



**T.C.
TOKAT GAZİOSMANPAŞA ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANA BİLİM DALI**

**ŞEFTALİ POSASINDAN DOĞA DOSTU YÖNTEMLERLE DOĞAL
RENK MADDESİ ÜRETİMİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

KÜBRA NUR HAN

Doç. Dr. ASLIHAN DEMİRDÖVEN

**TOKAT
2022**



T.C.
TOKAT GAZİOSMANPAŞA ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANA BİLİM DALI

**ŞEFTALİ POSASINDAN DOĞA DOSTU YÖNTEMLERLE DOĞAL
RENK MADDESİ ÜRETİMİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

KÜBRA NUR HAN

Danışman: Doç. Dr. ASLIHAN DEMİRDÖVEN

TOKAT- 2022

Her hakkı saklıdır



Bu tez çalışması;

Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Projeler Birimi tarafından 2019-99 nolu proje ile desteklenmiştir.

TEZ BEYANI

Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü tez yazım kılavuzuna göre, Doç. Dr. Aslıhan DEMİRDÖVEN danışmanlığında hazırlamış olduğum “**Şeftali Posasından Doğa Dostu Yöntemlerle Doğal Renk Maddesi Üretimi**” adlı Yüksek Lisans tezinin bilimsel etik değerlere ve kurallara uygun, özgün bir çalışma olduğunu, yararlandığım bütün kaynakları atıf yaparak belirttiğimi beyan ederim.

Kübra Nur HAN

JÜRİ KABUL VE ONAY

Doç. Dr. Aslıhan DEMİRDÖVEN danışmanlığında, **Kübra Nur HAN** tarafından hazırlanan “Şeftali Posasından Doğa Dostu Yöntemlerle Doğal Renk Maddesi Üretimi” adlı tez çalışmasının savunma sınavı 17/03/2022 tarihinde yapılmış olup aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı’nda Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

İmza

Danışman

Doç. Dr. Aslıhan DEMİRDÖVEN

.....

Üye

Prof. Dr. Özlem AKPINAR

.....

Üye

Dr. Öğr. Üyesi Levent ŞEN

.....

ONAY

...../...../.....

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Müdürü

ÖZET

ŞEFTALİ POSASINDAN DOĞA DOSTU YÖNTEMLERLE DOĞAL RENK MADDESİ ÜRETİMİ

Han, Kübra Nur

Yüksek Lisans, Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Aslıhan Demirdöven

Mart 2022, ix +100

Tez kapsamında; şeftali posasında bulunan karotenoidlerin, cevap yüzey yöntemi (RSM) kullanılarak, enzim destekli ultrasonik ekstraksiyon yöntemiyle karotenoid ekstraksiyon koşullarının optimizasyonu ve doğal gıda renklendiricisi olarak kullanılma olanaklarının araştırılması amaçlanmıştır. Bu amaçla ekstraksiyon koşullarının optimizasyonunda örnek miktarı (1-3 g), enzim oranı (%0-10), sıcaklık (20-60°C) ve süre (10-60 dk) bağımsız değişkenleri kullanılarak optimize edilmiştir. Cevap seçimi ise maksimum toplam karotenoid miktarı ve maksimum b* (sarılık) renk değerine göre belirlenmiştir. Uygun ekstraksiyon koşulları olarak belirlenen optimum nokta; 1.00g örnek, %8.50 enzim, 45.18°C sıcaklık, 50.36 dk sürede gerçekleştirilmiştir ve karotenoid miktarı açısından en yüksek değer ultrasonik yöntemle elde edildiği (0.241±0.00 mg/kg β karoten) saptanmıştır. Ayrıca geleneksel (ultrason içermeyen enzimatik ekstraksiyon) ve ultrasonik yöntemlerle tek aşamalı olarak şeftali posası ekstraktları üretilmiş ve ekstraktların bazı fiziksel ve kimyasal özellikleri; toplam karotenoid, karotenoid dağılımı, toplam fenolik madde, antioksidan kapasite (ABTS ve FRAP), pH, toplam asitlik, suda çözünür kuru madde ve renk değerleri açısından kıyaslanmıştır. Ek olarak belirlenen koşullarda üretilen ekstraktların limonatalarda doğal renklendirici olarak kullanım olanakları araştırılmıştır. Ekstraktlar, hazırlanan limonatalara belirli konsantrasyonlarda (%0.1; %0.2; %0.3; %0.4) ilave edilmiştir; fiziksel ve kimyasal analizler yapılarak değerlendirilmiştir. Yapılan çalışmada, şeftali posası ekstraksiyonunda ultrasonik yöntemin geleneksel yöntemle göre daha hızlı ve etkili olduğu, elde edilen ekstraktların doğal renklendirici ve doğal koruyucu özellikleriyle de limonata gibi gıdalarda kullanılabilecekleri saptanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Şeftali posası, Karotenoid, Ekstraksiyon, Enzim, Ultrason

