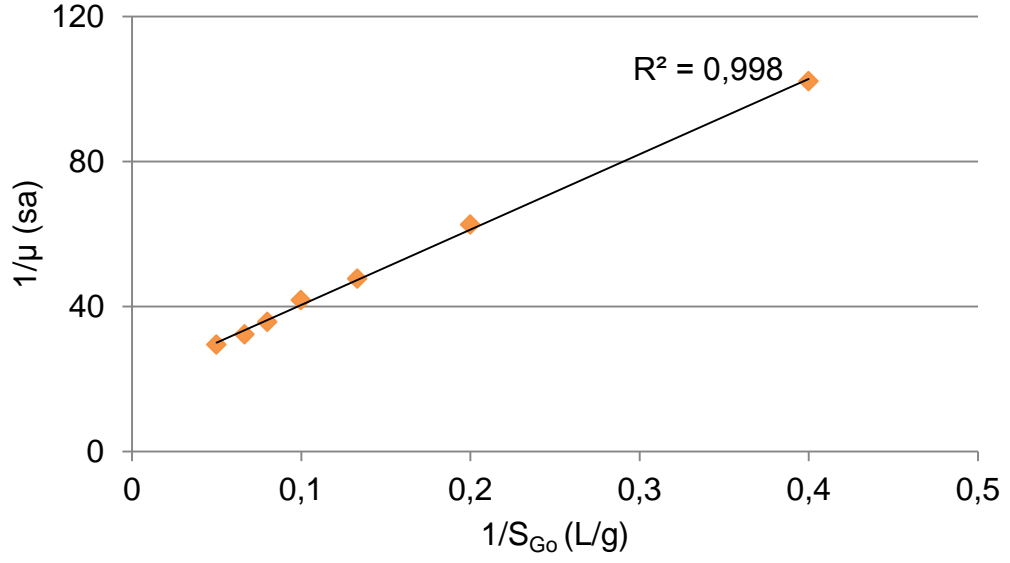
S_{Go} (g/L)	X_m (g/L)	P_m (mg/L)	Y_{P/S_0} (mg/g)	Y_{P/X_m} (mg/g)
2.5	2.8	24.3	9.6	8.6
5.0	3.4	44.6	8.8	13.0
7.5	3.8	61.1	8.1	16.1
10.0	4.2	79.9	7.9	19.1
12.5	4.7	90.3	7.1	19.3
15.0	4.9	94.9	6.3	19.3
20.0	5.2	101.2	5.1	19.4

Şekil 5.38.'de 10 g/L başlangıç glukoz derişiminde elde edilen mikroorganizma üreme, β -Karoten üretim ve glukoz tüketim eğrileri sunulmuştur. Bu grafikten mikroorganizmanın 48 saatlik bir gecikme süresinden sonra üstel üreme evresine girdiği 120. saate kadar üstel üreme bölgesinin devam ettiği daha sonra mikroorganizmanın üreme hızının azaldığı ve 144. saatin sonunda sabit evreye ulaştığı gözlenmektedir. Üstel üreme bölgesinde mikroorganizmanın özgül üreme hızı 0.0222 sa^{-1} olarak hesaplanmıştır. Sabit evrenin başında elde edilen en yüksek mikroorganizma derişimi ise 4.15 g k. mo./L 'dir. Ürün oluşum eğrisinden gecikme bölgesinde ürün oluşumunun gerçekleşmediği, üstel üreme bölgesinin başlamasıyla ürün oluşumunun da başladığı ve sabit bölgeye kadar ürün oluşumunun hızla arttığı, sabit bölgede ise ürün oluşumundaki artışın azalarak mikroorganizma üremesinden bağımsız olarak devam ettiği görülmektedir. Bu koşulda üstel üreme bölgesindeki mikroorganizmanın özgül ürün oluşum hızı $0.113 \text{ mg } \beta\text{-Karoten/g k. mo. sa}$ olarak hesaplanmış, en yüksek β -Karoten derişimi $79.2 \text{ mg } \beta\text{-Karoten/L}$ olarak bulunmuştur. 240. saatten sonra ise β -Karoten derişiminde azalma meydana geldiği görülmektedir. Bu azalmanın ürünün yapısındaki bozunmadan kaynaklandığı düşünülmektedir. Glukoz tüketim eğrisinden ise mikroorganizmanın ekiminin gerçekleştiği andan itibaren glukoz tüketiminin başladığı, üstel üreme bölgesine geçilmesiyle birlikte tüketimin hızlandığı, sabit evrenin sonuna yaklaşıldığında ise glukoz derişiminin belli bir değerde sabit kaldığı gözlenmiştir. Üstel üreme bölgesindeki mikroorganizmanın glukoz tüketim hızı $0.0102 \text{ g glukoz/g k. mo. sa}$ olarak hesaplanmıştır. Bu başlangıç glukoz derişiminde $7.9 \text{ mg } \beta\text{-Karoten/g glukoz}$ ve $19.1 \text{ mg } \beta\text{-Karoten/g k. mo}$ verim değerleri elde edilmiştir.

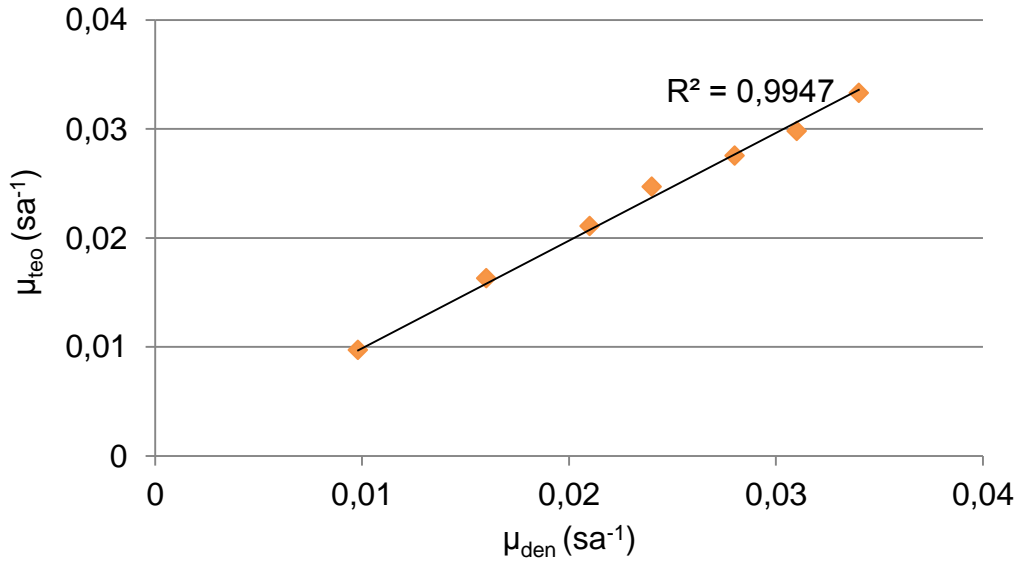


Şekil 5.38. *R. glutinis* için 10 g/L Başlangıç Glukoz Derişiminde Elde Edilen Mikroorganizmanın Üremesinin, β -Karoten Üretiminin ve Glukoz Tüketiminin Zamanla Değişim Eğrileri (T=29°C; Başlangıç pH'ı=5.5; Çalkalama Hızı=120 rpm)

Monod Eşitliğinin doğrusallaştırılmasıyla elde edilen Eşitlik 3.13.'e göre çizilen $1/\mu$ 'ye karşı $1/S_{G0}$ grafiğinden *R. glutinis*'in en yüksek özgül üreme hızı (μ_m) 0.0511 sa^{-1} , doygunluk sabiti K_s ise 10.63 g glukoz/L olarak bulunmuştur (Şekil 5.39). Monod eşitliğinin deneysel verilerle ne kadar uyumlu olduğunu göstermek için, teorik μ (μ_{teo}) değerlerine karşı deneysel μ değerleri (μ_{den}) grafiğe alınarak, 45° doğrusu üzerinde yer alıp almadıklarına bakılmıştır (Şekil 5.40). Deneysel ve teorik hız değerlerinin 45° doğrusu üzerinde yer alması ($R^2=1$) mükemmel uyumu ifade eder. Şekil 5.40.'dan ve elde edilen R^2 değerlerinden ($R^2=0.996$) Monod Eşitliğinin glukoz içeren yapay besin ortamındaki mikrobiyal büyümeyi oldukça iyi tanımladığı görülmektedir.



Şekil 5.39. Glukozlu Besin Ortamında *R. glutinis* için Elde Edilen 1/ μ 'ye Karşı 1/S_{G0} Grafiği

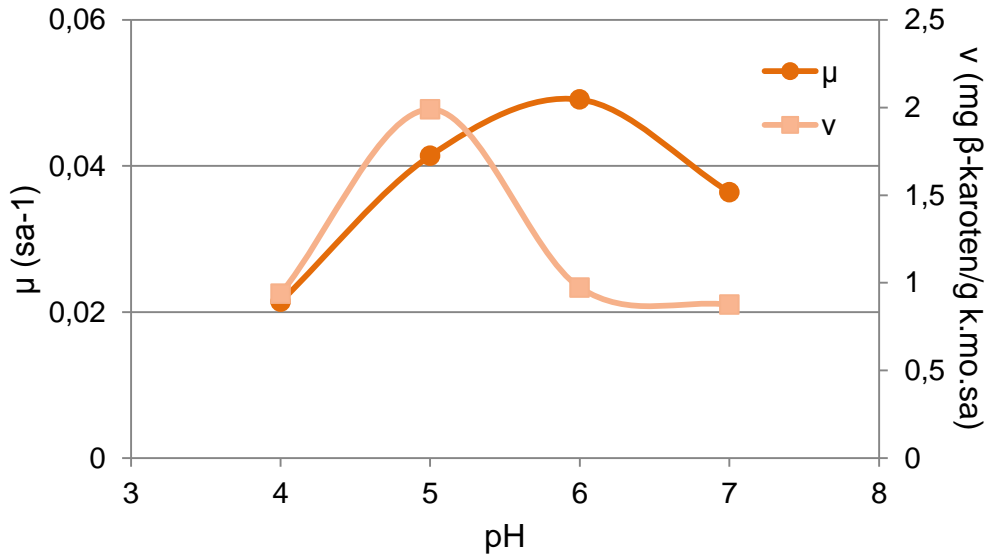


Şekil 5.40. *R. glutinis* için Deneysel ve Monod Eşitliğine Göre Bulunan Teorik μ Değerlerinin 45° Doğrusu Üzerinde Karşılaştırılması

5.2.2. Kuru Posalı Portakal Kabuğundan Elde Edilen Doğal Besin Ortamında Yapılan Çalışmalar

5.2.2.1. Başlangıç pH'ının Etkisi

Ortam pH'ı mikroorganizmanın üremesini ve β -Karoten üretimini etkileyen önemli parametrelerden bir tanesidir. Kuru posalı portakal kabuğundan hazırlanan doğal besin ortamında ortam pH'ının *R. glutinis'in* üremesi ve ürün üretmesine etkisi pH 4-7 aralığında değiştirilerek incelenmiştir. pH deneyleri için doğal besin ortamının hazırlanmasında 40 g kuru posalı portakal kabuğu ve 600 ml su (K/S=66.6:1 g/L, $S_{tiş}$ =27.5 g/L) kullanılmıştır. Şekil 5.41. başlangıç pH'ının mikroorganizmanın özgül üreme hızı ve ürün üretme hızına etkisini göstermektedir. Şekilden özgül üreme hızının pH'ın 6 ya kadar artmasıyla arttığı, pH 6'da 0.0491 sa^{-1} ile en yüksek değere ulaştığı ve daha sonra düştüğü görülmektedir. Ürün oluşum hızının ise pH'ın 5'e kadar artmasıyla arttığı, pH 5'te $1.99 \text{ mg } \beta\text{-Karoten/g.k.mo.sa}$ ile en yüksek değere ulaştığı daha sonrasında azaldığı görülmektedir.



Şekil 5.41. Kuru Posalı Portakal Kabuğundan Hazırlanmış Doğal Besin Ortamında Başlangıç pH'ının *R. glutinis'in* Özgül Üreme ve β -Karoten Oluşum Hızlarına Etkisi (T=29°C; Katı/Sıvı Oranı=66:1 g/L ($S_{tiş}$ = 27.5 g/L); Çalkalama Hızı=120 rpm)

Çizelge 5.25.'te ise farklı başlangıç pH değerlerinde elde edilen en yüksek mikroorganizma ve β -Karoten derişimleri ile ürün verimleri sunulmuştur. Çizelgeden pH 7'de en yüksek mikroorganizma derişim değerinin (4.73 g k.mo/L) elde edilmesine karşın en yüksek β -Karoten derişimi (361.7 mg β -Karoten/L) ve hem substrat derişimine bağlı verim değeri (12.06 mg β -Karoten /g subs.) hem de mikroorganizma derişimine bağlı ürün verimi (80.7 mg β -Karoten /g k.mo) pH 5'te elde edilmiştir. Ayrıca pH 5'te fermentasyon süresinin diğer pH değerlerine göre de daha kısa olduğu da saptanmıştır. Dikkati çeken bir diğer önemli husus ise portakal kabuğundan hazırlanan doğal besin ortamının pH değerinin 5.5 olarak ölçülmesidir. Bütün bu sonuçlar birlikte değerlendirildiğinde *R. glutinis* mayasıyla portakal kabuğundan hazırlanan doğal besin ortamında çalışma pH 'ı 5.5 olarak seçilmiştir.

Çizelge 5.25. Kuru Posalı Portakal Kabuğundan Hazırlanmış Doğal Besin Ortamında *R. glutinis* için Farklı Başlangıç pH Değerlerinde Elde Edilen En Yüksek Mikroorganizma ve β -Karoten Derişimleri ile β -Karoten Verim Değerleri

pH	X_m (g/L)	P_m (mg/L)	$Y_{P/So}$ (mg/g)	$Y_{P/Xm}$ (mg/g)	$Y_{P/M}$ (mg/g)
4	4.31	295.8	9.9	68.6	4.1
5	4.48	361.7	12.1	80.7	5.4
6	4.21	177.5	5.9	42.2	2.7
7	4.73	157.5	5.3	33.3	2.4

5.2.2.2 Katı/Sıvı Oranının (Başlangıç Substrat Derişiminin) Etkisi

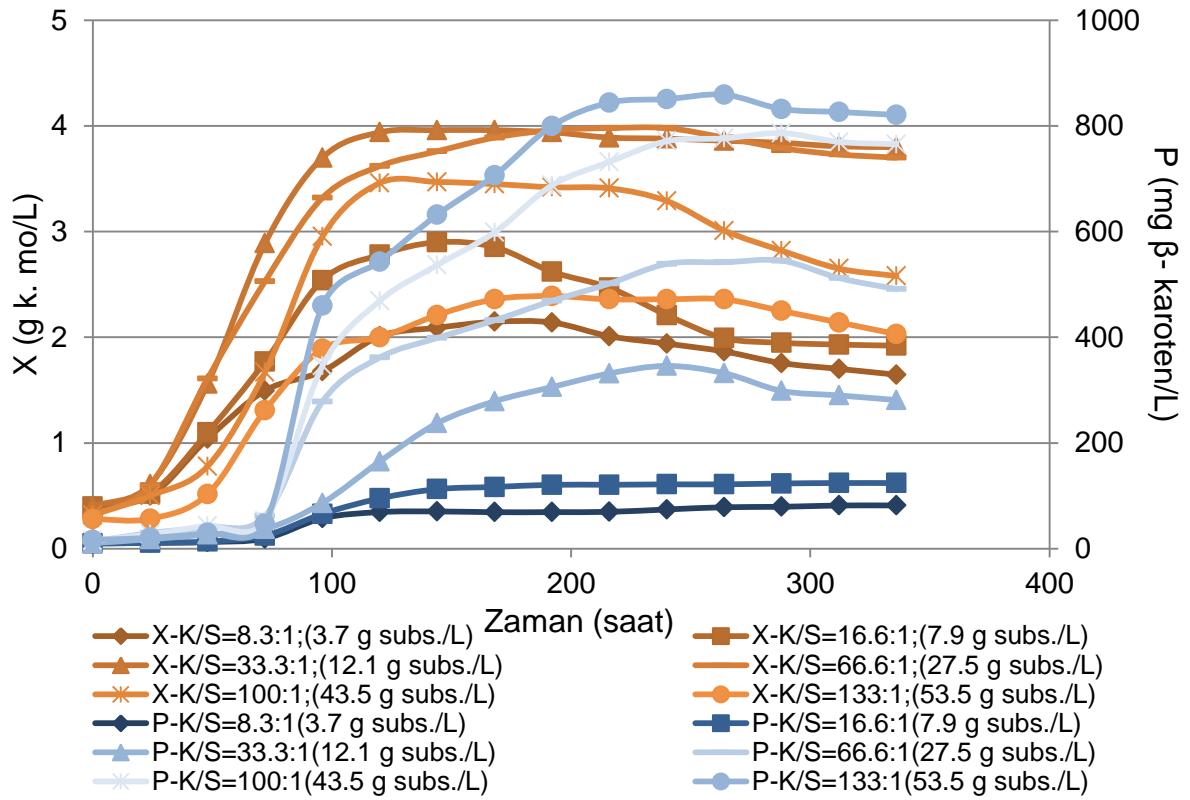
Başlangıç substrat derişiminin etkisinin incelendiği deneylerde her bir belli hacimdeki (600 ml su) doğal besin ortamına farklı miktarlarda kurutulmuş posalı kabuk eklenerek hem K/S oranının hem de başlangıç substrat derişiminin değiştirilmesi ve aynı zamanda besin ortamına geçen mineral miktarının da artırılması sağlanmıştır. K/S oranı 8.3:1 – 133.3:1 g/L aralığında değişirken, başlangıç substrat derişimi ($S_{tiş}$) 3.6 – 53.6 g/L aralığında değişmiştir. Tüm doğal besin ortamlarının başlangıç pH değerleri 5.5 olarak ölçülmüş ve tüm deneyler başka bir pH ayarlama işlemi yapılmadan bu pH değerinde gerçekleştirilmiştir. Çizelge 5.26.'da K/S oranının değiştirilmesiyle elde edilen toplam indirgen şeker

derişim değerleri verilmiştir. Çizelgeden kurutulmuş posalı portakal kabuğundan oldukça yüksek değerlerde şeker derişimi elde edilebildiği görülmektedir.

Çizelge 5.26. Kurutulmuş Portakal Kabuğundan Hazırlanmış Doğal Besin Ortamında K/S Oranının Değiştirilmesiyle Elde Edilen Toplam İndirgen şeker Derişim Değerleri

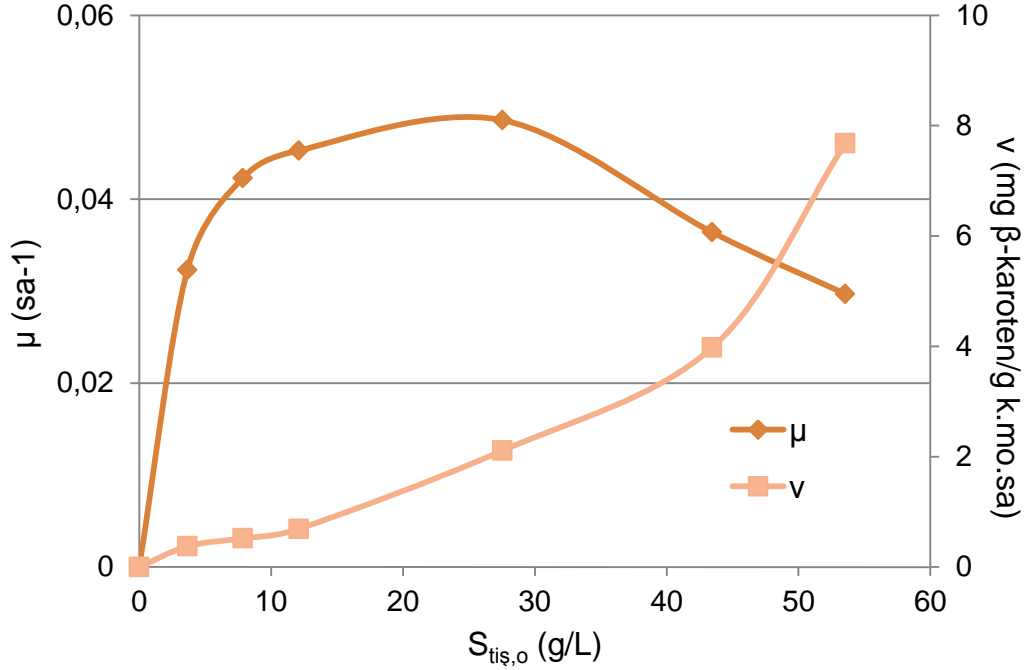
Katı/Sıvı Oranı (g/L)	8.3:1	16.6:1	33.3:1	66.6:1	100:1	133.3:1
Toplam İndirgen şeker Derişimi (g/L)	3.7	7.9	12.1	27.5	43.5	53.6

Kuru posalı portakal kabuğundan hazırlanmış doğal besin ortamında *R. glutinista* β -Karoten üretiminde farklı katı/sıvı oranlarında (farklı substrat derişimlerinde) elde edilen mikroorganizmanın üreme ve ürün üretim eğrileri şekil 5.42.'de verilmiştir. şekilden en yüksek K/S oranı (şeker derişimi) hariç tüm çalışılan K/S oranlarında (şeker derişimlerinde) mikroorganizma üremesinin yaklaşık 24 saat içinde üssel bölgeye geçtiği gözlenmektedir. Üssel reme bölgesinde K/S oranının 66.6:1 g/L'ye (şeker derişiminin 27.5 g/L'ye) kadar çıkmasıyla mikroorganizmanın zgl üreme hızının ve derişiminin arttığı, daha yüksek K/S oranlarında (şeker derişimlerinde) ise ortamdaki şeker ve diğer tanımlanamayan organik ve inorganik bileşenlerden dolayı inhibisyonun başladığı görülmektedir. 8.3:1 K/S oranında (3.7 g/L şeker derişiminde) elde edilen en yüksek mikroorganizma derişimi 2.9 g k. mo./L iken 66.6:1 K/L oranında (27.5 g/L şeker derişiminde) bu değer 4.0 g k. mo./L olarak saptanmıştır. Çalışılan en yüksek 133.3 K/S oranında (53.6 g/L şeker derişiminde) ise en yüksek mikroorganizma derişiminin 2.4 g k. mo./L'ye düştüğü gözlenmiştir. şekil 5.42.'de verilen ürün üretim eğrileri incelendiğinde ise β -Karoten üretiminin mikrobiyal remeyele paralel gitmediği, ancak 72. saatten itibaren β -Karoten üretiminin başladığı, K/S oranının (şeker derişimi) arttıķ mikroorganizmanın ürettiği β -Karoten miktarının arttığı ve β -Karoten üretiminin mikroorganizmanın durgun üreme evresinde de devam ettiği görülmektedir. En düşük 8.3:1 K/S oranında (şeker derişiminde) elde edilen β -Karoten derişimi 69.2 mg/L iken, en yüksek 133.3:1 K/S oranında (şeker derişiminde) bu değerin 481.9 mg/L'ye yükseldiği saptanmıştır.



Şekil 5.42. Kuru Posalı Portakal Kabuğundan Hazırlanmış Doğal Besin Ortamında *R. glutinis*ten β -Karoten Üretiminde Farklı Katı/Sıvı Oranlarında (Farklı Substrat Derişimlerinde) Elde Edilen Mikroorganizmanın Üreme ve Ürün Üretim Eğrileri (T=29°C; Başlangıç pH'ı=5.5; Çalkalama Hızı=120rpm)

Şekil 5.43.'te farklı K/S oranlarında (şeker derişimlerinde) elde edilen *R. glutinis*'in özgül üreme ve β -Karoten oluşum hızları görülmektedir. Şekilden K/S oranının 66.6:1 g/L'ye (şeker derişiminin 27.5 g/L'ye) kadar artmasıyla özgül üreme hızının arttığı, daha yüksek substrat derişimlerinde ise inhibisyondan dolayı özgül üreme hızının azaldığı gözlenmektedir. Ancak β -Karoten için substrat inhibisyonundan bağımsız olarak ürün oluşum hızının K/S oranı (şeker derişimi) arttıkça önemli ölçüde arttığı görülmektedir. Ürün oluşum hızındaki bu artışın stres koşullarından ve besin ortamına portakal kabuğundan geçen β -Karoten miktarındaki artıştan olduğu düşünülmektedir.



Şekil 5.43. Kuru Posalı Portakal Kabuğundan Hazırlanmış Doğal Besin Ortamında *R. glutinista*’den β -Karoten Üretiminde Katı/Sıvı Oranının (Substrat Derişiminin) Mikroorganizmanın Özgül Üreme ve β -Karoten Oluşum Hızlarına Etkisi ($T=29^{\circ}C$; Başlangıç pH’ı=5.5; Çalkalama Hızı=120 rpm)

Kuru posalı portakal kabuğundan hazırlanmış doğal besin ortamında *R. glutinista*’den β -Karoten üretiminde farklı katı/sıvı oranlarında (şeker derişimlerinde) elde edilen en yüksek mikroorganizma ve β -Karoten derişimleri ile en yüksek mikroorganizma derişimine, başlangıç substrat derişimine ve besin ortamının hazırlanmasında kullanılan kuru kabuk miktarına göre tanımlanan β -Karoten verim değerleri Çizelge 5.27.’de. sunulmuştur. Çizelgeden yine katı/sıvı oranının 66.6:1 g/L’ye (şeker derişiminin 27.5 g/L’ye) kadar artmasıyla elde edilen en yüksek mikroorganizma derişiminin arttığı, ancak bu değer’in 133.3:1 g/L katı /sıvı oranının (53.8 g/L şeker derişiminin) üzerinde düşmeye başladığı görülmektedir. Yine çizelgeden elde edilen en yüksek β -Karoten derişiminin katı/sıvı oranının artmasıyla önemli ölçüde arttığı gözlenmektedir. Ayrıca çizelgeden katı/sıvı oranının (şeker derişiminin) artmasıyla birim kuru mikroorganizma kütlesi başına elde edilen β -Karoten miktarının ($Y_{P/Xm}$) arttığı, birim şeker kütlesi başına elde edilen β -Karoten miktarı ($Y_{P/Stış}$) ile birim kuru portakal kabuğu kütlesi başına elde edilen β -Karoten miktarının ($Y_{P/M}$) genel olarak azaldığı da görülmektedir.

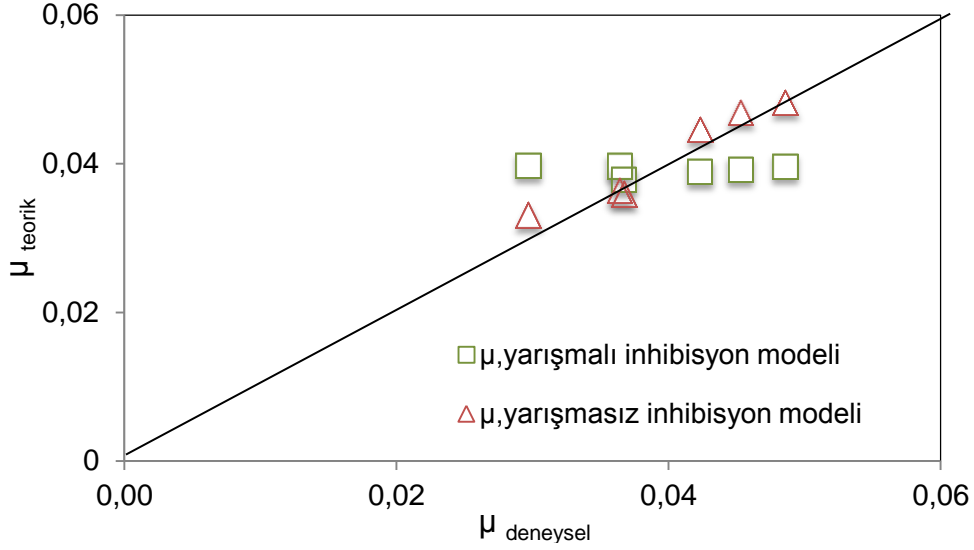
Çizelge 5.27. Kuru Posalı Portakal Kabuğundan Hazırlanmış Doğal Besin Ortamında *R. glutinis*ten β -Karoten Üretiminde Farklı Katı/Sıvı Oranlarında (Şeker Derişimlerinde) Elde Edilen En Yüksek Mikroorganizma ve β -Karoten Derişimleri ile β -Karoten Verim Değerleri

Katı/Sıvı Oranı (g/L)	$S_{tiş}$ (g/L)	X_m (g/L)	P_m (mg/L)	$Y_{P/Stiş}$ (mg/g)	$Y_{P/Xm}$ (mg/g)	$Y_{P/M}$ (mg/g)
8.3:1	3.7	2.9	69.2	18.7	33.1	8.3
16.6:1	7.9	3.1	116.2	14.7	37.5	7.0
33.3:1	12.1	4.0	221.5	18.3	55.0	6.6
66.6:1	27.5	4.0	361.2	13.1	90.0	5.4
100.0:1	43.5	3.5	465.7	10.7	133.0	4.6
133.3:1	53.6	2.4	481.9	9.0	203.8	3.6

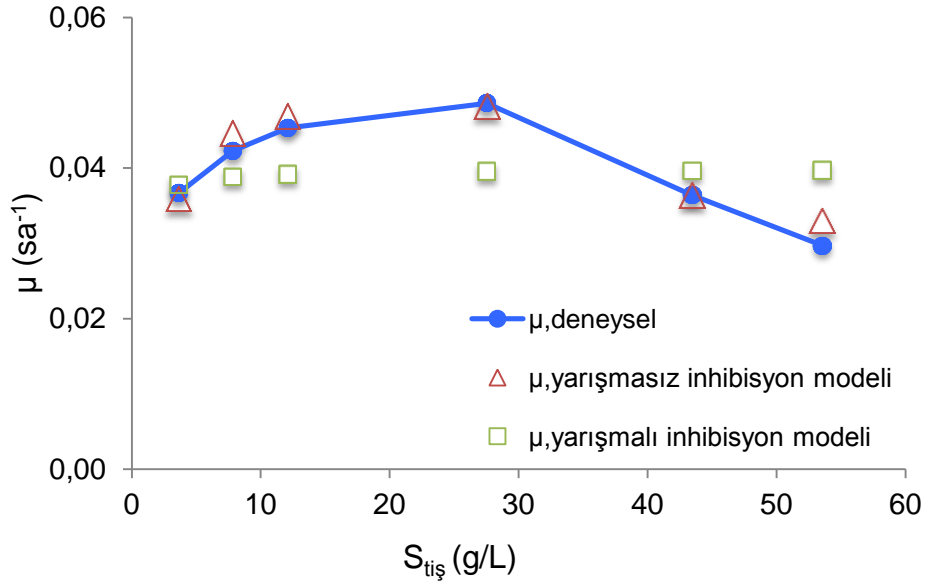
Kuru posalı portakal kabuğundan hazırlanmış doğal besin ortamında *R. glutinis*'in üremesinde substrat inhibisyonunu modellemek için deneysel μ ve S değerleri kullanılarak Eşitlik 3.21. ve Eşitlik 3.22. de verilen yarışmasız ve yarışmalı substrat inhibisyon modellerinden nonlinear regresyon yöntemiyle μ_m , K_s ve K_i değerleri sırasıyla yarışmasız substrat inhibisyon modelinden 0.083 sa^{-1} , 4.4 g/L , ve 40.5 g/L ; yarışmalı substrat inhibisyon modelinden 0.040 sa^{-1} , 0.2 g/L ve 98.8 g/L olarak bulunmuştur. Tüm bu sabitler modellerde yerlerine konarak elde edilen substrat inhibisyon model eşitlikleri Eşitlik 5.26. ve Eşitlik 5.27.'de sunulmuştur. Bu eşitliklerden deneysel μ ve S değerleri kullanılarak teorik μ değerleri hesaplatılmış ve deneysel μ değerleri ile 45° doğrusu (Şekil 5.44.) üzerinde karşılaştırılmıştır. Ayrıca deneysel ve her iki modelden hesaplatılan teorik μ değerlerinin başlangıç substrat derişimi ile değışim grafikleri de Şekil 5.45.'de verilmiştir. Şekil 5.44. ve Şekil 5.45.'ten *R. glutinis*'in üremesinin yarışmalı inhibisyon modeline hiç uymadığı, üremenin yarışmasız inhibisyon modeli ile oldukça iyi şekilde tanımlandığı görülmektedir.

$$\mu = \frac{0.083}{(1 + 4.4/S)(1 + S/40.5)} \quad (5.27.)$$

$$\mu = \frac{0.040S}{0.2(1 + S/98.8) + S} \quad (5.28.)$$



Şekil 5.44. Kuru Posalı Portakal Kabuğundan Hazırlanmış Doğal Besin Ortamında *R. glutinis*'in Üremesininin Modellenmesinde Deneysel ve Yarışmasız ve Yarışmalı Substrat İnhibisyon Modellerinden Bulunan Teorik μ Değeriinin 45° Doğrusu Üzerinde Karşılaştırılması



Şekil 5.45. Kuru Posalı Portakal Kabuğundan Hazırlanmış Doğal Besin Ortamında *R. glutinis*'in Üremesininin Modellenmesinde Farklı Başlangıç Substrat Derişimlerinde Elde Edilen Deneysel ve Yarışmasız ve Yarışmalı Substrat İnhibisyon Modellerinden Bulunan Teorik μ Değeriinin Karşılaştırılması

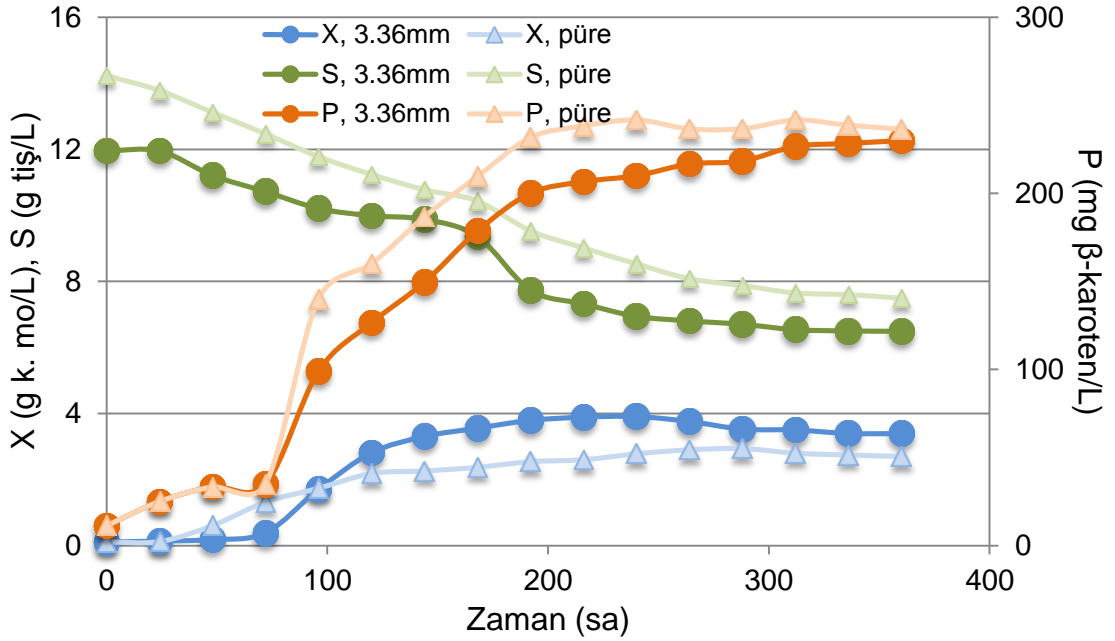
5.2.3. Yaş Posalı Portakal Kabuğundan Elde Edilen Doğal Besin Ortamında Yapılan Çalışmalar

Püre haline getirilmiş ve yaklaşık 3.36 mm boyutlarında kesilmiş yaş posalı portakal kabuğu taneciklerinden hazırlanan doğal besin ortamlarında *R. glutinis*'in üremesi ve β -Karoten üretimi 29°C'da ve 120 rpm çalkalama hızında incelenmiştir. Ortamlar hazırlanırken katı/sıvı oranı 66.6:1 g kuru kabuk/L suya denk gelecek şekilde 160 g yaş püre ya da 3.36 mm boyutlarındaki yaş tanecik/L su kullanılmıştır (EK-1). Ancak Çizelge 5.28.'den görüldüğü üzere K/S oranı 66.6:1 g kuru kabuk/L'deki toplam indirgen şeker derişimi 27.5 g/L ölçülmüşken, aynı K/S oranına denk gelen püredeki toplam indirgen şeker derişimi 14.2 g/L, 3.36 mm boyutundaki taneciklerdeki toplam indirgen şeker derişimi ise 12.0 g/L ölçülmüştür. Bunun nedeni olarak kurumayla birlikte şeker derişiminin artması düşünülmektedir.

Çizelge 5.28. Püre ve Tanecik Yaş Portakal Kabuklarından K/S=66.6:1 g k. kabuk/L Oranında Hazırlanan Doğal Besin Ortamlarının Toplam İndirgen Şeker Derişimleri

Kabuk Boyutu	Püre	3.36 (mm)
Toplam İndirgen Şeker Derişimi (g/L)	14.2	12.0

Şekil 5.46.'da püre ve tanecik yaş portakal kabuklarından K/S=66.6:1 g k. kabuk/L oranında hazırlanan doğal besin ortamlarında elde edilen *R. glutinis*'in üreme, β -Karoten üretim ve substrat tüketim eğrileri verilmiştir. Şekilden mikroorganizmanın püreden hazırlanan besin ortamına daha hızlı adapte olduğu ve gecikme evresinin kısaldığı gözlenmektedir. Bu ortamda en yüksek mikroorganizma derişim değeri yaklaşık olarak 2.8 g k. mo/L elde edilmiştir. Ancak 3.36 mm ortalama boyutlu taneciklerle hazırlanan ortamda mikroorganizmanın daha uzun süreli bir gecikme evresinden sonra çok daha hızlı ürettiği ve mikroorganizma derişiminin 3.9 g k. mo/L'ye ulaştığı göz ardı edilmemelidir. Her iki ortamda da β -Karoten üretiminin 72. saatten sonra başladığı, ancak yaş püreden hazırlanan ortamdaki β -Karoten üretiminin daha hızlı ve daha yüksek verimde gerçekleştiği görülmektedir. Substrat tüketimi açısından bakıldığında püreden elde edilen şekerin mikroorganizma tarafından hemen kullanılmaya başladığı gözlenmekle birlikte, her iki ortamda da üreme evresinin sonunda şeker derişiminin yaklaşık olarak yarısının ortamda kaldığı saptanmıştır.



Şekil 5.46. Püre ve Tanecik Yaş Portakal Kabuklarından K/S=66.6:1 g k. kabuk/L Oranında Hazırlanan Doğal Besin Ortamlarında Elde Edilen *R. glutinis*'in Üreme, β -Karoten Üretim ve Substrat Tüketim Eğrileri (T=29°C; Başlangıç pH'ı=5.5; Çalkalama Hızı=120rpm)

Püre ve tanecik yaş portakal kabuklarından K/S=66.6:1 g k. kabuk/L oranında hazırlanan doğal besin ortamlarında elde edilen en yüksek mikroorganizma ve β -Karoten derişimleri, özgül üreme, *R. glutinis*'in β -Karoten üretim ve substrat tüketim hızları ile β -Karoten verim değerleri Çizelge 5.29.'da verilmiştir. Hız değerlerinin oldukça yakın çıkmış olsa da yaş püreden hazırlanan besin ortamında daha düşük mikroorganizma özgül üreme hızı ve substrat tüketim hızı, daha yüksek β -Karoten oluşum hızı elde edildiği görülmektedir. Aynı Çizelgeden püre kabuktan hazırlanan besin ortamında birim kuru mikroorganizma kütlesi başına elde edilen β -Karoten miktarının (Y_{P/X_m}), birim şeker kütlesi başına elde edilen β -Karoten miktarı ($Y_{P/Stiş}$) ve birim kuru portakal kabuğu kütlesi başına elde edilen β -Karoten miktarının ($Y_{P/M}$) daha yüksek olduğu görülmektedir.

Çizelge 5.29. Püre ve Tanecik Yaş Portakal Kabuklarından K/S=66.6:1 g k. kabuk/L Oranında Hazırlanan Doğal Besin Ortamlarında Elde Edilen En Yüksek Mikroorganizma ve β -Karoten Derişimleri, *R. glutinis*'in Özgöl Üreme, β -Karoten Üretim ve Substrat Tüketim Hızları, β -Karoten Verim Değerleri

Kabuk Büyüklüğü	X_{max} (g/L)	P_{max} (mg/L)	μ (sa ⁻¹)	v (mg/g k.mo.sa)	η (g tiş/g k.mo.sa)	$Y_{P/Stiş}$ (mg/g)	$Y_{P/M}$ (mg/g)	$Y_{P/X}$ (mg/g)
Püre	2.8	140.0	0.047	1.202	0.085	5.09	2.10	50.0
3.36mm	3.6	98.9	0.050	0.947	0.086	3.58	1.48	27.2

6. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

Yapılan tez çalışmasında gıda sektöründe kullanılması düşünülen doğal flavonoidlerden fenolik pigmentin ve karoten pigmentin atık portakal kabuğundan sokslet ekstraksiyonu yöntemiyle elde edilmesi ve karoten pigment üretiminin *R. glutinis*'ten β -Karoten üretimiyle karşılaştırılması amaçlanmıştır.

Tez çalışmasının ilk kısmında atık portakal kabuklarından ekstraksiyon yöntemiyle fenolik ve karoten pigment ekstraksiyonunun hız ve verimine kabuk türünün, tanecik boyut aralığının, sıvı/katı oranının, çözücü türünün ve ekstraksiyon öncesinde kabuğa uygulanan ön işlemin etkileri incelenmiş ve ekstraksiyonun ikinci dereden kinetik modellenmesi yapılarak kinetik sabitler bulunmuştur.

Çalışmaların ikinci kısmında ise ekstraksiyon ile elde edilen karotenoid cinsi pigmentlerin mikrobiyal yolla üretilen pigmentlerle hız ve verim açısından karşılaştırılabilmesi için hem yapay hem de kurutulmuş ve yaş posalı portakal kabuğundan elde edilen doğal besin ortamlarında *R. glutinis* mayasından β -Karoten üretimi araştırılmıştır. Atık portakal kabuğundan ilk defa yeni bir doğal besin ortamı hazırlanarak *R. glutinis*'in üremesi ve β -Karoten üretimi gerçekleştirilmiştir. Yapay besin ortamında başlangıç glukoz derişiminin; portakal kabuğundan hazırlanan doğal besin ortamında ise kabuk türünün, başlangıç pH'ının ve katı/sıvı oranının (toplam indirgen şeker derişiminin) mikroorganizmanın üreme hızına ve β -Karoten üretim hız ve verimine etkileri araştırılmıştır. Yapay besin ortamında *R. glutinis*'e ait kinetik sabitler Monod Eşitliğinden hesaplanmıştır. Kuru portakal kabuğundan hazırlanan doğal besin ortamında mikroorganizmanın üremesinde aşırı substrat derişiminin inhibisyona neden olduğu tespit edilmiş ve mayaya ait kinetik sabitler yarışmalı ve yarışmasız substrat inhibisyon modelleri kullanılarak bulunmuştur.