ABSTRACT

PRODUCTION OF NATURAL COLORANT FROM PEACH POMACE BY ECO-FRIENDLY METHODS

Han, Kübra Nur

Master's Thesis, Food Engineering Department

Advisor: Assoc. Prof. Dr. Aslıhan Demirdöven

March 2022, ix +100

Within the scope of the thesis; The aim of this study was to investigate the possibilities of using carotenoids in peach pomace as natural food colorants and optimization of carotenoid extraction conditions by enzyme assisted ultrasonic extraction using the response surface method (RSM). For this purpose, in the optimization of extraction conditions, the sample amount (1-3 g), enzyme rate (0-10%), temperature (20-60°C) and time (10-60 min) were optimized using the independent variables. Response selection was determined according to the maximum total carotenoid content and the maximum b^* (yellowness) color value. The optimum point determined as suitable extraction conditions; It was carried out in 1.00 g sample, 8.50% enzyme, 45.18 °C temperature, 50.36 minutes and it was determined that the highest value in terms of carotenoid amount was obtained by ultrasonic method (0.241 ± 0.00 mg/kg β -carotene). Also, peach pulp extracts were produced in one step by conventional (enzymatic extraction without ultrasound) and ultrasonic methods and some physical and chemical properties of the extracts; total carotenoid, carotenoid distribution, total phenolic substance, antioxidant capacity (ABTS and FRAP), pH, total acidity, water-soluble dry matter and color values were compared. In addition, the possibilities of using the extracts produced under the specified conditions as natural colorants in lemonade drinks were investigated. The extracts were added to the prepared lemonades at specific concentrations (0.1%; 0.2%; 0.3%; 0.4%); evaluated by physical and chemical analysis. In the study, it was determined that the ultrasonic method in peach pulp extraction is faster and more effective than the traditional method, and the extracts obtained can be used in foods such as lemonade with their natural coloring and natural preservative properties.

Keyword: Peach Pomace, Carotenoid, Extraction, Enzyme, Ultrasound

TEŞEKKÜR

Tezimin konusunun belirlenmesinde ve tezin başından sonuna kadar yazılmasında yardımlarını esirgemeyen, çalışmanın başından itibaren her aşamasında yardımcı olan ve beni her zaman motive eden çok değerli danışman hocam sayın Doç. Dr. Aslıhan DEMİRDÖVEN'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca, analizlerin yapılmasında, cihazların kullanılmasında ve tez yazım aşamasında bilgilerini benimle paylaşarak yardımlarını esirgemeyen hocam sayın Arş. Gör. Hilal MERAL'e içtenlikle teşekkür ederim.

Son olarak bu noktaya gelmemde büyük emeği olan, saygı, sevgi ve dürüstlüğü bana öğreten, örnek aldığım saygı değer ve sevgili babam Habib HAN'a, bana sonsuz güvenen ve her zaman yanımda olan sevgili annem Ayşenur HAN'a ve kardeşlerime sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Kübra Nur HAN

Tokat, Mart 2022

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖZET	i
ABSTRACT.....	ii
TEŞEKKÜR	iii
İÇİNDEKİLER	iv
SİMGE ve KISALTMALAR	vi
ŞEKİL LİSTESİ.....	viii
TABLO ve ÇİZELGE DİZİNİ	ix
1.GİRİŞ	1
2. KURAMSAL TEMELLER ve KAYNAK ÖZETLERİ.....	5
2.1. Şeftali.....	5
2.2. Şeftali Posası ve Bioaktif Bileşenleri.....	6
2.3. Karotenoidler.....	8
2.4. Karotenoidlerin Ekstraksiyonu.....	14
2.5. Doğal Renk Maddesi Eldesi.....	34
2.6. Yanıt Yüzey Metodolojisi.....	36
3. MATERYAL ve YÖNTEM.....	37
3.1. Materyal.....	37
3.2. Yöntem.....	37
3.3. Analiz Yöntemleri.....	39
3.3.1. Optimizasyon basamağında yürütülen analizler.....	39
3.3.2.Toplam karotenoid tayini.....	39
3.3.3. Renk tayini	39
3.3.4. Karotenoid dağılımı.....	39
3.4. Gıda Denemelerinde Yürütülen Analizler	40
3.4.1. pH tayini.....	41
3.4.2. Titrasyon asitliği tayini.....	41
3.4.3. Suda çözünür kuru madde tayini.....	41
3.4.4. Renk tayini.....	41

3.4.5. Toplam fenolik madde tayini.....	41
3.4.6. Antioksidan kapasite tayini.....	42
3.4.6.1. Troloks eşdeğeri antioksidan kapasitesi (TEAC).....	42
3.4.6.2. Demir (III) indirgeme antioksidan gücü (FRAP).....	42
3.5. İstatistiksel Analiz.....	43
4. BULGULAR ve TARTIŞMA.....	45
4.1. Hammaddeye Ait Fizikokimyasal Özellikler.....	45
4.2. Optimizasyon.....	45
4.2.1 Cevap seviyeleri ve model uyumu.....	45
4.3. Optimizasyon Koşullarında Gerçekleştirilen Geleneksel ve Ultrasonik Ekstraksiyon Yöntemlerinin Karşılaştırılması.....	57
4.3.1. Ekstraksiyon kapasitelerinin ve renk değerlerinin belirlenmesi.....	58
4.3.2. Toplam fenolik madde ve antioksidan aktivite.....	59
4.3.3. pH değeri, toplam asitlik ve suda çözünür kuru madde.....	61
4.3.4. Renk değerlerinin belirlenmesi.....	64
4.3.5. Şeftali posası ve ekstraktların karotenoid dağılımı.....	67
4.4. Enzim Destekli Ultrasonik Ekstraksiyon ile Elde Edilen Karotenoid Ekstraktının Limonata Üretiminde Kullanımı.....	68
5.SONUÇ.....	76
6. KAYNAKLAR	79
7. EKLER	97
7.1. Ekler Dizini.....	98
7.2. EK. A. Kalibrasyon grafikleri.....	98
8. ÖZGEÇMİŞ	100

SİMGELER VE KISALTMALAR

Simge

ΔE
 ΔC
 L^*
 a^*
 b^*
 μg
 mg
 g
 mL
 mm
 v/v
 v/w
 w/v
 $^{\circ}$
 s
 KHz
 MHz
 GHz
 Abs_{450}

Açıklama

Toplam renk farkı
Renk yoğunluğu–doygunluk-kroma
Açıklık-Koyuluk
Kırmızılık
Sarılık
Mikrogram
Miligram
Gram
Mililitre
Milimetre
Hacim/hacim
Hacim/ağırlık
Ağırlık/hacim
Derece
Saniye
Kilohertz
Megahertz
Gigahertz
Spektrofotometrede 450 nm dalga boyunda okunan değer

KISALTMALAR DİZİNİ

Kısaltma

Adeq-precision
Adj-R²
ANOVA
CTT
CV
DE
DPPH
EAE
F
FAO
FCR
FRAP
G
GA
HPH
Lack of fit
LSD
MAE
ORAC
PEF
RNS
ROS
Pre-R²
PRESS
R²
RSM
SÇKM
SFE
ŞP
TEAC veya ABTS
TÜİK
UAE
VCEAC
VIT C