Ekstraksiyon çalışmalarında atık portakal kabuğundan hazırlanmış kurutulmuş posalı kabuk (KPPK), dondurulmuş posalı kabuk (DPPK) ve kurutulmuş posasız dış kabuk (KPDPK) olmak üzere üç çeşit kabuk kullanılmıştır.

Kurutulmuş posalı kabuğu (KPPK) ile 79°C'da gerçekleştirilen ve etanolün çözücü olarak kullanıldığı deneylerde <0.5 mm–1.41-3.36 mm aralığında değişen tanecik boyutu ile 10:1–40:1 arasında değişen S/K oranının fenolik ve karoten pigmentlerin

ekstraksiyon hız ve verimine etkileri araştırılmıştır. KPPK ile ayrıca 0.5 mm'den küçük taneciklerle, 40:1 S/K oranında çözücü olarak su ile 100°C'da çalışılarak çözücü etkisinin fenolik ve karoten pigmentlerin ekstraksiyon hız ve verimine etkileri de incelenmiştir. Dondurulmuş posalı kabuk (DPPK) çalışmalarında 79°C'da sadece 1.41-3.36 mm aralığındaki taneciklerle 40:1 S/K oranında çözücü olarak etanol kullanılarak, ön işlem (şişirme) uygulanmış ve uygulanmamış DPPK'un fenolik ve karoten pigmentlerin ekstraksiyon hız ve verimine etkileri araştırılmıştır. Kurutulmuş posasız dış kabuk (KPDPK) çalışmalarında ise sadece çözücü olarak etanolün kullanıldığı deneyler 79°C'da, 40:1 S/K oranında gerçekleştirilmiş, <0.5 mm–1.41-3.36 mm aralığında değişen tanecik boyutunun fenolik ve karoten pigmentlerin ekstraksiyon hız ve verimine etkileri incelenmiştir. Fenolik pigment ekstraksiyonunda bulunan tüm deneysel sonuçlar Çizelge 6.1.'de sunulmuştur.

Çizelge 6.1.'den KPPK'dan fenolik pigment ekstraksiyonunda tanecik boyutu arttıkça, kararlı durumda birim çözücü hacmi başına ekstrakte edilen fenolik pigment miktarının (C_{mf}) 13.8'den 8.0 g fenolik pigment/L çözücü'ye, birim kuru kabuk kütlesi başına özütlenen fenolik pigment miktarının (q_{mf}) 0.55'ten 0.32 g fenolik pigment/g k. kabuk'a, başlangıç ekstraksiyonu hızının (h_f) 0.157'den 0.066 g/L dk'ya ve % fenolik pigment veriminin % 55.3'ten % 32.1'e azaldığı gözlenmektedir. Karıştırma olmayan sistemde, çalışılan tüm tanecik boyutlarında çözücünün posalı kabuk yüzeyine kolay ulaşamaması dış difüzyon dirençlerinin artmasına neden olmuştur. Küçük taneciklerden daha yüksek verimle ekstraksiyonun gerçekleşmesi çözücünün temas ettiği kütle aktarım alanının daha büyük olması ile açıklanabilir. Ayrıca küçük taneciklerde çözücünün tanecik içindeki pigmentleri çözmek için tanecik yüzeylerinden içeriye çok daha kısa bir mesafeyi geçerek ulaşması iç difüzyon direncini de azalttığından verimi yükseltmiştir. Büyük taneciklerde ise yüzey alanının azalması ile çözücü ve katı arasındaki etkileşim azalmış, çözücünün tanecik içine girmesi, ardından pigmentleri çözmesi daha zor olduğu için iç difüzyon direnci daha da büyümüş, böylece verim azalmıştır [109]. Sayer ve arkadaşları 2009 yılında yaptıkları *Jatropha* bitkisinin tohumlarından yağ ekstraksiyonu çalışmalarında da buldukları sonuçları benzer şekilde açıklamışlardır. Aynı çizelgeden S/K oranının etkisi incelendiğinde ise, S/K oranı arttıkça C_{mf} ve h_f değerlerinin azaldığı, q_{mf} ve % fenolik pigment verimi değerlerinin ise çok az da olsa arttığı gözlenmektedir. S/K oranı 10:1'den 40:1'e arttırıldığında C_{mf} ve h_f değerleri

yaklaşık dört katı azalmış, q_{mf} ve % fenolik pigment verim değerleri ise ancak % 1.6 artmıştır. S/K oranı arttıkça C_{mf} ve h_f değerlerinin azalması, ortamda birim çözücü hacmi başına düşen kabuk miktarının azalmasından, birim kuru kabuk kütlesi başına hesaplanan q_{mf} ve % fenolik pigment verimi değerlerinin çok az artması ise kabuğun sahip olduğu sabit fenolik pigment kapasitesinden kaynaklanmaktadır. Bu sonuca benzer olarak Wenjuan ve arkadaşlarının 2010 [97] yılında nar posasından antioksidan eldesi çalışmalarında, Lie ve arkadaşlarının 2005 [110] yılında yaptıkları *Eucommia ulmodies* bitkisinden klorojenik asit eldesi sonuçlarında ve literatürde incelenen pek çok bitkiden ekstraksiyon çalışmasında S/K oranının artmasıyla özüt veriminin az da olsa arttığı belirtilmiştir. S/K oranı etkisinin ölçek büyütme veya küçültme işlemleri sırasında çok önemli rol oynadığı Muhammad ve arkadaşları tarafından Gaharu yağının ekstraksiyonu gerçekleştirdikleri çalışmalarında belirtilmiştir [111]. Devesh ve arkadaşları 2011 yılında yaptıkları pamuk tohumundan yağ ekstraksiyonu çalışmalarında en düşük S/K oranında elde edilen en düşük % pigment veriminin nedenini etanol içine özütlenen pigmentin etanol içindeki doyma noktasına varmasıyla açıklamışlardır [98]. Çözücü türü etkisi incelendiğinde, etanol çözücüsüyle elde edilen tüm C_{mf} , q_{mf} , h_f ve % fenolik pigment verim değerlerinin su çözücüsüyle elde edilen değerlerin iki katından daha yüksek olduğu görülmektedir. Sonuçlar doğrultusunda fenolik pigment ekstraksiyonunda etanolün suya göre daha iyi bir çözücü olduğu kanısına varılmıştır.

Çizelge 6.1.'den dondurulmuş posalı kabuktan (DPPK) fenolik pigment ekstraksiyonunda, donmuş kabuğa uygulanan şişirme ön işleminin C_{mf} , q_{mf} , h_f ve % fenolik pigment verim değerlerini bir miktar azalttığı gözlenmektedir. Şişirmenin verimi azaltmasının en önemli nedeni, etanol ile 24 saat boyunca şişen taneciklerin yapılarında ve flavonoidlerin bağlarında bozunma olması ve etken madde kaybının yaşanması şeklinde açıklanabilir.

Yine aynı çizelgeden kurutulmuş posasız dış kabuktan (KPDPK) fenolik pigment ekstraksiyonunda, KPPK'dan fenolik pigment ekstraksiyonuna benzer olarak tanecik boyutu arttıkça C_{mf} 'in 14.3'ten 11.0 g fenolik pigment/L çözücü'ye, q_{mf} 'in 0.57'den 0.44 g fenolik pigment/g k. kabuk'a, h_f 'in 0.157'den 0.100 g/L dk'ya ve % fenolik pigment veriminin % 57.3'ten % 44.0'a azaldığı görülmüştür.

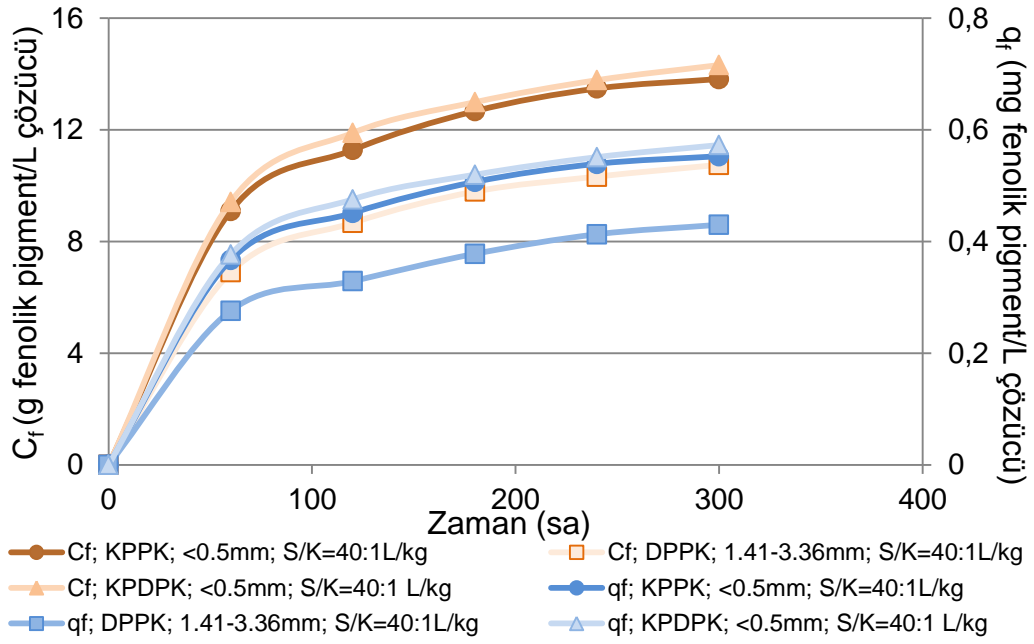
Yapılan çalışmalar sonucunda kurutulmuş posasız dış portakal kabuğundan fenolik pigment ekstraksiyonunun en yüksek verimde gerçekleştiği söylenebilir.

Çizelge 6.1. KPPK, DPPK ve KPDPK'tan Fenolik Pigment Ekstraksiyonunda Kararlı Durumda Elde Edilen Birim Çözücü Hacmi Başına Ekstrakte Edilen Fenolik Pigment Miktarları (C_{mf}), Birim Kuru Kabuk Kütlesi Başına Özütlenen Fenolik Pigment Miktarları (q_{mf}), Başlangıç Ekstraksiyonu Hızları (h_f) ve % Fenolik Pigment Verimleri

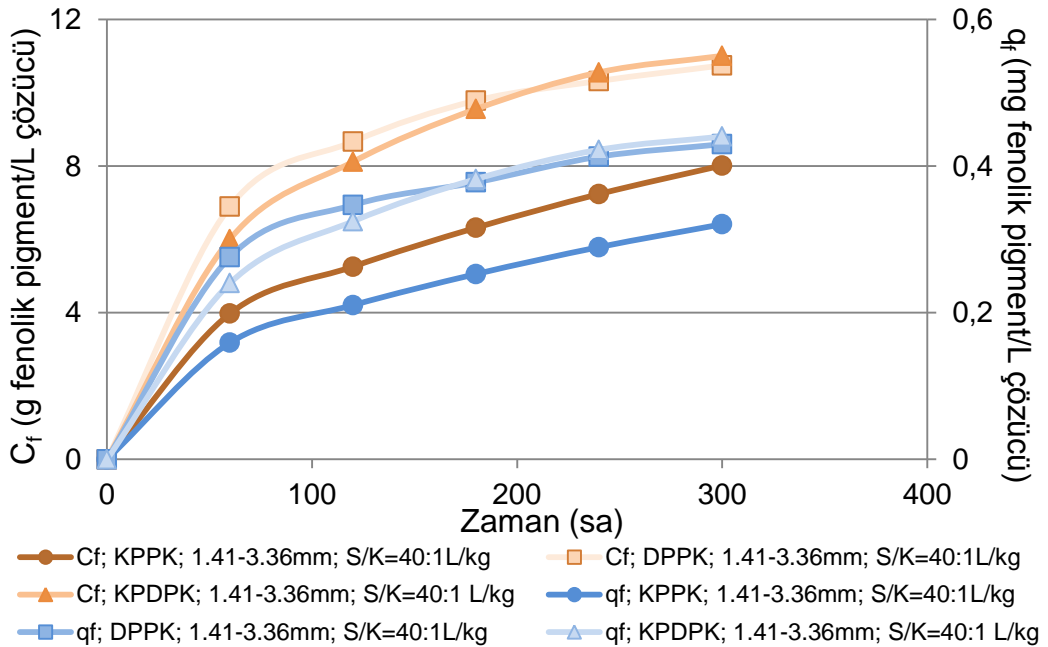
<u>Kabuk Türü</u>	<u>Parametre</u>	<u>Değer</u>	<u>C_{mf}</u> <u>(g/L)</u>	<u>q_{mf}</u> <u>(g/g)</u>	<u>h_f</u> <u>(g/L dk)</u>	<u>% Verim</u>
KPPK	Tanecik Boyutu (mm)	<0.5	13.8	0.55	0.157	55.28
		0.5-1.19	10.6	0.41	0.090	41.4
		1.19-1.41	8.9	0.36	0.077	35.6
		1.41-3.36	8.0	0.32	0.066	32.1
	S/K Oranı (L/kg)	10:1	58.3	0.53	0.541	53.7
		20:1	42.7	0.54	0.391	53.9
		30:1	27.9	0.54	0.252	54.2
		40:1	13.8	0.55	0.157	55.3
	Çözücü Türü	Etanol	13.8	0.55	0.410	55.3
		Su	6.4	0.26	0.157	25.7
DPPK	Ön İşlem	Şişirilmiş	9.9	0.40	0.102	39.5
		Şişirilmemiş	10.7	0.43	0.115	43.0
KPDPK	Tanecik Boyutu (mm)	<0.5	14.3	0.57	0.157	57.3
		0.5-1.19	13.8	0.55	0.153	55.1
		1.19-1.41	13.0	0.52	0.135	51.9
		1.41-3.36	11.0	0.44	0.100	44.0

En yüksek fenolik pigment verimlerinin elde edildiği, KPPK ile en küçük tanecik boyutundaki kabuklarla (<0.5mm), 40:1 S/K oranında, etanolle, 79°C'da, DPPK ile 1.19-3.36 mm boyut aralığındaki taneciklerle 40:1 S/K oranında etanolle, 79°C'da, KPDPK ile en küçük tanecik boyutundaki kabuklarla (<0.5mm), 40:1 S/K oranında, etanolle, 79°C'da yapılan çalışmalarda bulunan C_{mf} ve q_{mf} değerlerinin zamanla değişim grafikleri karşılaştırmalı olarak Şekil 6.1.'de verilmiştir. Şekilden kurutulmuş posalı ve posasız portakal kabuklarından fenolik pigment ekstraksiyonunun donmuş posalı portakal kabuklarından çok daha yüksek hız ve verimde gerçekleştiği, kurutulmuş kabuklarda benzer ekstraksiyon kapasitelerinin elde edildiği gözlenmektedir. Tüm kabuklar için birinci saatin sonunda ekstraksiyonun yaklaşık % 65'inin tamamlandığı ve 5 saatlik bir ekstraksiyon süresinin fenolik pigment ekstraksiyonu için yeterli olduğu görülmektedir. 5 saatin sonunda KPDPK, KPPK ve DPPK'dan sırasıyla 16.6, 16.1 ve 12.7 g fenolik pigment/L etanol derişim değerleri elde edilmiştir. Bu farkın nedeni DPPK ile yapılan çalışmalarda kullanılan kabukların tanecik boyutunun diğer kabukların seçilen tanecik boyutlarından oldukça büyük olmasıdır.

Aynı boyut aralığında karşılaştırma yapabilmek için, 1.41-3.36 mm boyut aralığındaki üç kabuk türüyle taneciklerden fenolik pigment ekstraksiyonunda elde edilen C_{mf} -t ve q_{mf} -t grafikleri Şekil 6.2.'de sunulmuştur. Şekilden bu tanecik boyut aralığında DPPK'dan ekstraksiyonun en yüksek hızla gerçekleştiği, KPPK'dan ekstraksiyonunun hız ve verimliliğinin DPPK'dan ve KPDPK'dan daha düşük olduğu, KPDPK'dan ekstraksiyonun hızı ve verimliliği de azalarak DPPK'ya yaklaştığı görülmektedir. DPPK'dan ekstraksiyonun daha yüksek hızda olması dondurma işleminin kabukların yapılarını kristal haline getirerek parçalanmalarını kolaylaştırması ve DPPK'dan pigment ekstraksiyonunun diğer kabuklara göre daha kolay olmasına olanak sağlamasıyla açıklanabilir.



Şekil 6.1. KPPK, DPPK ve KPDPK'dan Fenolik Pigment Ekstraksiyonunda Birim Çözücü Hacmi Başına Ekstrakte Edilen Fenolik Pigment Miktarlarının (C_f) ve Birim Kuru Kabuk Kütlesi Başına Özütlenen Fenolik Pigment Miktarlarının (q_{mf}) Zamanla Değişim Eğrileri



Şekil 6.2. 1.41-3.36 mm Boyut Aralığındaki KPPK, DPPK ve KPDPK Taneciklerinden Fenolik Pigment Ekstraksiyonunda Birim Çözücü Hacmi Başına Ekstrakte Edilen Fenolik Pigment Miktarlarının (C_f) ve Birim Kuru Kabuk Kütlesi Başına Özütlenen Fenolik Pigment Miktarlarının (q_{mf}) Zamanla Değişim Eğrileri

Fenolik pigment ekstraksiyonunun kinetik modellenmesinde ikinci derece ekstraksiyon kinetik modeli deneysel verilere uygulanmış ve modelin tüm kabuklardan ekstraksiyona 0.98-0.99 arasında değişen R^2 değerleri ile oldukça iyi uyduğu bulunmuştur. Modelden bulunan ikinci derece ekstraksiyon hız sabitleri (k_f), başlangıç teorik ekstraksiyon hızları ($h_{f,teo}$) ve teorik ekstraksiyon dengesi durumunda çözücüye geçen fenolik pigment derişimleri (C_{sf}) Çizelge 6.2.'de sunulmuştur. Çizelgeden KPPK'dan etanole fenolik pigment ekstraksiyonunda beklendiği üzere, tanecik boyutu küçüldükçe tüm kinetik parametrelerin arttığı ve 0.5 mm'den küçük taneciklerle en yüksek başlangıç ekstraksiyon hızına, ekstraksiyon hız sabitine ve teorik dengede çözücüye geçecek olan fenolik pigment derişimine ulaşıldığı görülmektedir. Yine çizelgeden S/K oranı arttıkça ikinci derece ekstraksiyon sabitinin arttığı, başlangıç ekstraksiyon hızının ve ekstraksiyon dengesi durumunda çözücüye geçen fenolik pigment derişiminin ise azaldığı gözlenmektedir. Literatür çalışmaları da bu modelin uygulamalarının benzer sonuçlar verdiğini göstermektedir [97]. Çizelgeden çözücü türünün kinetik parametrelere etkisi incelendiğinde ise, etanolden fenolik pigment ekstraksiyonunda elde edilen kinetik parametrelerin sudakinden çok daha yüksek olduğu da görülmektedir.

Yine Çizelge 6.2.'den DPPK'dan fenolik pigment ekstraksiyonunda kabuğa uygulanan şişirme işleminin tüm kinetik sabitlerin değerlerini düşürdüğü gözlenmiştir.

Çizelge 6.2.'den KPDPK'dan etanole gerçekleştirilen fenolik pigment ekstraksiyonunda tanecik boyutunun değişmesine bağlı olarak elde edilen kinetik sabitlerin KPPK'dan elde edilenlere benzer olarak değiştiği görülmektedir.

Çizelge 6.2. KPPK, DPPK ve KPDPK'dan Fenolik Pigment Ekstraksiyonunda Elde Edilen İkinci Derece Ekstraksiyon Hız Sabitleri (k_f), Başlangıç Teorik Ekstraksiyon Hızları ($h_{f,teo}$) ve Teorik Ekstraksiyon Dengesi Durumunda Çözücüye Geçen Fenolik Pigment Derişimleri (C_{sf})

<u>Kabuk Türü</u>	<u>Parametre</u>	<u>Değer</u>	<u>$k_f \times 10^3$ (L/g dk)</u>	<u>$h_{f,teo}$ (g/L dk)</u>	<u>C_{sf} (g/L)</u>
KPPK	Tanecik Boyutu (mm)	<0.5	1.20	0.31	16.1
		0.5-1.19	0.88	0.18	13.8
		1.19-1.41	0.73	0.11	13.2
		1.41-3.36	0.76	0.08	10.9
	S/K Oranı (L/kg)	10:1	0.16	0.91	75.7
		20:1	0.22	0.66	54.6
		30:1	0.34	0.43	35.2
		40:1	1.20	0.31	16.1
	Çözücü Türü	Etanol	1.20	0.31	16.1
		Su	0.48	0.06	10.9
DPPK	Ön İşlem	Şişirilmiş	1.35	0.22	11.5
		Şişirilmemiş	1.73	0.23	12.7
KPDPK	Tanecik Boyutu (mm)	<0.5	1.11	0.30	16.6
		0.5-1.19	1.09	0.28	16.1
		1.19-1.41	1.03	0.24	15.3
		1.41-3.36	0.78	0.16	14.2

Karoten pigment ekstraksiyonunda bulunan tüm deneysel sonuçlar Çizelge 6.3.'te sunulmuştur.

Çizelge 6.3.'ten KPPK'dan karoten pigment ekstraksiyonunda tanecik boyutu arttıkça kararlı durumda birim çözücü hacmi başına ekstrakte edilen karoten pigment miktarı (C_{mk}) 30.5'den 12.0 mg karoten pigment/L çözücü'ye, birim kuru kabuk kütlesi başına özütlenen karoten pigment miktarının (q_k) 1.22'den 0.47 mg karoten pigment/g k. kabuk'a, başlangıç ekstraksiyonu hızının (h_k) 0.315×10^3 'ten 0.062×10^3 g/L dk'ya ve % karoten pigment veriminin % 0.12'den % 0.05'e fenolik pigment ekstraksiyonuna benzer nedenlerle azaldığı gözlenmektedir. Aynı çizelgeden S/K oranı arttıkça, C_{mk} ve h_k değerlerinin azaldığı, q_{mk} ve % karoten pigment veriminin ise çok az da olsa arttığı gözlenmektedir. S/K oranı 10:1'den 40:1'e arttırıldığında C_{mk} ve h_k değerleri yaklaşık üç katı azalmış, q_{mf} ve % karoten pigment verim değerleri ise ancak % 0.02 artmıştır. Çözücü türü etkisi incelendiğinde, etanol çözücüsüyle elde edilen tüm C_{mk} , q_{mk} , h_k ve % karoten pigment verim değerlerinin su çözücüsüyle elde edilen değerlerin üç katından daha yüksek olduğu görülmektedir.

Çizelge 6.3.'ten dondurulmuş posalı kabuktan (DPPK) karoten pigment ekstraksiyonunda, donmuş kabuğa uygulanan şişirme ön işleminin C_{mk} , q_{mk} , ve % fenolik pigment verim değerlerini iki katı azalttığı, ancak h_k değerlerini önemli ölçüde arttırdığı gözlenmektedir. Şişirmenin verimi azaltmasının en önemli nedeni, etanol ile 24 saat boyunca şişen taneciklerin yapılarında ve flavonoidlerin bağlarında bozunma olması ve etken madde kaybının yaşanması; h_k değerinin artmasının en önemli nedeni ise şişen taneciklerin gözeneklerinin açılarak karoten pigmentin daha hızlı çözücüye geçmesidir.

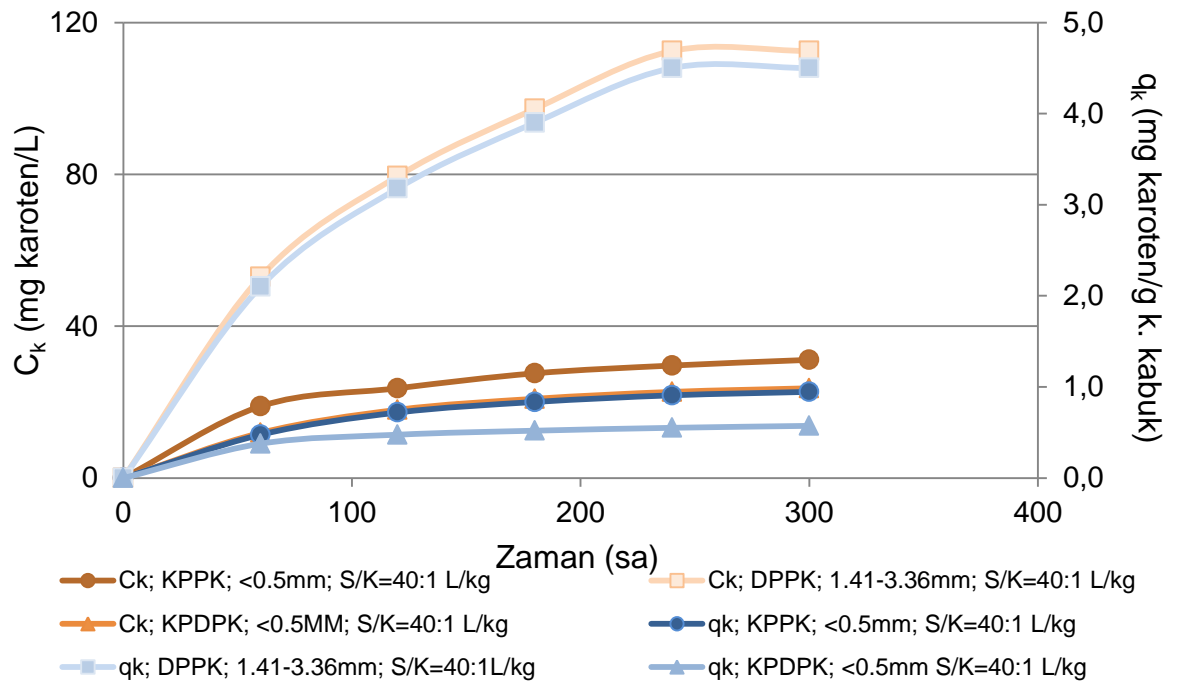
Yine aynı çizelgeden kurutulmuş posasız dış kabuktan (KPDPK) karoten pigment ekstraksiyonunda, KPPK'dan karoten pigment ekstraksiyonuna benzer olarak tanecik boyutu arttıkça C_{mk} 'nin 23.6'dan 16.6 mg karoten pigment/L çözücü'ye, q_{mk} 'in 0.94'ten 0.66 mg karoten pigment/g k. kabuk'a, h_k 'nin 0.198×10^{-3} 0.102×10^{-3} 'ten g/L dk'ya ve % karoten pigment veriminin % 0.09'dan % 0.07'ye azaldığı görülmüştür.

Yapılan çalışmalar sonucunda donmuş posalı portakal kabuğundan karoten pigment ekstraksiyonunun en yüksek verimde gerçekleştiği söylenebilir.

Çizelge 6.3. KPPK, DPPK ve KPDPK'dan Karoten Pigment Ekstraksiyonunda Kararlı Durumda Elde Edilen Birim Çözücü Hacmi Başına Ekstrakte Edilen Karoten Pigment Miktarları (C_{mk}), Birim Kuru Kabuk Kütlesi Başına Özütlenen Karoten Pigment Miktarları (q_{mk}), Başlangıç Ekstraksiyonu Hızları (h_k) ve % Karoten Pigment Verimleri

<u>Kabuk Türü</u>	<u>Parametre</u>	<u>Değer</u>	<u>C_{mk} (mg/L)</u>	<u>q_{mk} (mg/g)</u>	<u>$h_k \times 10^3$ (g/L dk)</u>	<u>% Verim</u>
KPPK	Tanecik Boyutu (mm)	<0.5	30.5	1.22	0.315	0.12
		0.5-1.19	28.0	1.12	0.261	0.11
		1.19-1.41	24.0	0.96	0.173	0.10
		1.41-3.36	12.0	0.47	0.062	0.05
	S/K Oranı (L/kg)	10:1	99.0	0.99	1.02	0.10
		20:1	78.9	1.05	0.83	0.10
		30:1	55.7	1.13	0.63	0.11
		40:1	30.5	1.22	0.32	0.12
	Çözücü Türü	Etanol	30.5	1.22	0.32	0.12
		Su	9.3	0.39	0.05	0.04
DPPK	Ön İşlem	Şişirilmiş	64.0	2.56	0.88	0.26
		Şişirilmemiş	112.5	4.50	0.22	0.45
KPDPK	Tanecik Boyutu (mm)	<0.5	23.6	0.94	0.198	0.09
		0.5-1.19	22.1	0.88	0.167	0.09
		1.19-1.41	19.1	0.76	0.137	0.08
		1.41-3.36	16.6	0.66	0.102	0.07

En yüksek karoten pigment verimlerinin elde edildiği, KPPK ile en küçük tanecik boyutundaki kabuklarla (<0.5mm), 40:1 S/K oranında, etanolle, 79°C’da, DPPK ile 1.41-3.36 mm boyut aralığındaki taneciklerle 40:1 S/K oranında etanolle, 79°C’da, KPDPK ile en küçük tanecik boyutundaki kabuklarla (<0.5mm), 40:1 S/K oranında, etanolle, 79°C’da yapılan çalışmalarda bulunan C_{mk} ve q_{mk} değerlerinin zamanla değişim grafikleri karşılaştırmalı olarak Şekil 6.3.’te verilmiştir. Şekilden tanecik boyut aralığından bağımsız olarak donmuş portakal kabuğundan karoten pigment ekstraksiyonunun kurutulmuş posalı ve posasız portakal kabuklarından çok daha yüksek hız ve verimde gerçekleştiği gözlenmektedir. Şekilden KPPK ve KPDPK ile çalışıldığında birinci saatin sonunda ekstraksiyonun yaklaşık olarak % 60’ının, DPPK ile çalışıldığında ise % 47’sinin tamamlandığı görülmektedir. Bu sonuçlar DPPK’dan karoten pigment ekstraksiyonunda iç difüzyonun KPPK ve KPDPK’dan karoten pigment ekstraksiyonundan daha önemli olduğunu göstermektedir. Şekilden ayrıca 5 saatlik bir ekstraksiyon süresinin tüm kabuklar için yeterli olduğu gözlenmektedir. 5 saatin sonunda DPPK, KPPK ve KPDPK’dan sırasıyla 112.5, 31.1 ve 23.6 mg karoten pigment/L etanol derişim değerleri elde edilmiştir.



Şekil 6.3. KPPK, DPPK ve KPDPK’den Karoten Pigment Ekstraksiyonunda Birim Çözücü Hacmi Başına Ekstrakte Edilen Karoten Pigment Miktarlarının (C_k) ve Birim Kuru Kabuk Kütlesi Başına Özütlenen Karoten Pigment Miktarlarının (q_{mk}) Zamanla Değişim Eğrileri

Karoten pigment ekstraksiyonunun kinetik modellenmesinde de ikinci derece ekstraksiyon kinetik modeli kullanılmış ve modelin tüm kabuklardan ekstraksiyona 0.98-0.99 arasında değişen R^2 değerleri ile oldukça iyi uyduğu bulunmuştur. Modelden bulunan ikinci derece ekstraksiyon hız sabitleri (k_k), başlangıç teorik ekstraksiyon hızları ($h_{k,teo}$) ve teorik ekstraksiyon dengesi durumunda çözücüye geçen fenolik pigment derişimleri (C_{sk}) Çizelge 6.4.'te sunulmuştur. Çizelgeden KPPK'dan etanole karoten pigment ekstraksiyonunda beklendiği üzere, tanecik boyutu küçüldükçe tüm kinetik parametrelerin arttığı ve 0.5 mm'den küçük taneciklerle en yüksek başlangıç ekstraksiyon hızına, ekstraksiyon hız sabitine ve teorik dengede çözücüye geçecek olan karoten pigment derişimine ulaşıldığı görülmektedir. Yine çizelgeden S/K oranı arttıkça ikinci derece ekstraksiyon sabitinin arttığı, başlangıç ekstraksiyon hızının ve ekstraksiyon dengesi durumunda çözücüye geçen karoten pigment derişiminin ise azaldığı gözlenmektedir.

Çizelgeden çözücü türünün kinetik parametrelere etkisi incelendiğinde ise, etanolden karoten pigment ekstraksiyonunda elde edilen kinetik parametrelerin sudakinden çok daha yüksek olduğu da görülmektedir.

Yine Çizelge 6.4.'ten DPPK'dan karoten pigment ekstraksiyonunda kabuğa uygulanan şişirme işleminin tüm kinetik sabitlerin değerlerini düşürdüğü gözlenmiştir.

Çizelge 6.4.'ten KPDPK'dan etanole gerçekleştirilen karoten pigment ekstraksiyonunda tanecik boyutunun değişmesine bağlı olarak elde edilen kinetik sabitlerin KPPK'dan elde edilenlere benzer olarak değiştiği görülmektedir.

Çizelge 6.4. KPPK, DPPK ve KPDPK'dan Karoten Pigment Ekstraksiyonunda Elde Edilen İkinci Derece Ekstraksiyon Hız Sabitleri (k_k), Başlangıç Teorik Ekstraksiyon Hızları ($h_{k,teo}$) ve Teorik Ekstraksiyon Dengesi Durumunda Çözücüye Geçen Karoten Pigment Derişimleri (C_{sk})

Kabuk Türü	Parametre	Değer	k_k (L/g dk)	$h_{k,teo} \times 10^3$ (g/L dk)	C_{sk} (mg/L)
KPPK	Tanecik Boyutu (mm)	<0.5	0.412	0.58	37.6
		0.5-1.19	0.305	0.43	37.4
		1.19-1.41	0.210	0.26	35.5
		1.41-3.36	0.071	0.08	33.0
	S/K Oranı (L/kg)	10:1	0.034	1.44	206.0
		20:1	0.035	1.31	194.0
		30:1	0.067	0.91	116.0
		40:1	0.412	0.58	38.0
	Çözücü Türü	Etanol	0.412	0.58	37.6
		Su	0.171	0.07	19.6
DPPK	Ön İşlem	Şişirilmiş	0.036	0.66	116.0
		Şişirilmemiş	0.049	1.33	165.0
KPDPK	Tanecik Boyutu (mm)	<0.5	0.288	0.29	31.5
		0.5-1.19	0.240	0.24	37.1
		1.19-1.41	0.234	0.20	29.3
		1.41-3.36	0.166	0.14	28.6

Ekstraksiyon çalışmalarıyla ilgili genel bir değerlendirme yapılacak olursa;

- Tüm kabukların fenolik pigment kapasitesinin karoten pigment kapasitesinden çok yüksek olduğu, çözücüye geçen fenolik pigment derişiminin g/L mertebesinde iken çözücüye geçen karoten pigment derişiminin mg/L mertebesinde olduğu gözlenmiştir.
- Fenolik pigment veriminin posasız kurutulmuş kabukta en yüksek olduğu görülmüştür.
- Karoten pigment veriminin donmuş posalı kabukta kurutulmuş posalı ve posasız kabuklara nazaran daha yüksek olduğu tespit edilmiştir.

Çalışmaların ikinci kısmında *R. glutinis*'in üremesi ve β -Karoten üretimi yapay besin ortamında başlangıç glukoz derişiminin; yaş ve kuru atık portakal kabuğundan hazırlanan doğal besin ortamında ise başlangıç pH'ının ve katı/sıvı oranının (toplam indirgen şeker derişiminin) fonksiyonu olarak incelenmiştir.

Yapay besin ortamında gerçekleştirilen fermentasyon çalışmaları, 29°C sabit sıcaklıkta çalışan çalkalamalı inkübatörde, 120 rpm çalkalama hızında, başlangıç pH değeri 5.5'te, glukoz derişimi 2.5-20 g/L aralığında değiştirilerek incelenmiş ve bulunan tüm deneysel sonuçlar Çizelge 6.5.'te sunulmuştur.

Kurutulmuş atık portakal kabuklarından hazırlanan doğal besin ortamındaki fermentasyon çalışmalarının ilk kısmında 29°C sabit sıcaklıkta çalışan çalkalamalı inkübatörde, 120 rpm çalkalama hızında, K/S=66.6:1 g/L ($S_{tiş}$ =27.5 g/L) oranında hazırlanan besin ortamında başlangıç pH'ının etkileri 4-7 arasında incelenmiştir. Çalışmaların ikinci kısmında ise en uygun pH değeri olarak saptanan 5.5'te, K/S oranının etkisi 8.3:1 ile 133.3:1 arasında ($S_{tiş}$ 'in 3.6g/L-53.6g/L arasında) araştırılmıştır. Çalışmaların son kısmı ise başlangıç 5.5 pH değerinde, K/S=66.6:1 g/L olacak şekilde püre ve 3.36 mm boyutundaki yaş kabuklar kullanılarak hazırlanan doğal besin ortamlarında gerçekleştirilmiş ve elde edilen tüm deneysel sonuçlar yine Çizelge 6.5.'te karşılaştırmalı olarak sunulmuştur.

Çizelge 6.5.'ten yapay besin ortamında başlangıç glukoz derişiminin 20 g/L'ye kadar artmasıyla özgül üreme (η), üstel üreme bölgesindeki ürün oluşum (v) ve substrat tüketim (μ) hızlarının arttığı, glukoz derişimine bağlı β -Karoten veriminin

(Y_{P/S_0}) azaldığı, en yüksek mikroorganizma derişimine bağlı β -Karoten veriminin (Y_{P/X_m}) ise arttığı gözlenmektedir. Başlangıç glukoz derişiminin 2.5'ten 20 g/L'ye kadar artmasıyla en yüksek mikroorganizma derişiminin (P_m) 2.8'den 5.2 g k. mo./L'ye arttığı, en yüksek β -Karoten derişiminin (P_m) ise 24.4'ten 101.8 mg β -Karoten/L'ye arttığı görölmektedir.

Aynı çizelgeden kurutulmuş atık portakal kabuklarından hazırlanan doğal besin ortamında *R. glutinista* β -Karoten üretiminde başlangıç pH'ının etkisi incelendiğinde, pH 7'de en yüksek X_m değeri (4.73 g k.mo/L) elde edilmesine karşın, en yüksek P_m (361.0 mg β -Karoten/L), $Y_{P/Stiş}$ (12.1 mg β -Karoten /g subs.) ve Y_{P/X_m} (80.7 mg β -Karoten /g k.mo) değerleri pH 5.0'te elde edilmiştir. Doğal besin ortamının pH değerinin hiç bir ayarlama yapılmadan 5.5 olarak ölçülmesi, pH 5.0'te β -Karoten veriminin daha yüksek olması ve fermentasyon süresinin daha kısa olması nedenleriyle çalışma pH'ı 5.5 olarak seçilmiştir. Aynı çizelgeden çalışma pH'ı 5.5'te K/S oranının (şeker derişiminin) 8.33:1'den (3.7 g/L şeker derişiminden) 133.3:1 g/L'ye (53.6g/L şeker derişimine) artmasıyla substrat tüketim (η) ve ürün oluşum (v) hızlarının, oluşan ürün derişiminin (P_m) ve en yüksek mikroorganizma derişimine bağlı β -Karoten veriminin (Y_{P/X_m}) arttığı, substrat derişimine ve birim kuru kabuk kütesine bağlı β -Karoten verimlerinin ($Y_{P/Stiş}$ ve $Y_{P/M}$) değerlerinin ise azaldığı görölmektedir. 133.3:1 g/L K/S oranında (53.6g/L şeker derişimine) en yüksek ürün derişimi 481.9 mg β -Karoten/L olarak elde edilmiştir. K/S oranının 66.6:1 g/L'ye (şeker derişiminin 27.5 g/L'ye) kadar artmasıyla μ ve X_m değerlerinin arttığı, daha yüksek K/S oranlarında (şeker derişimlerinde) ise ortamdaki şeker ve diğer tanımlanamayan organik ve inorganik bileşenlerden dolayı inhibisyonun başladığı görölmektedir. 66.6:1 K/S oranında (27.5 g/L şeker derişiminde) elde edilen en yüksek mikroorganizma derişimi (X_m) 4.0 g k. mo./L olarak saptanmıştır.

Çizelgeden yaş atık portakal kabuklarından püre ve 3.36 mm ortalama boyutundaki taneciklerden hazırlanan doğal besin ortamlarında bulunan deney sonuçlarından, püre besin ortamındaki X_m ve P_m değerleri sırasıyla 2.81 g k. mo./L ve 140.0 mg β -Karoten/L; 3.36 mm boyutlarındaki taneciklerden hazırlanan besin ortamında X_m ve P_m değerleri ise sırasıyla 3.64 g k. mo./L ve 98.9 mg β -Karoten/L olarak saptanmıştır. Her iki ortamdaki hız değerleri oldukça yakın çıkmış olup, tüm verim değerleri püreden hazırlanan doğal besin ortamında daha yüksek çıkmıştır.