Açıklama

Yeterli kesinlik
Düzeltilmiş regresyon katsayısı
Varyans analizi
Geleneksel ısıtma işlemi
Değişim (varyasyon) katsayısı
Pektinin esterifikasyon derecesi
2,2-difenil-1-pikrilhidrazil
Enzim Destekli Ekstraksiyon
İstatistiksel önem faktörü
Food Agricultural Organization
Folin-Ciocalteu reaktifi
Demir (III) İyonu İndirgeyici Antioksidan Gücü
Geleneksel
Gıda atıkları
Yüksek basınçlı homojenizasyon
Modelin matematiksel forma uygunluğu
Least Significant Difference
Mikrodalga Destekli Ekstraksiyon
Oksijenin radikal absorban kapasitesi
Vurgulu Elektrik Alan Destekli Ekstraksiyon
Reaktif nitrojen birikmesi
Reaktif oksijen birikmesi
Tahminlenmiş çoklu regresyon katsayısı
Tahminlenmiş hata kareler toplamı
Regresyon katsayısı
Cevap yüzey yöntemi
Suda çözünür kuru madde
Süperkritik Akışkan Ekstraksiyonu
Şeftali posası
Trolox eşdeğer antioksidan kapasite
Türkiye İstatistik Kurumu
Ultrason Destekli Ekstraksiyon
Vitamin C eşdeğer antioksidan kapasite
Toplam C vitamini içeriği

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 2.1. Karotenoidlerin kimyasal yapısı.....	10
Şekil 2.2. Gıdalarda yaygın olarak bulunan bazı karotenoidlerin kimyasal yapıları.....	10
Şekil 2.3. Ultrason destekli ekstraksiyonun etki mekanizması.....	30
Şekil 4.1. Ultrasonik işlem sonucu optimum noktalarda yapılan çalışmalara ait örnekler.....	52
Şekil 4.2. Santrifüj işlemi sonrası optimum noktalarda yapılan çalışmalara ait örnekler.....	52
Şekil 4.3. Optimizasyon aşamasında karotenoid miktarı değerlerinin seçilmesiyle oluşturulan 3D yanıt yüzey grafikleri.....	54
Şekil 4.4. Optimizasyon aşamasında renk b* değerlerinin seçilmesiyle oluşturulan 3D yanıt yüzey grafikleri.....	56
Şekil 4.5. Şeftali posası karotenoid ekstraksiyonu sonucu renk görünüşleri.....	59
Şekil 4.6. Ekstraktların toplam fenolik madde ve antioksidan kapasite değerleri.....	59
Şekil 4.7. Şeftali posası ekstraktlarının pH, titrasyon asitliği ve SÇKM değerleri.....	62
Şekil 4.8. Şeftali posası çözeltisi ve ekstraktlara ait pH analizi.....	63
Şekil 4.9. Şeftali posası ekstraktlarına ait L*, a*, b* değerleri.....	64
Şekil 4.10. Şeftali katı posa (Referans) örneği, Geleneksel ve ultrason uygulaması ile üretilen ekstrakt örnekleri.....	65
Şekil 4.11. Şeftali posası ekstraktlarına ait Hue açısı, ΔE ve ΔC değerleri.....	66
Şekil 4.12. Kontrol grubu ve farklı oranlarda ekstrakt ilaveli limonatada yapılan analiz sonuçları.....	69
Şekil 4.13. Limonata örneklerine ait L*, a*, b* değerleri.....	73
Şekil 4.14. Limonata örneklerine ait Hue açısı, ΔE ve ΔC değerleri.....	74
Şekil A.1 Toplam fenolik madde tayininde kullanılan standart gallik asit kalibrasyon grafiği.....	98
Şekil A.2 ABTS metodu ile yapılan antioksidan aktivite tayininde kullanılan troloks kalibrasyon grafiği.....	98
Şekil A.3 FRAP metodu ile yapılan antioksidan aktivite tayininde kullanılan troloks grafiği.....	99