Çizelge 6.5. *R. glutinis* için Farklı Besin Ortamlarında, Farklı Başlangıç pH'larında ve Farklı Substrat Derişimlerinde Elde Edilen Özgül Üreme, Ürün Oluşum ve Substrat Tüketim Hızları, En Yüksek Mikroorganizma ve β -Karoten Derişimleri ile Substrat, Mikroorganizma ve Kabuk Derişimine Bağlı β -Karoten Verim Değerleri

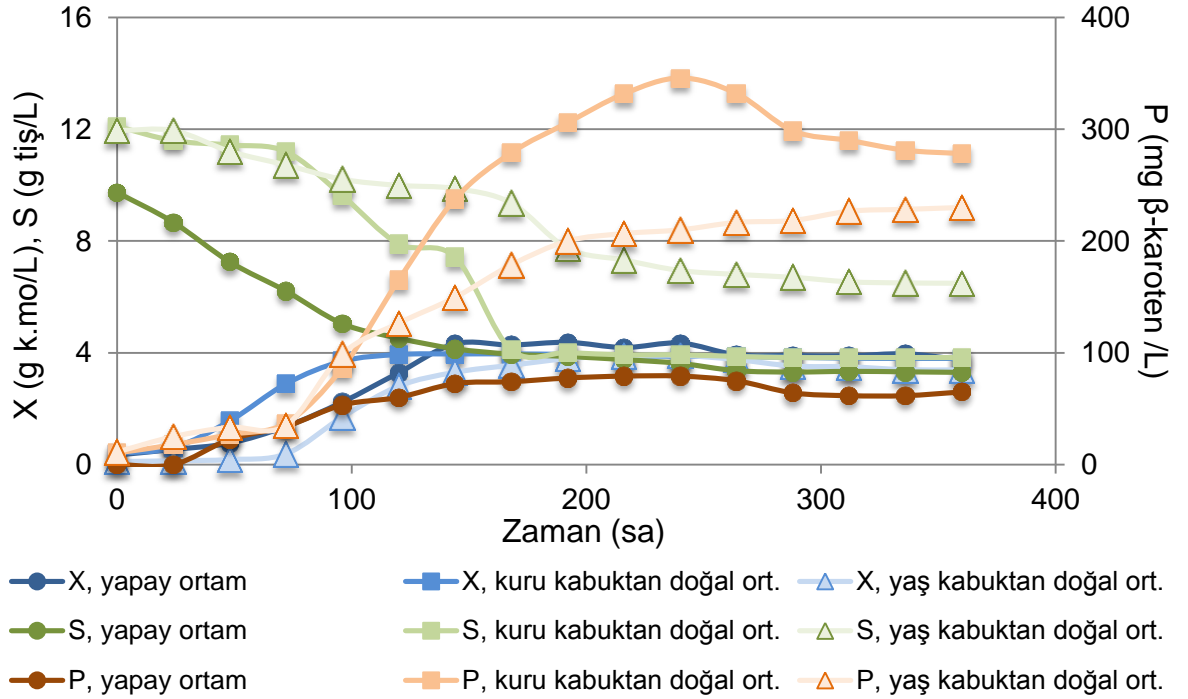
Besin Ortamı	Parametre	Değer g/L	μ sa ⁻¹	v mg β - Karoten/ g k.mo.sa	η g subs. /g k.mo.sa	X_m g/L	P_m mg/L	$Y_{P/S0}$ mg/g	$Y_{P/Xm}$ mg/g	$Y_{P/M}$ mg/g	
Yapay Besin Ortamı	Başlangıç Substrat Derişimi Sıfş	2.5	0.009	0.056	0.0056	2.8	24.4	9.6	8.6	-	
		5	0.016	0.079	0.0081	3.4	44.3	8.8	13.0	-	
		7.5	0.021	0.0967	0.0096	3.8	61.2	8.1	16.1	-	
		10	0.025	0.113	0.0102	4.2	79.8	7.9	19.1	-	
		12.5	0.028	0.124	0.0108	4.7	90.6	7.1	19.3	-	
		15	0.031	0.131	0.0113	4.9	94.4	6.3	19.3	-	
		20	0.034	0.14	0.0115	5.2	101.8	5.1	19.4	-	
Kuru Kabuktan Doğal Besin Ortamı	Başlangıç Substrat Derişimi, Sıfş (K/S Oranı)	3.7(8.3)	0.038	0.376	0.010	2.9	69.2	18.7	33.1	8.3	
		7.9(16.6)	0.044	0.539	0.011	3.1	116.2	14.7	37.5	7.0	
		12.1(33.3)	0.046	0.692	0.017	4.0	221.5	18.3	55.0	6.6	
		27.5(66.6)	0.059	2.35	0.047	4.0	361.7	13.1	90.0	5.4	
		43.5(100.0)	0.036	3.531	0.067	3.5	467.5	10.7	133.0	4.6	
		53.6(133.3)	0.034	7.68	0.30	2.4	481.9	9.0	203.8	3.6	
	Başlangıç pH'i	4.0	0.021	0.937	-	4.3	295.8	9.9	68.6	4.4	
		5.0	0.041	1.99	-	4.5	361.0	12.1	80.7	5.4	
		6.0	0.049	0.973	-	4.2	177.5	5.9	42.2	2.7	
		7.0	0.036	0.875	-	4.7	157.5	5.3	33.3	2.3	
	Yaş Kabuktan Doğal Besin Ortamı	Kabuk Türü	Yaş Püre	0.047	1.202	0.085	2.8	140.0	5.09	50.0	2.10
			Yaş 3.36mm	0.047	0.947	0.086	3.6	98.9	3.58	27.2	1.48

Yapay ve yaş ve kuru portakal kabuklarından hazırlanan doğal besin ortamlarında 10 g/L substrat derişimine yakın olarak, 10 g/L glukoz içeren yapay besin ortamında, 33.3:1 g/L K/S oranında 12.1 g/L toplam indirgen şeker içeren kuru kabuktan doğal besin ortamında ve 66.6:1 g/L K/S oranında 12.0 g/L toplam indirgen şeker içeren 3.36 mm boyutundaki yaş kabuktan doğal besin elde edilen mikroorganizma, substrat ve β -Karoten derişimlerinin zamanla değişim eğrileri Şekil 6.4.'te sunulmuştur. Şekilden mikroorganizmanın en hızlı kuru kabuktan hazırlanan doğal besin ortamında ürediği, yapay, kuru ve yaş kabuktan hazırlanan doğal besin ortamlarında mikroorganizmanın üremesinde gecikme evresinin sırasıyla 48 saat, 24 saat ve 76 saat sürdüğü ve 120 saatin sonunda en yüksek mikroorganizma derişiminin sırasıyla 4.2 g/L, 4.0 g/L ve 3.6 g/L olduğu saptanmıştır. Yine aynı şekilden yapay besin ortamında β -Karoten üretiminin 24. saatte başladığı ve 96. saatin sonunda en yüksek 53.5 mg β -Karoten/L derişimine ulaşıldığı, her iki doğal besin ortamında da β -Karoten üretiminin 72. saatte başladığı, β -Karoten üretim hızının yapay besin ortamındaki hıza göre çok daha yüksek olduğu ve β -Karoten üretiminin mikroorganizmanın üremesinden bağımsız olarak 240. saate kadar devam ettiği ve kuru kabuktan hazırlanan ortamda en yüksek 345.8 mg/L, yaş kabuktan hazırlanan doğal besin ortamında ise en yüksek 220.0 mg/L değerine erişildiği görülmektedir. Bu farkların ortaya çıkmasında portakal kabuğunun yapısında bulunan karoten cinsi pigmentlerin, pektin yapıların ve çeşitli hidrokarbonların etkisinin büyük olduğu kesindir. Şekil 6.4.'te üç besin ortamında verilen substrat tüketim eğrileri incelendiğinde, yapay ortamdaki şekerin hemen tüketilmeye başlandığı, doğal besin ortamlarındaki şekerin ise 72. saatten sonra harcanmaya başlandığı, yaş kabuktan hazırlanan doğal besin ortamındaki substrat tüketiminin daha yavaş, kuru kabuktan hazırlanan doğal besin ortamında ki şekerin ise daha hızla tüketildiği görülmektedir. Literatürde Taşkın ve arkadaşlarının 2011 yılında [88] yaptıkları *R. glutinis*'in besin ortamında tavuk tüylerini pepton kaynağı olarak kullandıkları çalışmalarında 92 mg/L karotenoid üretimi, Marova ve arkadaşları 2011 yılındaki [112] çalışmalarında bir çok atık substratın karotence zengin ürünlere sahip mayaların üretiminde kullanılabilirliğini araştırmışlar ve *R. mudlaginosa mayası* ile 56 mg/L β -Karoten üretimi, Saenge ve arkadaşları 2011 yılında [80] gerçekleştirdikleri çalışmalarında *R. glutinis*'i ham gliserolün lipid ve karotene biyodönüşümünde kullanmışlar ve 135.2 mg/L karoten üretimi, Aksu ve

Eren 2007 yılındaki [93] çalışmalarında melası substrat kaynağı olarak kullanmışlar ve *R. glutinis*'ten 120 mg/L toplam karotenoid üretimi gerçekleştirmişlerdir. Literatür çalışmalarıyla karşılaştırıldığında, portakal kabuğundan hazırlanan besin ortamında *R. glutinis*'in çok daha yüksek verimde β -Karoten ürettiği gözlenmektedir.

Fermentasyon çalışmalarının sonuçları genel olarak değerlendirildiğinde;

- *R. glutinis* mayasının tüm besin ortamlarında yüksek hız ve verimde ürediği,
- *R. glutinis*'in β -Karoten üretimini kuru portakal kabuğundan hazırlanan doğal besin ortamında yedi katı, yaş kabuktan hazırlanan doğal besin ortamında dört katı arttırdığı saptanmıştır.



Şekil 6.4. Yapay ve Kuru ve Yaş Portakal Kabuklarından Hazırlanan Doğal Besin Ortamlarında Yaklaşık 10-12 g/L Şeker Derişimlerinde Elde Edilen *R. glutinis*'in Üreme, β -Karoten Üretim ve Substrat Tüketim Eğrileri (T=29°C; Başlangıç pH'ı=5.5; Çalkalama Hızı=120 rpm)

R. glutinis'in yapay besin ortamında üremesinde çalışılan glukoz derişim aralığında substrat inhibisyonunun olmadığı gözlenmiş ve bu durumda Monod Eşitliği kullanılarak mayaya ait kinetik sabitler hesaplanmıştır. Mayanın kurutulmuş portakal kabuğundan hazırlanmış doğal besin ortamında üremesinde çalışılan şeker derişimi aralığında substrat inhibisyonunun olduğu gözlenmiş ve bu durumda deneysel verilere yarışmalı ve yarışmasız substrat inhibisyon modelleri uygulanarak

büyümenin hangi modele uyduğu araştırılmış ve bulunan kinetik sabitler karşılaştırmalı olarak Çizelge 6.6.'da sunulmuştur. Çizelgeden Monod Eşitliği'nin yapay ortamdaki üremeyi, yarışmasız substrat inhibisyon modelinin de doğal ortamdaki üremeyi iyi tanımladığı gözlenmektedir.

Çizelge 6.6. Yapay Besin Ortamında Monod Eşitliği'nden, Kurutulmuş Portakal Kabuğundan Hazırlanmış Doğal Besin Ortamında Yarışmalı ve Yarışmasız Substrat İnhibisyon Modellerinden Bulunan *R. glutinis*'e Ait Kinetik Sabitler

Besin Ortamı	Kinetik Model	μ_m (sa ⁻¹)	K_s (g/L)	K_i (g/L)	R ²
Yapay Besin Ortamı	Monod Eşitliği	0.051	10.6	-	-
Doğal Besin Ortamı	Yarışmasız Substrat İnhibisyon Modeli	0.083	4.4	40.5	0.95
	Yarışmalı Substrat İnhibisyon Modeli	0.039	0.2	98.8	0.12

Yaş ve kuru portakal kabuklarından ekstraksiyonla ve fermantasyonla elde edilen karoten pigmentleri hız ve verimlilik açısından Çizelge 6.7.'de. karşılaştırılmıştır. Çizelgeden fermentasyon süresinin oldukça uzun, pigment üretim hızının daha düşük olmasına karşın, mikrobiyal karoten pigment veriminin ekstraksiyonla elde edilenin en az iki katı olduğu görülmektedir.

Çizelge 6.7. Portakal Kabuğundan Ekstraksiyonla Elde Edilen Karoten Pigment ve Fermentasyonla Üretilen β -Karoten Pigmentin Hız ve Verimlilik Açısından Karşılaştırılması

Portakal Kabuğundan Ekstraksiyonla Üretilen Karoten Pigment				Portakal Kabuğundan Hazırlanan Doğal Besin Ortamında <i>R.glutinis</i> Mayasıyla Üretilen β -Karoten			
Kabuk Türü	Ekstraksiyon Süresi (sa)	h_k (mg karoten/L sa)	Karoten Verimi (mg/g k. kabuk)	Kabuk Türü	Fermentasyon Süresi (sa)	γ (mg karoten/L sa)	$Y_{P/M}$ (mg/g k. kabuk)
Kuru	5	34.8	1.2	Kuru	96	1.09	8.3
Yaş (Donmuş)	5	79.8	4.5	Yaş	96	3.36	2.1

Son olarak tez çalışmasında atık portakal kabuklarının çok düşük maliyetle ekstraksiyonla fenolik ve karoten pigmentlerin yüksek verimde üretiminde kullanılabileceği gösterilmiştir. Ayrıca *R. glutinis* mayasının üremesi ve yüksek verimde β -Karoten pigment üretmesinde ilk defa atık portakal kabukları kurutularak ya da doğrudan kullanılarak doğal bir besin ortamı oluşturulmuş ve literatüre yeni ve düşük maliyetli bir besin ortamı kazandırılmıştır.

Çalışmaların bundan sonraki kısmında sokslet ekstraksiyonundaki iç ve dış difüzyon sabitlerinin belirlenmesi, diğer ekstraksiyon yöntemleri kullanılarak bu sistemlere ait kinetik sabitlerin araştırılması, sistemin optimizasyonu için RSM gibi tekniklerin kullanılması, atık portakal kabuklarından hazırlanan doğal besin ortamında farklı tür mikroorganizmaların üreme ve ürün üretme verimlerinin incelenmesi düşünülmektedir.

REFERANSLAR

- [1] Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliği, Yayımlandığı Resmi Gazete, 16 Kasım 1997 23172, Yetki Kanunu 560 S.K.H.K., **1997**.
- [2] Yurttagül, B., *Katkı Maddeleri: Yanlışlar Ve Doğrular*, Place, Hacettepe Üniversitesi - Sağlık Bilimleri Fakültesi, Beslenme ve Diyetetik Bölümü, 978-975-590-243-2, **2008**.
- [3] Moure, A., Cruz, J. M., Franco, D., Domínguez, J. M., Sineiro, J., Domínguez, H., José Núñez, M. A., Parajó, J. C., Natural Antioxidants from Residual Sources, *Food Chemistry*, 72, 145-71, **2001**.
- [4] Jayaprakasha, G. K., Singh, R. P., Sakariah, K. K., Antioxidant Activity of Grape Seed (*Vitis vinifera*) Extracts on Peroxidation Models in Vitro, *Food Chemistry*, 73, 285-90, **2001**.
- [5] K. J. Carson, J. L. C., M. P. Penfield, Unrefined, Dried Apple Pomace as a Potential Food Ingredient, *Journal of Food Science* 59(6), 1213 - 5, **2006**.
- [6] Stahl, W., Schwarz, W., Sundquist, A. R., Sies, H., Cis-trans Isomers of Lycopene and β -carotene in Human Serum and Tissues, *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 294, 173-7, **1992**.
- [7] Khoo, H. E., Parasad, K. N., Kong, K. W., Jiang, Y., Ismail, A., Carotenoids and Their Isomers: Color Pigments in Fruits and Vegetables, *Molecules* 16, 1710-38, **2011**.
- [8] Choi, I. S., Lee, Y. G., Khanal, S. K., Park, B. J., Bae, H.-J., A Low-energy, Cost-effective Approach to Fruit and Citrus Peel Waste Processing for Bioethanol Production, *Applied Energy*, 140, 65-74, **2015**.
- [9] Yagcı, S., Altan, A., Göğüs, F., Medeni Maskan, Gıda Atıklarının Alternatif Kullanım Alanları, *24-26 Mayıs*, Bolu, Türkiye, **2006**.
- [10] Anonim, <http://www.bilgiustam.com/turkiyede-tarim>, (Aralık, **2015**).
- [11] Anonim, <http://www.zmo.org.tr>, (Aralık, **2015**).
- [12] Narenciye İşleme Atıkları Değerlendirme Çalıştayı, **2015**.
- [13] Tanker, N., Coşkun, M., *Farmasötik Botanik*, **2007**.

- [14] Lopresto, C. G., Petrillo, F., Casazza, A. A., Aliakbarian, B., Perego, P., Calabrò, V., A Non-conventional Method to Extract D-limonene from Waste Lemon Peels and Comparison with Traditional Soxhlet Extraction, *Separation and Purification Technology*, 137, 13-20, **2014**.
- [15] Oreopoulou, V., Tzia, C., Utilization of Plant by-products for the Recovery of Proteins, Dietary Fibers, Antioxidants and Colorants, *Waste in the Food Industry*, 209-32, **2006**.
- [16] Moussaid, M., Caillet, S., Nketsia-Tabiri, J., Boubekri, C., Lacroix, M., , Phenolic Compounds and the Colour of Oranges Subjected to a Combination Treatment of Waxing and Irradiation, *Journal Science Food Agriculture*, 84, 1625-31, **2004**.
- [17] Turhan, İ., Tetik, N., Karhan, N., Kabuk Yağlarının Elde Edilmesi ve Gıda Endüstrisinde Kullanımı, *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi*, 3, 71-7, **2006**.
- [18] Anonim, wikipedia.org, (Aralık, **2015**).
- [19] Ferreira, S. R. S., Meireles, M. A. A., Cabral, F. A., Extraction of Essential oil of Black Pepper with Liquid Carbon Dioxide, *Journal of Food Engineering*, 20, 121-33, **1993**.
- [20] Zia Ur, R., Citrus Peel Extract – A Natural Source of Antioxidant, *Food Chemistry*, 99, 450-454, **2006**.
- [21] Liu, Y., Shi, J., Langrish, T. A. G., Water-based Extraction of Pectin from Flavedo and Albedo of Orange Peels, *Chemical Engineering Journal*, 120, 203-209, **2006**.
- [22] F.A. Masoodi, B. S., G.S. Chauhan, Use of Apple Pomace as a Source of Dietary Fiber in Cakes, *Plant Foods for Human Nutrition*, 57, 121–128, **2002**.
- [23] Sogi, D. S., Sidhu, J.S., Arora, M.S., Garg, S.K. ve Bawa, A.S., Effect of Tomato Seed Meal Supplementation on the Dough and Bread Characteristics of Wheat (PBW 343) Flour, *International Journal of Food Properties* 5, 563-571, **2002**.
- [24] Persia M. E., Parsons C. M., Schang M., Azcona J., Nutritional Evaluation of Dried Tomato Seeds, *Poultry Science*, 82(1), 141-146, **2003**.

- [25] Anonim, http://www.zootekni.org.tr/upload/File/gıda_katkı_maddeleri.pdf, (Aralık, **2015**).
- [26] Vries, J. D., *Food Safety and Toxicology*, Food Additives, MMT. J, Place, Published, **1997**.
- [27] JECFA Safety Evaluation of Certain Food Additives and Contaminants, Switzerland, **2005**.
- [28] Turkcan, O., Mikrobiyal Karotenoidler, *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi*, 5, 115-122, **2012**.
- [29] Denizci, A. A., *Phaffia rhodozyma NRRLY-10921 Mayası ile Astaksantin Pigmentinin Üretimi ile ilgili Bir Araştırma*, Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü İzmir, **1990**.
- [30] Bağdatlıoğlu N., Demirbüker, B., Gıda İşlemede Karotenoidlerde Meydana Gelen Gelişmeler, *Gıda*, 9, 48-51, **1999**.
- [31] Rodriguez-Amaya, D. B., Carotenoids and Food Preparation: The Retention of Provitamin A Carotenoids in Prepared, Processed, and Stored Foods., *Opportunities for Micronutrient Intervention*, Brazil, **1997**.
- [32] Rock, C. L., Carotenoids: Biology and Treatment, *Pharmacology Ther*, 75(3), 185-197, **1997**.
- [33] Chaudhry, Y., Carotenoids-Natural Food Colors and Health Benefits, *Symposium 12, Interaction of Natural Colors with Other Ingredients*, **2003**.
- [34] Stahl W, S. H., Lycopene: A Biologically Important Carotenoid for Humans, *Arch Biochem Biophys* 336, 1-9, **1996**.
- [35] Krinsky NI, J. E., Carotenoid Actions and Their Relation to Health and Disease, *Mol Aspects Med* 26, 459-516, **2005**.
- [36] Woutersen R. A., Wolterbeek, A. P., Appel M. J., Van der Berg, H., Goldbohm, R. A. , Feron V. J., Safety Evaluation of Synthetic β -carotene, *Crit Rev Toxicol*, 29, 515-542, **1999**
- [37] Fox, G. A., Communities of Individuals. Plant Ecology, *Trends in Plant Science*, 3, 41-72, **1998**.

- [38] Bell, E. A., *Phytochemical Dictionary of the Leguminosae*, Volume 1, Plants and Their Constituents 1051 pp.; Volume 2, Chemical Constituents, 573, **1995**.
- [39] Aksan, E., *Çeşitli Mayalardan Karoteneidlerin Elde Edilmesi ve Sucukta Renklendirici Olarak Kullanım Olanaklarının Araştırılması*, Doktora Tezi, Çukurova Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Adana, Türkiye, **2005**.
- [40] Harmancıoğlu, M., Türkiye’de Bulunan Önemli Bitki Boyalarından Elde Olunan Renklerin Çeşitli Müessirlere Karşı Yün Üzerindeki Haslık Dereceleri, Ankara Üniversitesi, *Ziraat Fakültesi Yayınları*, 77, **1955**.
- [41] *Businnies Plan Essential Oils*, ISO TC 054, Place, Published, **2006**.
- [42] Wan, H. B., Wong, M. K., Minimization of Solvent Consumption in Pesticide Residue Analysis, *Journal of Chromatography A*, 754, 1-2, **1996**.
- [43] Eskilsson, C. S., Bjorklund, E., Analytical-scale Microwave-assisted Extraction, *Journal of Chromatography A*, 902, 227, **2000**.
- [44] McCabe W.L., Smith, J. C., Harriot, P., *Unit Operations of Chemical Engineering* 6th Edition ed, McGraw-Hill, **2001**.
- [45] Wingard, M. R., Philips, R. C. , The Effects of Temperature on Extraction Rate, *Journal of the American Oil Chemist Society*, 149-152, **1951**.
- [46] Chan, C.-H., Yusoff, R., Ngoh, G.-C., Modeling and Kinetics Study of Conventional and Assisted Batch Solvent Extraction, *Chemical Engineering Research and Design*, 92, 1169-86, **2014**.
- [47] Rezaie, M., Farhoosh, R., Iranshahi, M., Sharif, A., Golmohamadzadeh, S., Ultrasonic-assisted Extraction of Antioxidative Compounds from Bene (*Pistacia Atlantica* Subsp. *Mutica*) Hull Using Various Solvents of Different Physicochemical Properties, *Food Chemistry*, 173, 577-83, **2015**.
- [48] Zaghdoudi, K., Pontvianne, S., Framboisier, X., Achard, M., Kudaibergenova, R., Ayadi-Trabelsi, M., Kalthoum-Cherif, J., Vanderesse, R., Frochot, C., Guiavarc’h, Y., Accelerated Solvent Extraction of Carotenoids from: Tunisian Kaki (*Diospyros kaki* L.), Peach (*Prunus persica* L.) and Apricot (*Prunus armeniaca* L.), *Food Chemistry*, 184, 131-9, **2015**.

- [49] Gu, C.-H., Li, H., Gandhi, R. B., Raghavan, K., Grouping Solvents by Statistical Analysis of Solvent Property Parameters: Implication to Polymorph Screening, *International Journal of Pharmaceutics*, 283, 117-25, **2004**.
- [50] Zygler, A., Słomińska, M., Namieśnik, J., 2.04 - Soxhlet Extraction and New Developments Such as Soxtec, *Comprehensive Sampling and Sample Preparation*. Academic Press, Oxford, 65-82, **2012**.
- [51] Soxhlet, F., The Gewischtsanalytische Bestimmung des Milchfettes, *Dingler's Polytechnisches Journal*, 232, 461–465, **1879**.
- [52] Linskens, H. F., Jackson, J. F., Essential Oils and Waxes, *Modern Methods of Plant Analysis*, 12, **1997**.
- [53] Luque de Castro, M. D., Priego-Capote, F., Soxhlet Extraction: Past and Present Panacea, *Journal of Chromatography A*, 1217, 2383-2389, **2010**.
- [54] Yeoh, S., Shi, J., Langrish, T. A. G., Comparisons Between Different Techniques for Water-based Extraction of Pectin from Orange Peels, *Desalination*, 218, 229-237, **2007**.
- [55] Srivastava, P., Sources of Pectin, Extraction and Its Applications in Pharmaceutical Industry, *Indian Journal of Natural Products and Resources*, 2, 10-18, **2011**.
- [56] Pala, A., Tekstil Atıksularının İstatistiksel Karakterizasyonu ve Kaynakta Renk Giderim Çalışmaları, 6. Endüstriyel Kirlenme Kontrolü Sempozyumu, İstanbul, Türkiye, **1998**.
- [57] Grau, P., Textile Industry Wastewater Treatment, *Water Science Technology*, 24, 97-103, **1992**.
- [58] Barlas, H., Endüstriyel Atıksular için Renk Parametresi Önerisi, *Türkiye'de Çevre Kirlenmesi Öncelikleri Sempozyumu III*, Gebze, Türkiye, **1999**.
- [59] Pekin B., *Biyokimya Mühendisliği*, Ege Üniversitesi Kimya Fakültesi Yayınları 4, **1983**.
- [60] Aksu, Z., *Atıksulardaki Ağır Metal İyonlarının Yeşil Alglerden Chlorella vulgaris'e Adsorpsiyonunun Kesikli Düzendeki Karıştırılmalı ve Akışkan Yatak*

- Tepkime Kaplarında İncelenmesi*, Hacettepe Üniversitesi, Kimya Mühendisliği, Ankara, Türkiye, **1988**.
- [61] Kargı, F., *Çevre Mühendisliğinde Biyoprosesler*, Dokuz Eylül Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Yayınları, **1993**.
- [62] Walker, G. M., *Yeast Physiology and Biotechnology*, Wiley and Sons, İngiltere, **2000**.
- [63] Ralph, A. L., *Physiology and Biochemistry of Algae*. Academic Press, USA, **1967**.
- [64] Yücel, G., H., *Şeker Pancarı Küspesinin Biyoetanol Üretiminde Kullanılabilirliğinin Araştırılması*, Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi, Kimya Mühendisliği, Ankara, Türkiye, **2011**.
- [65] Arda, P. D. M., *Temel Mikrobiyoloji*, İkinci Baskı, Medisan Yayın Serisi, **2000**.
- [66] Öztürk, İ., *Anaerobik Biyoteknoloji ve Atık Arıtımındaki Uygulamaları*, Su Vakfı Yayınları, **1999**.
- [67] Aksu, Z., Dönmez, G., *The Use of Molasses in Copper(II) Containing Wastewaters: Effects on Growth and Copper(II) Bioaccumulation Properties of Kluyveromyces marxianus*, *Process Biochemistry*, 36, 451-8, **2000**.
- [68] Kodal, S., P., *Değişik Biyosorbentlerle Tekli ve İkili Yüzey Aktif Madde ve Boyarmadde Biyosorpsiyonunun İncelenmesi ve Yüzey Aktif Maddenin Boyarmadde Biyosorpsiyonunun Üzerine Etkilerinin Araştırılması*, Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi, Kimya Mühendisliği, Ankara, Türkiye, **2010**.
- [69] Wang, Y., Gong, Z., Yang, X., Shen, H., Wang, Q., Wang, J., Zhao, Z. K., *Microbial Lipid Production from Pectin-derived Carbohydrates by Oleaginous Yeasts*, *Process Biochemistry*, 50, 1097-102, **2015**.
- [70] Sun, Q., Li, A., Li, M., Hou, B., *Effect of pH on Biodiesel Production and the Microbial Structure of Glucose-fed Activated Sludge*, *International Biodeterioration & Biodegradation*, 104, 224-230, **2015**.

- [71] Panesar, R., Kaur, S., Panesar, P. S., Production of Microbial Pigments Utilizing Agro-industrial Waste: A Review, *Current Opinion in Food Science*, 1, 70-76, **2015**.
- [72] Martin, A. M., Lu, C., Patel, T. R., Growth Parameters for the Yeast *Rhodotorula Rubra* Grown in Peat Extracts, *Journal of Fermentation and Bioengineering*, 76, 321-325, **1993**.
- [73] Buzzini, M., Contents, *Systematic and Applied Microbiology*, 22, III-VII, **1999**.
- [74] Bhosale, P., Gadre, R. V., Production of β -carotene by a *Rhodotorula glutinis* Mutant in Sea Water Medium, *Bioresource Technology*, 76, 53-55, **2001**.
- [75] Luis Carlos Mata-Gómez, J. C. M., Alejandro Méndez-Zavala, Cristóbal Noé Aguilar, Biotechnological Production of Carotenoids by Yeasts: An Overview, *Microbial Cell Factories*, **2014**.
- [76] Eren, A., T., *Rhodotorula Türü Mayalar ile Beta Karoten Üretiminin İncelenmesi*, Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi, Kimya Mühendisliği, Ankara, Türkiye, **2003**.
- [77] Hernández-Almanza, A., Cesar Montanez, J., Aguilar-González, M. A., Martínez-Ávila, C., Rodríguez-Herrera, R., Aguilar, C. N., *Rhodotorula Glutinis* as Source of Pigments and Metabolites for Food Industry, *Food Bioscience*, 5, 64-72, **2014**.
- [78] Alvarez, R. M., Rodriguez, B., Romano, J. M., Diaz, A. O., Omez, E., Miro, D., Navarro, L., Saura, G., & Garcia, J. L. , Lipid Accumulation in *Rhodotorula Glutinis* on Sugar Cane Molasses in Single-stage Continuous Culture., *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 8, 214–215, **1992**.
- [79] Cheirsilp, B., Torpee, S., Enhanced Growth and Lipid Production of Microalgae Under Mixotrophic Culture Condition: Effect of Light Intensity, Glucose Concentration and Fed-batch Cultivation, *Bioresource Technology*, 110, 510-516, **2012**.
- [80] Saenge, C., Cheirsilp, B., Suksaroge, T. T., Bourtoom, T., Potential Use of Oleaginous Red Yeast *Rhodotorula glutinis* for the Bioconversion of Crude

- Glycerol from Biodiesel Plant to Lipids and Carotenoids, *Process Biochemistry*, 46, 210-218, **2011**.
- [81] Liu, Y., Wang, Y., Liu, H., Zhang, J. A., Enhanced Lipid Production with Undetoxified Corncob Hydrolysate by *Rhodotorula glutinis* Using a High Cell Density Culture Strategy, *Bioresource Technology*, 180, 32-39, **2015**.
- [82] Buzzini, P., Martini, A., Gaetani, M., Turchetti, B., Pagnoni, U. M., Davoli, P., Optimization of Carotenoid Production by *Rhodotorula graminis* DBVPG 7021 as a Function of Trace Element Concentration by Means of Response Surface Analysis, *Enzyme and Microbial Technology*, 36, 687-692, **2005**.
- [83] Davoli, P., Mierau, V., & Weber, R. W. S. , Carotenoids and Fatty Acids in Red Yeast *Sporobolomyces Roseus* and *Rhodotorula Glutinis*., *Applied Biochemistry and Microbiology*, 40(4), 392–7, **2004**.
- [84] Easterling, E. R., French, W. T., Hernandez, R., Licha, M., The Effect of Glycerol as a Sole and Secondary Substrate on the Growth and Fatty Acid Composition of *Rhodotorula glutinis*, *Bioresource Technology*, 100, 356-361, **2009**.
- [85] Lopes da Silva, T., Feijão, D., Roseiro, J. C., Reis, A., Monitoring *Rhodotorula Glutinis* CCMI 145 Physiological Response and Oil Production Growing on Xylose and Glucose Using Multi-parameter Flow Cytometry, *Bioresource Technology*, 102, 2998-3006, **2011**.
- [86] Papaparaskevas, D., Christakopoulos, P., Kckos, D., & Macris, B. J., Optimizing Production of Extracellular Lipase from *Rhodotorula glutinis*., *Biotechnology Letters*, 14(5), 397–402, **1992**.
- [87] Khayati, G., Alizadeh, S., Extraction of Lipase from *Rhodotorula glutinis* Fermentation Culture by Aqueous Two-phase Partitioning, *Fluid Phase Equilibria*, 353, 132-134, **2013**.
- [88] Taskin, M., Sisman, T., Erdal, S., & Kurbanoglu, E. B. , Use of Waste Chicken Feathers as Peptone for Production of Carotenoids in Submerged Culture of *Rhodotorula glutinis* MT-5., *European Food Research and Technology*, 233, 657–365, **2011**.

- [89] Bhosale, P., Jogdand, V. V., & Gadre, R. V., Stability of b-carotene in Spray Dried Preparation of Rhodotorula glutinis Mutant 32, *Journal of Applied Microbiology*, 95, 584–590, **2003**.
- [90] M. Roadjnakamolson, W. S., Production of β -carotene-enriched Rice Bran Using Solid-state Fermentation of Rhodotorula glutinis, *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 20 (3), 525–531, **2010**.
- [91] Mizioroko, H. M., Enzymes of the Mevalonate Pathway of Isoprenoid Biosynthesis, *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 505, 131-143, **2011**.
- [92] Buhaescu, I., Izzedine, H., Mevalonate Pathway: A Review of Clinical and Therapeutical Implications, *Clinical Biochemistry*, 40, 575-584, **2007**.
- [93] Aksu, Z., Eren, A. T., Production of Carotenoids by the Isolated Yeast of Rhodotorula glutinis, *Biochemical Engineering Journal*, 35, 107-113, **2007**.
- [94] Bai, J., Yao, H., Fan, F., Lin, M., Zhang, L., Ding, H., Lei, F., Wu, X., Li, X., Guo, J., Qin, Z., Biosorption of Uranium by Chemically Modified Rhodotorula glutinis, *Journal of Environmental Radioactivity*, 101, 969-973, **2010**.
- [95] M. Wenyan, L. Y., D. Xiojing, L. Rui, H. Ruilin and P. Yuanjian, Determination of Anti-tumor Constitute Mollugin from Traditional Chinese Medicine Rubia Cordifolia: Comparative Study of Classical and Microwave Extraction Techniques, *Journal Separation Science and Technology*, 44, 995-1006, **2009**.
- [96] Rakotondramasy-Rabesiaka, L., Havet, J. L., Porte, C., Fauduet, H., Solid–liquid Extraction of Protopine from Fumaria Officinalis L.—Kinetic Modelling of Influential Parameters, *Industrial Crops and Products*, 29, 516-523, **2009**.
- [97] Qu, W., Pan, Z., Ma, H., Extraction Modeling and Activities of Antioxidants from Pomegranate Marc, *Journal of Food Engineering*, 99, 16-23, **2010**.
- [98] Saxena, D. K., Sharma S. K., Sambhi S. S., Kinetics and Thermodynamics of Cottonseed Oil Extraction, *Grasas y Aceites*, 62 (2), 198-205, **2011**.
- [99] Edwards, V., H., The Influence of High Substrate Concentrations on Microbial Kinetics, *Biotechnology and Bioengineering*, 12, 679-712, **1970**.

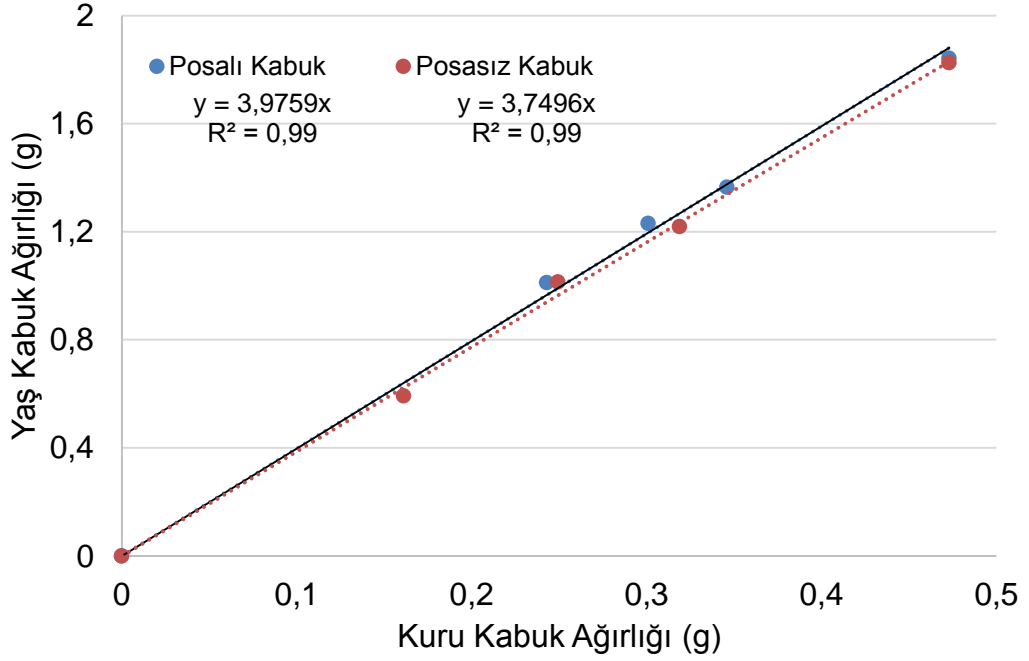
- [100] Shuler, M. L., Kargi, F., *Bioprocess Engineering Basic Concepts*, Second Edition, ISBN-10: 0130819085.
- [101] Forouchi, E., Gunn, D. J., Some Effects on Metal Ions on the Estimation of Reducing Sugars in Biological Media, *Biotechnology Bioengineering Journal*, 25, 1905-1911, **1983**.
- [102] Sulaiman, S., Abdul Aziz, A. R., Kheireddine Aroua, M., Optimization and Modeling of Extraction of Solid Coconut Waste Oil, *Journal of Food Engineering*, 114, 228-234, **2013**.
- [103] Herodež, Š. S., Hadolin, M., Škerget, M., Knez, Ž., Solvent Extraction Study of Antioxidants from Balm (*Melissa officinalis* L.) Leaves, *Food Chemistry*, 80, 275-282, **2003**.
- [104] Wang, Y.-C., Chuang, Y.-C., Hsu, H.-W., The Flavonoid, Carotenoid and Pectin Content in Peels of Citrus Cultivated in Taiwan, *Food Chemistry*, 106, 277-284, **2008**.
- [105] Heinonen, M. I., Carotenoids and Provitamin A Activity of Carrot (*Daucus carota* L.) Cultivars, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 38, 609-612, **1990**.
- [106] Curl, A. L., Bailey G. F., Orange Carotenoids, Part I-Comparison of Carotenoids of Valencia Orange Peel and Pulp, Part II-Carotenoids Aged Canned Valencia Orange Juice, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 4, 156-162, **1956**.
- [107] Delia -Gabriela Dumbravă, N.-G. H., Daniel I. Hădărugă, Camelia Moldovan, Diana Raba, Determination by RP-HPLC of β carotene Concentration from Orange (*Citrus sinensis* L.) Fruits Peel Extracts, *Journal of Agroalimentary Processes and Technologies*, 16., 242-6, **2010**.
- [108] Eunjou, Y., Hong, J. Y., Yoo, E. S., A Novel Bioactive Fabric Dyed with Unripe Citrus Grandis Osbeck Extract Part 1: Dyeing Properties and Antimicrobial Activity on Cotton Knit Fabrics, *Textile Research Journal* 80 2117-23, **2010**.

- [109] Sayyar, S., Abidin, Z. Z., Yunus, R., Muhammad, A., Extraction of Oil from Jatropha Seeds-Optimization and Kinetics, *American Journal of Applied Sciences*, 6 (7), 1390–1395, **2009**.
- [110] Luo, L., Study on Callus Induction and Subculture of *Eucommia Ulmoides* Oliv., *Department of Nature Science, Lianyungang Teacher's College, Lianyungang, Jiangsu*, **2005**.
- [111] Muhammad Hazwan H., Azlina M. F., Hasfalina C. M., Zurina Z. A., Hishamuddin J., Optimization and Kinetic Study of Gaharu Oil Extraction, *International Journal of Biological, Biomolecular, Agricultural, Food and Biotechnological Engineering*, 7, **2013**.
- [112] Marova I, C. M., Haliénova A, Certik M, Dvorakova T, Haronikova A., Use of Several Waste Substrates for Carotenoid-rich Yeast Biomass Production, *Journal of Environment Management*, 95, 338–42, **2011**.
- [113] Gnanasambandam R., Protor A., Determination of pectin degree of esterification by diffuse reflectance Fourier transform infrared spectroscopy, *Food Chemistry*, 68, 327–332, **2000**.
- [114] Liang S., Guo X.Y., Feng N.C., Tian Q.H., Adsorption of Cu^{2+} and Cd^{2+} from aqueous solution by mercapto-acetic acid modified orange peel, *Colloids Surface B: Biointerfaces*, 73, 10–14, **2009**.
- [115] Guibavd G., Tixier N., Bouju A., Baudu M., Relation between extracellular polymer's composition and its ability to complex Cd, Cu and Pb, *Chemosphere*, 52, 1701–1710, **2003**.

EKLER

EK 1. Posalı-Posasız Portakal Kabuğu Yaş Ağırlık–Kuru Ağırlık Çalışma Doğrusunun Elde Edilmesi

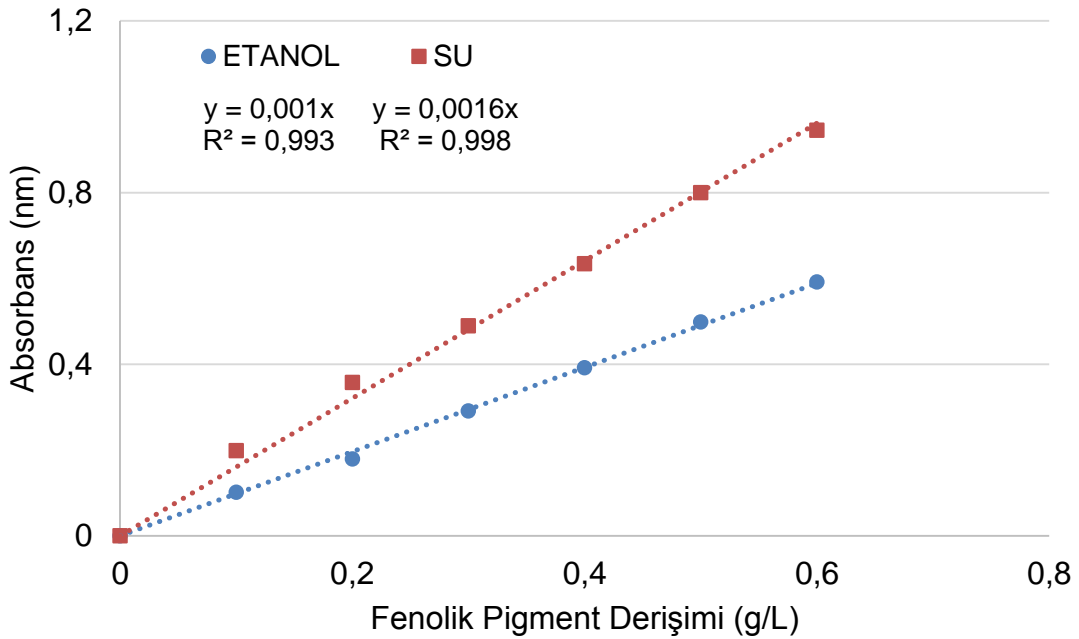
Yaş ve taze olarak temin edilen sıkılmış portakal kabukları alındığı haliyle posalı kabuk, içindeki zar kısmı çıkartılarak ise posasız kabuk olarak gruplandırılmış ve her iki tür kabuk da küçük parçalara bölünerek ayrı ayrı tartılmış ve 60°C’da karanlık ortamda kurumaya bırakılmıştır. Kabuklar sabit tartıma gelene kadar kurutma işlemine devam edilmiş ve elde edilen yaş ve kuru ağırlıkların grafiğe geçirilmesiyle oluşturulan posalı ve posasız portakal kabuklarına ait yaş ağırlık-kuru ağırlık çalışma doğruları Şekil E.1.’de sunulmuştur.



Şekil E.1. Posalı ve Posasız Portakal Kabukları için Yaş Ağırlık–Kuru Ağırlık Çalışma Doğruları

EK 2. Fenolik Pigment Çalışma Doğrularının Elde Edilmesi

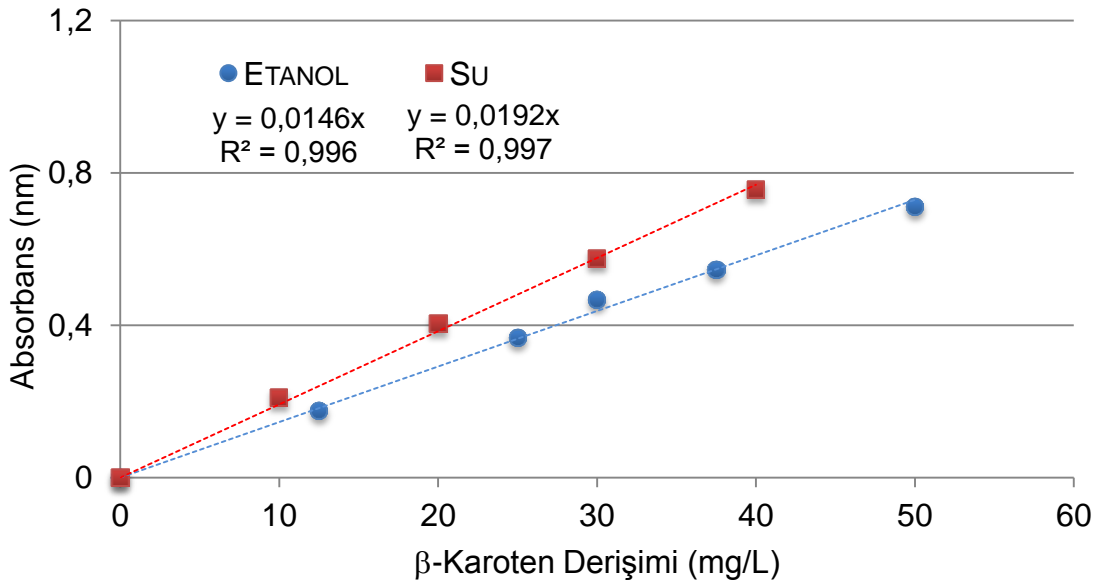
Ekstraksiyon sonucunda çözücüye geçen turuncu renkli pigment Heidolph marka Hei-VAP Precision model döner buharlaştırıcıda (Şekil 4.2.) çözücünün uzaklaştırılmasıyla yarı akışkan hale getirilmiş ve karanlık ortamda kurumaya bırakılmıştır. Elde edilen toz halindeki kuru pigmentten ekstraksiyonda kullanılan su ve etanol çözücülerinin her biri ile 100 ml hacminde 1 g/L derişiminde stok çözeltiler hazırlanmış ve 0,5 g/L'ye seyreltilmiş çözeltilerle Thermo Scientific Genesys 10 UV marka ve model spektrofotometrede dalga boyu taraması yapılarak fenolik pigmentin görünür bölgedeki optimum dalga boyunun 325 nm olduğu ve optimum dalga boyunun çözücünün türüne göre değişmediği bulunmuştur. Stok çözeltiden derişimi 0,1-0,6 mg/L aralığında değişen pigment çözeltileri hazırlanmış ve çözeltilerin 325 nm'de absorbansları okunarak fenolik pigmentin çalışma doğruları elde edilmiştir (Şekil E.2.). Tüm ekstraksiyon çalışmalarında çözücüye geçen fenolik pigment derişimi bu yöntemle tayin edilmiştir.



Şekil E.2. Fenolik Pigmentin Etanol ve Su Çözücülerinde Elde Edilen Çalışma Doğruları

EK 3. Ekstraksiyonda Kullanılan Karoten Pigment Çalışma Doğrularının Elde Edilmesi

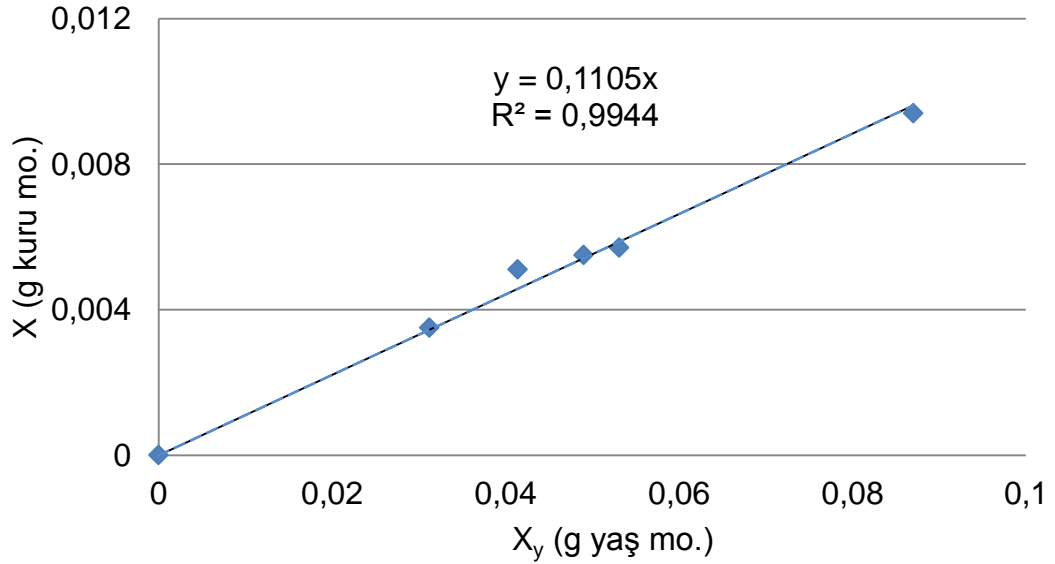
Tez çalışması kapsamında mikrobiyal olarak üretilen ve ekstraksiyondan elde edilen karoten pigmentlerin karşılaştırılabilmesi için, ekstraksiyonla çözücüye geçen karoten pigmentin ve mikrobiyal yolla üretilen karoten pigmentin tümü β -Karoten olarak kabul edilmiştir. Ekstraksiyon çalışmalarında spektrofotometrik yöntemle β -Karoten tayininde stok çözelti Sigma Aldrich firmasından temin edilen C9750 kodlu sentetik β -Karoten kullanılarak hazırlanmıştır. Stok çözültiden derişimi 100-400 mg/L aralığında değişen β -Karoten çözülteleri hazırlanmış ve çözültelerin optimum dalga boyu olan 455 nm'de absorbansları okunarak karoten pigmentin çalışma doğruları elde edilmiştir (Şekil E.3.). Tüm ekstraksiyon çalışmalarında çözücüye geçen karoten pigment derişimi bu yöntemle tayin edilmiştir.



Şekil E.3. Karoten Pigmentin Etanol ve Su Çözücülerinde Elde Edilen Çalışma Doğruları

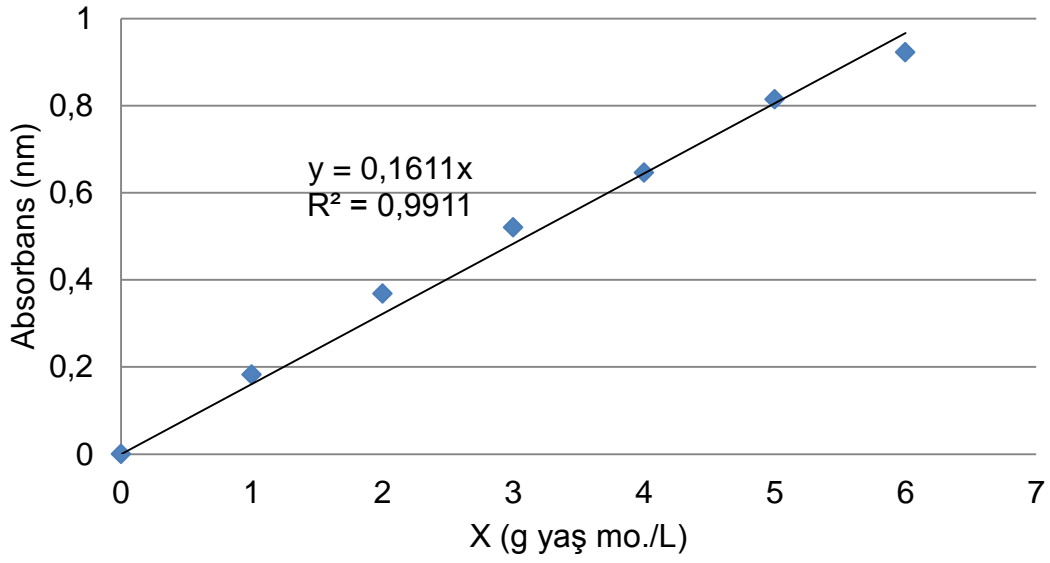
EK 4. Mikroorganizma Derişimi Tayini

Tüm mikrobiyal çalışmalarda *R. glutinis*'in hücre derişimi kuru mikroorganizma ağırlığı temelinde verildiğinden, öncelikle yaş ve kuru mikroorganizma ağırlıkları arasındaki ilişkinin belirlenmesi gerekmektedir. Bu amaçla 29°C'da ve 120 rpm çalkalama hızındaki inkübatörde 3 gün boyunca üretilen mikroorganizma çözeltisi 5000 rpm dönüş hızında 5 dk santrifüjledikten sonra, sıvısından ayrılan katı kısım daha önceden boş olarak tartılan ve ağırlıkları belirlenen alüminyum folyolara farklı miktarlarda alınarak, 80°C sabit sıcaklıkta tutulan etüvde sabit tartıma gelene kadar kurutulmuştur. Kuru ağırlığa karşı yaş mikroorganizma ağırlığı grafiğe geçirilerek yaş ağırlık-kuru ağırlık çalışma doğrusu elde edilmiştir ve Şekil E.4.1.'de sunulmuştur.



Şekil E.4.1. *R. glutinis*'in Yaş Ağırlık-Kuru Ağırlık Çalışma Doğrusu

Mikrobiyal çalışmalarda herhangi bir zamandaki yaş mikroorganizma derişimini bulmak için Şekil E.4.2.'de verilen çalışma doğrusu kullanılmıştır. Çalışma doğrusunun elde edilmesi için derişimi 1-6 g/L aralığında değişen mikroorganizma özelteleri hazırlanmış ve özeltelerin optimum dalga boyu olan 600 nm'de absorbansları okunarak absorbansa karşı yaş mikroorganizma derişimi grafiğe alınmıştır.

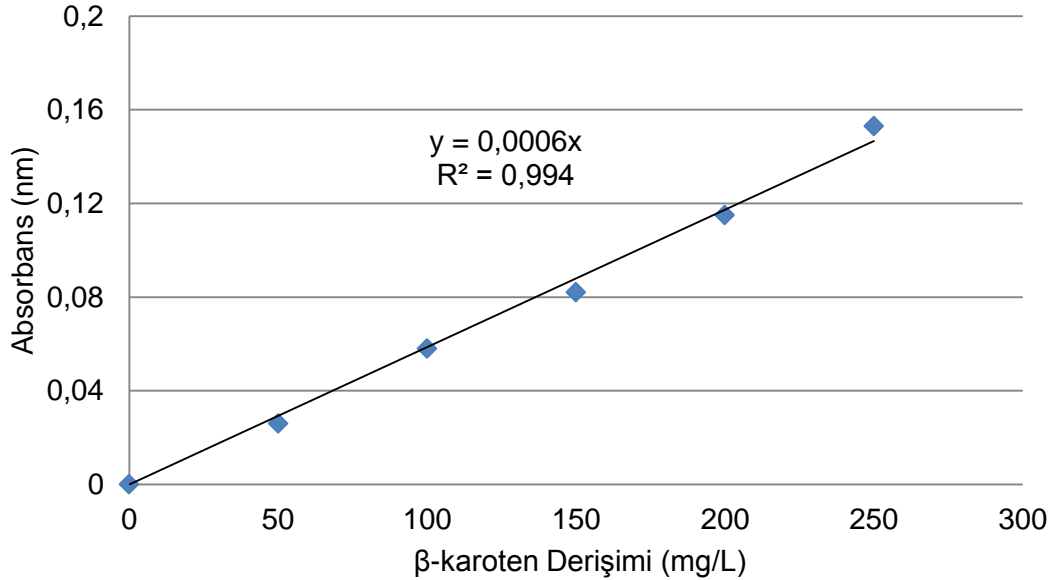


Şekil E.4.2. *R.glutinis*'in Yaş Derişim alışma Doğrusu

EK 5. Mikrobiyal β -Karoten Üretiminde Kullanılan β -Karoten Çalışma Doğrularının Elde Edilmesi

R. glutinis'in hücre içi ürün olarak ürettiği β -Karotenin derişiminin tayini için öncelikle hücre içi ürünün hücre parçalanarak hücre dışına alınması gerekmektedir. Bu amaçla deney ortamından alınan 5 ml örnek 5000 rpm'de 3 dk santrüjlelendikten sonra üstte kalan sıvı atılmış ve dipteki çökeleğin üzerine önce 1 damla HCL (% 37'lik) damlatılarak 10 sn vortek karıştırıcı ile karıştırılmıştır. Karışım, üzerine 2.5 ml aseton (% 80) eklenerek tekrar vorteks karıştırıcı ile karıştırıldıktan sonra oda sıcaklığında karanlık ortamda 24 saat bekletilmiş ve 24 saatin sonunda tekrar santrifüjlelendikten sonra, üstte kalan kısmın UV spektrofotometrede 455 nm'de referans olarak aseton kullanılarak absorbansı ölçülmüş ve Şekil E.5.'da verilen β -Karoten'e ait çalışma doğrusu kullanılarak β -Karoten derişimine geçilmiştir.

Çalışma doğrusunu hazırlamak için Sigma Aldrich firmasından temin edilen 0.1 g saf β -Karoten 100 ml aseton içinde çözülerek 1g/L derişiminde homojen bir stok çözelti elde edilmiş, bu çözeltiden farklı derişimlerde hazırlanan β -Karoten çözeltilerinin absorbans değerleri 455 nm'de referans olarak % 80'lik aseton kullanılarak okunmuş ve derişime karşı absorbans değerleri grafiğe geçirilmiştir.



Şekil E.5. β -Karoten Çalışma Doğrusu

EK 6. Miller (DNS) Yöntemiyle Toplam İndirgen Şeker Derişimi Tayini

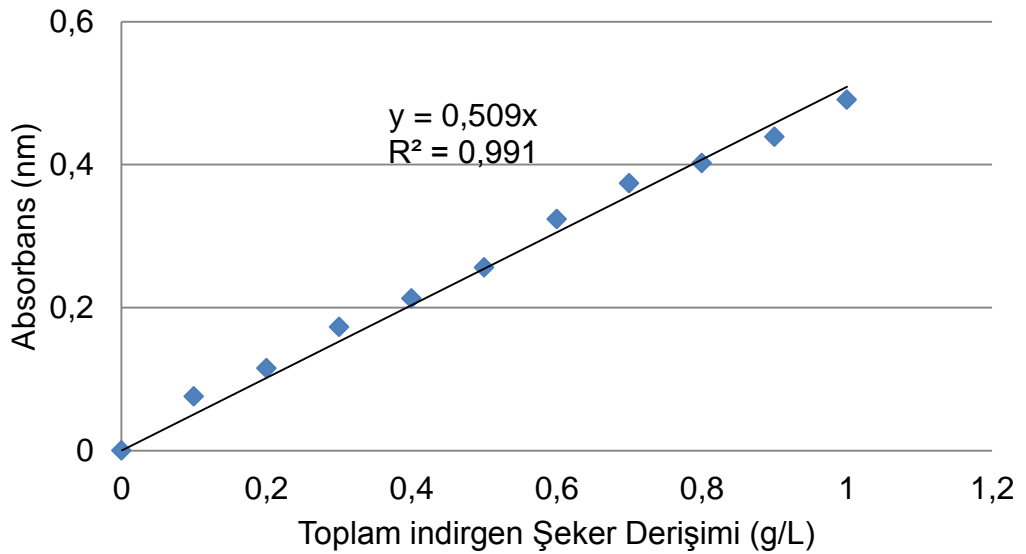
Hem yapay hem de doğal besin ortamlarındaki toplam indirgen şeker tayini Miller yöntemiyle spektrofotometrik olarak yapılmıştır [101].

Yöntemde Kullanılan Çözeltiler

1. DNS Çözeltisi: 10 g 3,5 dinitro salisilik asit, 10 g sodyum hidroksit ve 1.6 g fenol 1 L damıtık suda çözünür. Bu çözeltinin 100 ml'sine çözeltiyi kullanmadan hemen önce 1ml %1'lik sodyum sülfid ilave edilir.
2. Rochella Tuzu Çözeltisi: 400 g potasyum sodyum tartarat 1 L damıtık suda çözünür.

Yöntemin Uygulanışı

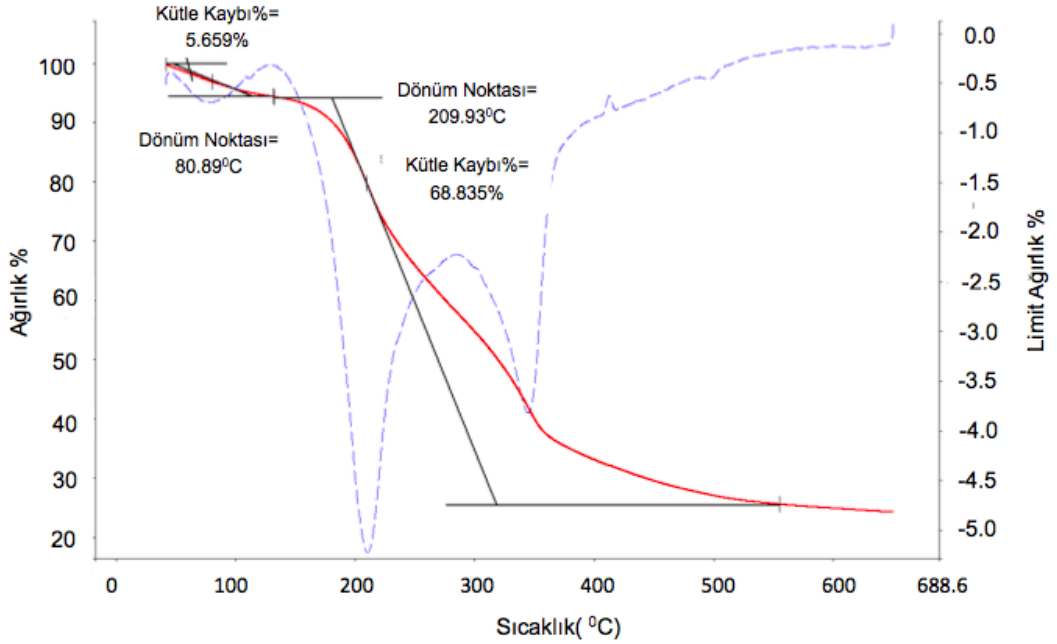
Besin ortamında alınan örnek santrifüjlenerek mikroorganizmadan ayrılır. Toplam indirgen şeker derişimi en yüksek 0.5 g/L olacak şekilde seyreltilen örnek, cam deney tüpü içine 1.5 ml hacminde alınır, üzerine 1.5 ml DNS çözeltisi eklenir, tüpün ağzı streç film ile kapatılır ve kaynamakta olan suyun içine konarak 10 dk süre boyunca kaynayan suyun içinde bekletilir. Su banyosundan alınan örneğe 0.5 ml Rochella tuzu çözeltisi eklenir ve analiz için örneğin oda sıcaklığına gelmesi beklenir. Oda sıcaklığındaki örneğin UV spektrotometrede 575 nm'de referans olarak damıtık su kullanılarak absorbansı ölçülür ve Şekil E.6. 'da verilen absorbans-glukoz derişimi çalışma doğrusundan toplam indirgen şeker derişimine geçilir.



Şekil E.6. Toplam İndirgen Şeker Çalışma Doğrusu

EK 7. Kurutulmuş Posalı Portakal Kabuğunun TGA Analizi

TGA analizi ekstraksiyon sıcaklığında ekstraksiyonda kullanılan kurutulmuş posalı portakal kabuğunun ne kadar kütle kaybına uğradığını ve elde edilen ürünün bozunmaya uğrayıp uğramadığını tespit etmek amacı ile yapılmış ve SETEGRAM TG/DTA 6300 marka ve model TGA cihazından elde edilen analiz sonucu Şekil E.7.1'de verilmiştir. Şekilden portakal kabuğunun 80.89°C'da % 5.5'lik ilk kütle kaybını yaşadığı ve bunun da su olduğu görülmektedir. Şekilden ayrıca portakalın yapısındaki önemli bozunmanın 209.93°C'da gerçekleştiği ve kütle kaybının % 68.83'ünü kaybettiği görülmektedir. Ekstraksiyon deneylerinde etanolle 79°C'da, su ile 100°C'da sabit sıcaklıkta çalışıldığından, ekstraksiyon sıcaklığının portakalın yapısında dolayısıyla pigment yapısında bir bozunmaya neden olmadığı söylenebilir.



Şekil E.7.1. Kurutulmuş Posalı Portakal Kabuğunun TGA Spektrumu

EK 8. Kurutulmuş Posalı Portakal Kabuğunun ve Bundan Elde Edilen Doğal Besin Ortamının ICP-MS Analizleri

Kurutulmuş posalı portakal kabuğunun Agilent 7500-CX marka ve model ICP-MS cihazında gerçekleştirilen analizin sonucu aşağıda verilmiştir. Sonuçlardan kabukta mikroorganizmanın üremesine inhibisyon etkisi yapacak ağır metallerin yok denecek kadar az olduğu, mikroorganizmanın üretimini sağlayacak ve arttıracak Mg, Fe, P, K, Zn gibi elementlerin olduğu görülmektedir.

```

File Name      : 021SMPL.D#
File Path     : C:\ICPCHEM\1\DATA\15052015.B\021SMPL.D\
Method        : C:\ICPCHEM\1\METHODS\Gida18el.M
Calibration   : C:\ICPCHEM\1\CALIB\28112014.C
Acq. Time    : May 15 2015 03:20 pm
Sample Name   : Kurutulmus Portakal Kabugu
Sample Type  : Sample
Comments     :
Prep Dilution : 97.50 = ( 25.00 / 2.564E-01 ) * 1.000
Auto Dilution : Undiluted
Total Dilution : 97.50
Operator Name :
Acq Mode     : Spectrum
Cal Title    :
Cal Type     : External Calibration Method
Last Calib   : May 15 2015 04:39 pm
Bkg File     : -----
Bkg Rejected Masses : -----
Interference Correction : ON
Blank File   : C:\ICPCHEM\1\DATA\15052015.B\011SMPL.D
VIS Fit      : Point to Point
Weighting Method: 1/(SD*SD)
Multi Tune   : #1 he.u
    
```

Element	Mass	ISTD	Tune	CPS or Ratio	Conc.	RSD(%)	Time(sec)	Rep	VIS
Li	6		#1	3,551.898 P	[1.000]	---	0.30	[3]	
Na	23	45	#1	61.63714 A	214.8 ppm	1.06	0.30	3	
Mg	24	45	#1	239.6163 A	1.755E+03 ppm	1.59	0.30	3	
Al	27	45	#1	0.4120724 P	4.431E+03 ppb	2.41	0.30	3	
P	31	45	#1	2.541382 P	550.4 ppm	2.01	0.30	3	
K	39	45	#1	1,959.466 A	1.301E+04 ppm	1.26	0.30	3	
Ca	43	45	#1	4.374325 P	7.878E+03 ppm	0.83	0.30	3	
Sc	45		#1	64,310.96 P	[1.000]	---	0.60	[3]	
Cr	53	45	#1	0.02021020 P	58.44 ppb	5.48	0.90	3	
Mn	55	45	#1	6.138867 P	4.521E+03 ppb	1.27	0.90	3	
Fe	56	45	#1	24.07230 A	1.200E+04 ppb	2.06	0.30	3	
Fe	57	45	#1	0.7441450 P	1.376E+04 ppb	2.01	0.30	3	
Co	59	72	#1	0.08467170 P	13.00 ppb	2.18	0.90	3	
Ni	60	72	#1	2.405802 P	1.419E+03 ppb	0.55	0.90	3	
Cu	63	72	#1	15.44413 P	3.995E+03 ppb	0.87	0.90	3	
Zn	66	72	#1	1.975339 P	2.662E+03 ppb	0.55	0.90	3	
Ge	72		#1	25,359.23 P	[1.000]	---	0.60	[3]	
As	75	72	#1	0.001713733 P	3.136 ppb	24.13	0.90	3	
Se	82	72	#1	0.001099365 P	21.07 ppb	55.10	0.90	3	
Rh	103		#1	595,824.8 P	[1.000]	---	0.60	[3]	
Cd	111	115	#1	3.311115E-4 P	<0.000 ppb	4,300	0.90	3	
In	115		#1	336,279.3 P	[1.000]	---	0.60	[3]	
Sn	118	115	#1	0.1168094 P	511.0 ppb	0.86	0.30	3	
Tb	159		#1	1,092,379 P	[1.000]	---	0.60	[3]	
Lu	175		#1	886,726.9 P	[1.000]	---	0.60	[3]	
(Pb)	206		#1	272,273.8 P	1.668E+03 ppb	1.22	0.90	3	
(Pb)	207		#1	237,306.0 P	1.622E+03 ppb	0.82	0.90	3	
Pb	208	209	#1	1.636336 P	1.683E+03 ppb	0.53	0.90	3	
Bi	209		#1	672,610.8 P	[1.000]	---	0.60	[3]	

End of Report

Fri, May 15 16:39:51 2015

Şekil E.8.1. Kurutulmuş Posalı Portakal Kabuğunun ICP-MS Analiz Sonucu

Kurutulmuş posalı portakal kabuğundan elde edilen doğal besin ortamının Agilent 7500-CX marka ve model ICP-MS cihazında gerçekleştirilen analizin sonucu aşağıda verilmiştir. Sonuçlardan kabuktaki tüm elementlerin besin ortamına da geçtiği görülmektedir.

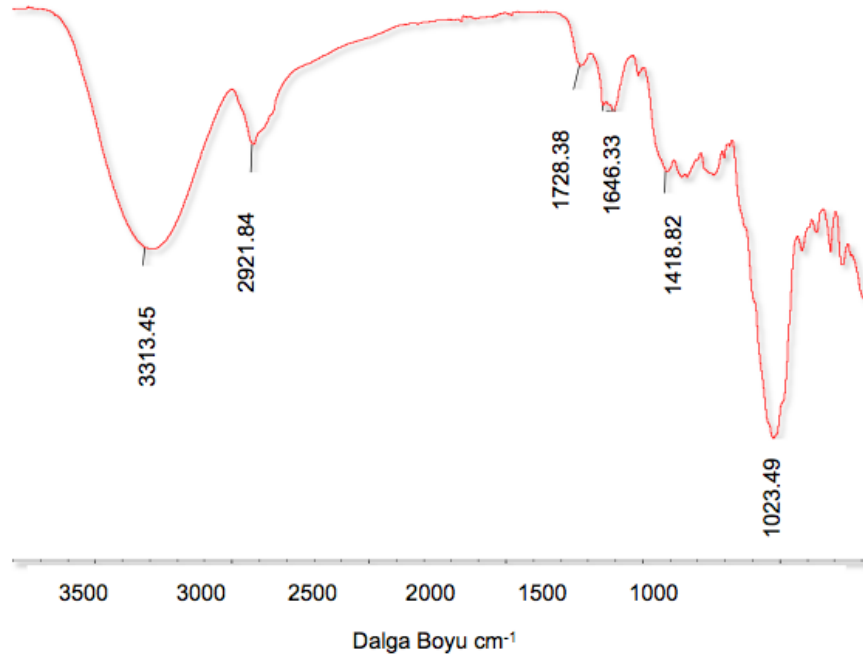
```
File Name      : 022SMPL.D#
File Path     : C:\ICPCHEM\1\DATA\15052015.B\022SMPL.D\
Method        : C:\ICPCHEM\1\METHODS\Gida18el.M
Calibration   : C:\ICPCHEM\1\CALIB\28112014.C
Acq Time      : May 15 2015 03:23 pm
Sample Name   : Kurutulmus Portakal Kabugu Yagi
Sample Type   : Sample
Comments      :
Prep Dilution : 60.87 = ( 25.00 / 4.107E-01 ) * 1.000
Auto Dilution : Undiluted
Total Dilution : 60.87
Operator Name :
Acq Mode      : Spectrum
Cal Title     :
Cal Type      : External Calibration Method
Last Calib    : May 15 2015 04:28 pm
Bkg File      : -----
Bkg Rejected Masses: -----
Interference Correction : ON
Blank File    : C:\ICPCHEM\1\DATA\15052015.B\012SMPL.D
VIS Fit       : Point to Point
Weighting Method: 1/(SD*SD)
Multi Tune    : #1 he.u
```

Element	Mass	ISTD	Tune	CPS or Ratio	Conc.	RSD(%)	Time(sec)	Rep	VIS
Li	6		#1	3,480.746 P	[1.000]	---	0.30	[3]	
Na	23	45	#1	6.638949 P	5.910 ppm	3.41	0.30	3	
Mg	24	45	#1	20.22401 A	91.23 ppm	1.22	0.30	3	
Al	27	45	#1	0.1027998 P	184.6 ppb	18.49	0.30	3	
P	31	45	#1	0.3064304 P	38.53 ppm	4.06	0.30	3	
K	39	45	#1	197.4467 A	815.9 ppm	1.21	0.30	3	
Ca	43	45	#1	0.1164240 P	115.7 ppm	1.31	0.30	3	
Sc	45	45	#1	63,210.30 P	[1.000]	---	0.60	[3]	
Cr	53	45	#1	0.01415772 P	19.98 ppb	4.56	0.90	3	
Mn	55	45	#1	0.4271246 P	176.3 ppb	1.07	0.90	3	
Fe	56	45	#1	8.414971 P	2.245E+03 ppb	0.74	0.30	3	
Fe	57	45	#1	0.2095339 P	2.037E+03 ppb	0.34	0.30	3	
Co	59	72	#1	0.01835679 P	7.785E-01 ppb	13.35	0.90	3	
Ni	60	72	#1	0.3968141 P	53.44 ppb	1.06	0.90	3	
Cu	63	72	#1	0.8708131 P	114.7 ppb	1.74	0.90	3	
Zn	66	72	#1	0.6347839 P	355.4 ppb	0.98	0.90	3	
Ge	72	72	#1	26,108.56 P	[1.000]	---	0.60	[3]	
As	75	72	#1	5.957913E-4 P	5.629E-01 ppb	20.25	0.90	3	
Se	82	72	#1	7.804083E-4 P	6.383E-01 ppb	1,000	0.90	3	
Rh	103	72	#1	646,001.8 P	[1.000]	---	0.60	[3]	

Şekil E.8.2. Kurutulmuş Posalı Portakal Kabuğundan S/K=40:1 L/kg Oranında Hazırlanan Doğal Besin Ortamının ICP-MS Analiz Sonucu

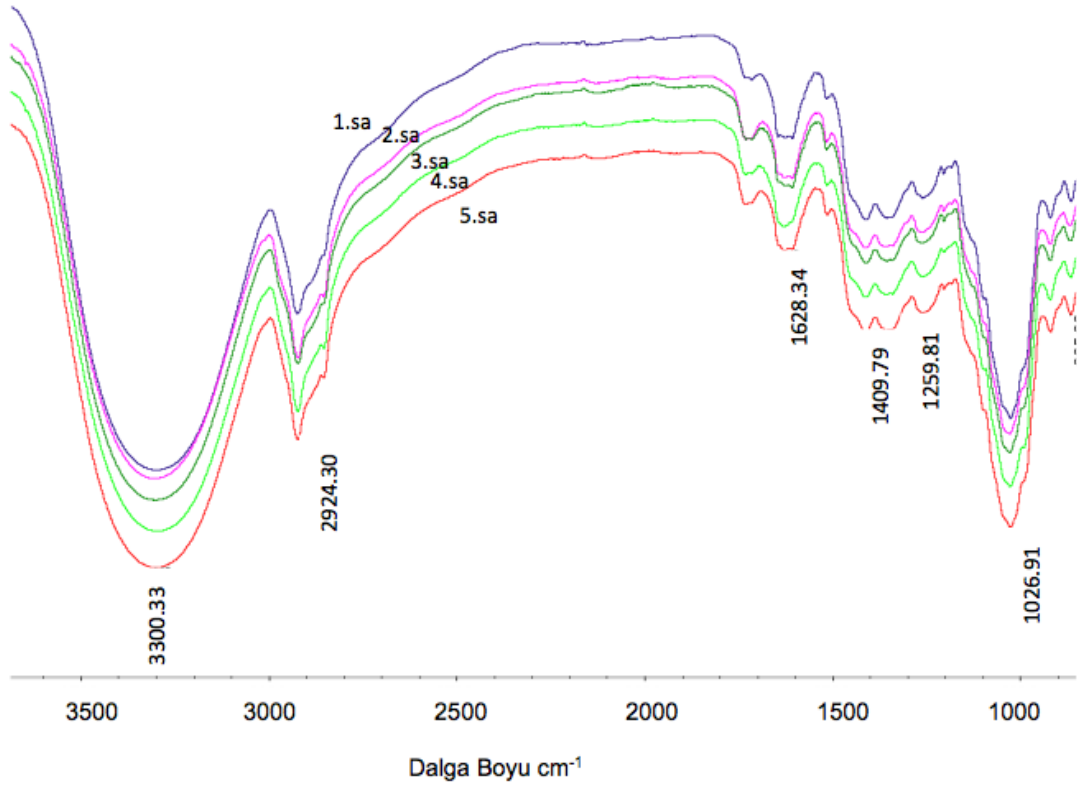
EK 9. Portakal Kabuğundan Elde Edilen Özütlerin FTIR Analizleri

FTIR analizi kurutulmuş posalı portakal kabuğundan ekstraksiyonla elde edilen özütün (pigmentlerin) karakteristik fonksiyonel gruplarını tanımlayabilmek için yapılmıştır. Şekil Ek-9.1.'de etanolle S/K=40:1 oranında yapılan ekstraksiyonun sonucunda elde edilen ve toz hale getirilen pigmentlerin FTIR spektrumu görülmektedir. 3313.45 cm^{-1} civarındaki geniş ve yoğun pikler alkollerin, fenollerin ve pektin, selüloz, lignin gibi karboksilik asitlerin O-H gerilme titreşimlerinden kaynaklanmaktadır. Bu O-H bağlarının FTIR spektrumunda bulunması serbest hidroksil grupların portakal kabuğunun yapısında bulunduğu bilinmesiyle de desteklenmektedir [113]. 2921.84 cm^{-1} dalga boyunda görülen pik alifatik asitlerin gerilmelerinden kaynaklanan simetrik ve asimetrik C-H bağlarından kaynaklanmaktadır [114]. 1728.38 cm^{-1} deki bağlar iyonik olmayan karboksil gruplarının ($-\text{COOH}$, $-\text{COOCH}_3$) gerilmelerini ifade etmektedir. Bu bağlar karboksilik asit yada diğer esterlerin varlığına işaret etmektedir [114]. 1646.44 ve 1418.82 cm^{-1} dalga boyunda görülen pikler sırasıyla C ve O 'nun karboksilik gruplar ($-\text{COO}-$) içindeki gerilme titreşimlerinden kaynaklanmaktadır (N.V.). 1023.49 cm^{-1} dalga boyunda gözlenen pikler alkolik gruplar ve karboksilik asitlerin C-OH gerilme titreşimlerinden kaynaklanmaktadır [115].



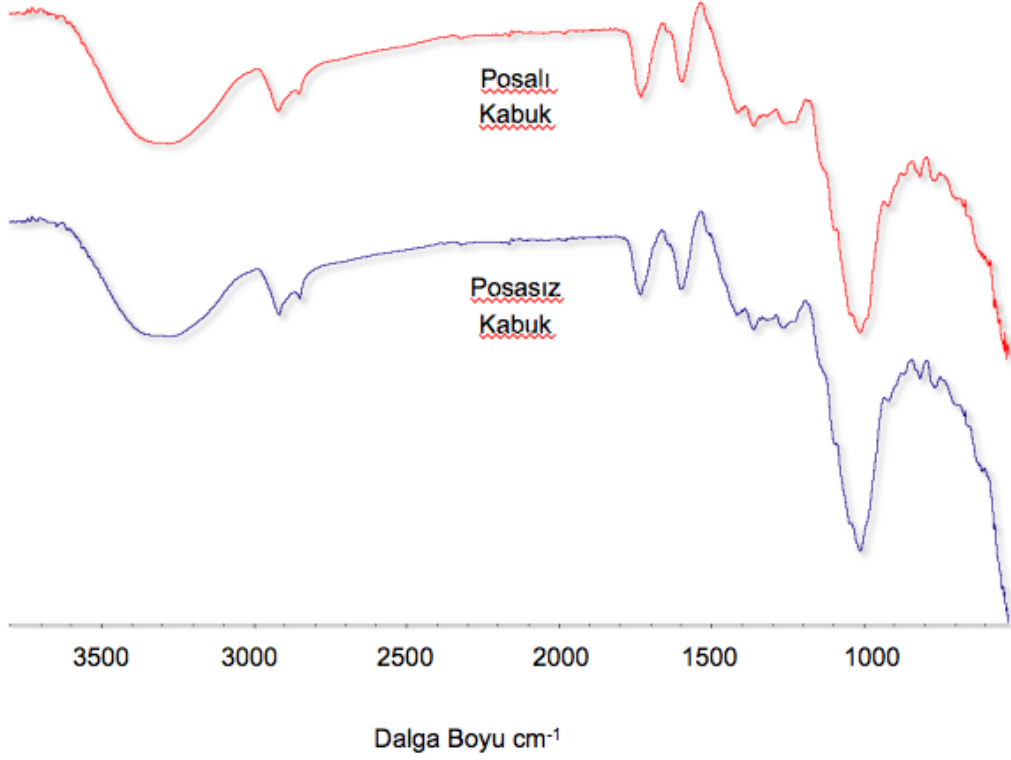
Şekil E.9.1. Kurutulmuş Posalı Portakal Kabuğundan Ekstraksiyonla Elde Edilen Özütün (pigmentlerin) FTIR Analizi

Kurutulmuş posalı portakal kabuğundan etanol ile ekstraksiyonda her saat başında alınan örneklerdeki pigmentlerin zaman ve sıcaklıkla yapılarında bir bozunma olup olmadığının anlaşılması amacı ile FTIR analizleri yaptırılmış ve elde edilen spektrumlar Şekil E.9.2.'de verilmiştir. 5 saat boyunca elde edilen pigmentlerin spektrumlarında bulunan piklerin birbiriyle aynı çıkması ekstraksiyon süresi boyunca özütün bozunmaya uğramadığını göstermektedir.



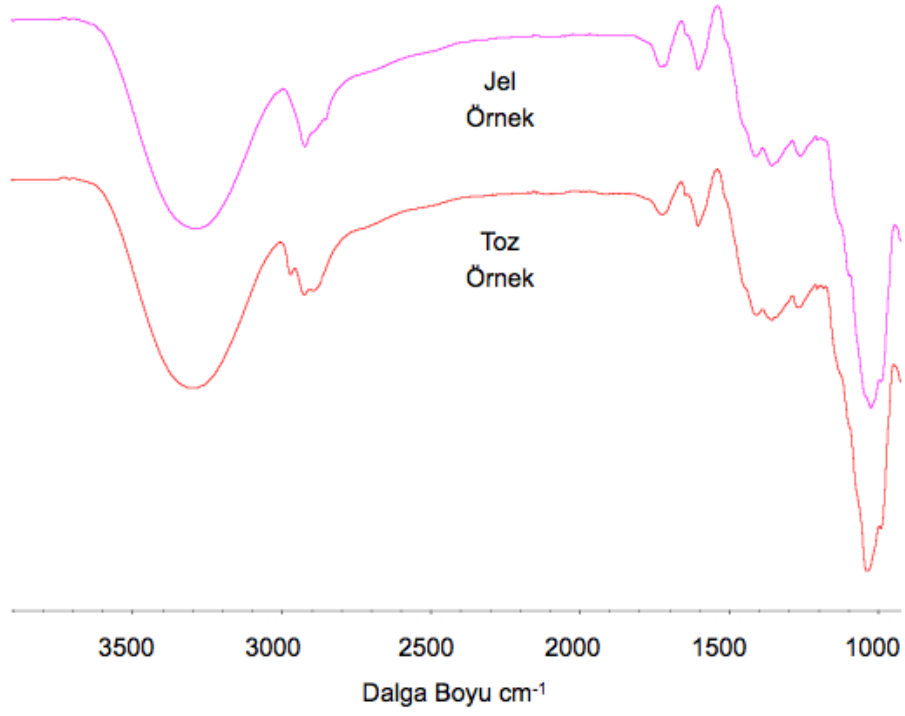
Şekil E.9.2. Kurutulmuş Posalı Portakal Kabuğundan Ekstraksiyonda Her Saat Başında Alınan Örneklerin FTIR Spektrumları

Kurutulmuş posalı ve posasız portakal kabuklarından elde edilen özütlerin (pigmentlerin) yapılarında fark olup olmadığının anlaşılması için her iki kabuk türünden etanol ile ekstraksiyon sonucunda elde edilen özütlerin FTIR spektrumları Şekil E.9.3.'te verilmiştir. Şekilden kabuk türünün pigmentin yapısında bir farklılığa sebep olmadığı tespit edilmiştir.



Şekil E.9.3. Kurutulmuş Posalı ve Posasız Portakal Kabuklarından Elde Edilen Özütlerin (pigmentlerin) FTIR Spektrumları

Ekstraksiyon sonrasında jel ya da toz yapıda elde edilen pigmentlerin yapılarında bir farklılık olup olmadığı FTIR analizi ile araştırılmış ve elde edilen spektrumlar Şekil E.9.4.'te verilmiştir. Şekilden toz ve jel formdaki pigmentlerin yapılarında bir farklılık olmadığı görülmektedir.



Şekil E.9.4. Ekstraksiyon Sonrasında Jel ya da Toz Yapıda Elde Edilen Pigmentlerin FTIR Spektrumları

ÖZGEÇMİŞ

Kimlik Bilgileri

Adı Soyadı: S. Pınar KODAL
Doğum Yeri: Ankara
Medeni Hali: Evli
E-posta: pinar_karzek@hacettepe.edu.tr
Adres: Hacettepe University Chemical Engineering Department
BEYTEPE/ANKARA

Eğitim

Lise: Atakent Anadolu Lisesi
Lisans: Hacettepe Üniversitesi, Kimya Mühendisliği Bölümü
Yüksek Lisans: Hacettepe Üniversitesi, Kimya Mühendisliği Bölümü
Doktora: Hacettepe Üniversitesi, Kimya Mühendisliği Bölümü

Yabancı Dil ve Düzeyi

İngilizce: İleri düzey

İş Deneyimi

2008- devam ediyor Araştırma Görevlisi
Hacettepe Üniversitesi, Kimya Mühendisliği
Bölümü BEYTEPE/ANKARA
06/2006-07/2006 PETKİM, ALİAĞA, İZMİR (staj)

Deneyim Alanları

Biyoteknoloji

Atıksu Arıtımı

Ekstraksiyon

Adsorpsiyon

Tezden Üretilmiş Projeler ve Bütçesi

“Narenciye Atıklarından Gıda Boyarmaddesi Üretimi” Hacettepe Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Birimi, Proje No: 816, Bütçe: 18863 TL, **2013**.

Tezden Üretilmiş Yayınlar

Tezden Üretilmiş Tebliğ ve/veya Poster Sunumu ile Katıldığı Toplantılar

Kodal, S. Pınar; Aksu, Zümriye; Pigment Production from *Rhodotorula glutinis* Grown In The Medium Prepared from Waste Orange Peel, NanoBYM, Biyomedtek, **2015**.