TABLO ve ÇİZELGE DİZİNİ

Sayfa

Tablo 2.1. Gıdalarda yaygın olarak bulunan bazı karotenoidler.....	12
Tablo 2.2. Yeşil ekstraksiyon tekniklerinin avantaj ve dezavantajları.....	23
Tablo 3.1. Ekstraksiyon koşullarının optimizasyonunda kullanılan parametreler ve seviyeleri.....	38
Tablo 3.2. Karotenoidlere ait çözücü, maksimum dalga boyu ve absorbans katsayısı.....	40
Çizelge 4.1. Hammaddeye ait fizikokimyasal özellikler.....	45
Çizelge 4.2. Box-Behnken deneme deseni deneysel yanıt değerleri.....	47
Çizelge 4.3. Karotenoid miktarı ANOVA çizelgesi.....	48
Çizelge 4.4. Renk b* ANOVA Çizelgesi.....	50
Çizelge 4.5. Optimum noktalarda karotenoid ve renk b* değeri.....	51
Çizelge 4.6. Çalışılan ekstraksiyon noktaları ve bulunan değerler.....	58
Çizelge 4.7. Ekstraktların toplam fenolik madde ve antioksidan kapasite değerleri.....	60
Çizelge 4.8. Ekstraktlarının pH, toplam asitlik ve SÇKM değerleri.....	61
Çizelge 4.9. Ekstraktların L*, a*, b* değeri.....	64
Çizelge 4.10. Ekstraktların Hue açısı, ΔE ve ΔC değerleri.....	66
Çizelge 4.11. Şeftali posası, geleneksel ve ultrason örneklerine ait ekstraktların karotenoid dağılımı.....	67
Çizelge 4.12. Kontrol grubu ve farklı oranlarda ekstrakt ilaveli limonatada yapılan analiz sonuçları.....	68
Çizelge 4.13. Ekstrak ilaveli limonata örneklerine ait renk değerleri... ..	72
Çizelge 4.14. Ekstraktların Hue açısı, ΔE ve ΔC değerleri.....	74

1.GİRİŞ

Gıda sektörü, kullanılan hammadde kaynaklarına göre yüksek üretim kapasitesine ve geniş çalışma alanına sahiptir (Yıkar ve ark., 2008). Çeşitli türlerde ve yüksek miktarlarda üretim sonucu oluşan atıklar, çevre sorunlarına yol açabilmektedir ve böylece atıkların değerlendirilmesi zorunlu hale gelmektedir (Öner, 2015).

Son birkaç yıldır, sürdürülebilirlik ve çevresel konularla ilgili endişeler artmakta ve daha az etkiye sahip süreç arayışı tüm alanlarda öncelik haline gelmektedir. Gıda ve Tarım Örgütü'ne (FAO) göre, insan tüketimi için üretilen ve yaklaşık üçte biri olan 1.3 milyar ton gıda, küresel olarak yok olmakta veya israf edilmektedir. Genel olarak, gıda atıkları (GA) atılmadan önce önlenabilir ve kategorize edilebilir. Önlenabilir FW, üretiminden tüketime kadar her düzeyde ihtiyati tedbirler alınarak azaltılabilirken gıda atıkları için uygun atık yönetimi, geri dönüşüm uygulamaları ve politikalarının teşvik edilmesi son derece zorunludur (Dahiya ve ark., 2018).

Dünya 19. yüzyılda gelişimi hızlanan endüstrileşme süreci ile toplumları daha fazla tüketime yönlendirmiş ve böylece atık miktarları da hızla artmaya başlamıştır (Dereli ve Baykasoğlu, 2002). Günümüz ulusal hükümetlerinin yanı sıra bölgesel ve yerel yönetimler birçok sürdürülebilir atık yönetim sistemi geliştirmiştir. Sistem elemanlarının çevresel ve ekonomik yönden yüklerini ayrıntılı bir şekilde incelemek ve bu mekanizmanın sürekli olarak uygulanmasını sağlamak, sürdürülebilir atık yönetimini uygulayıp sonuç alabilmek için gerekli basamaklardır (Arabacıoğlu, 2017). Atık miktarını düşürmek için minimum atık oluşturan sistemlerin uygulanması, yeni bir madde veya yan ürün olarak geri kazanılması gerekmektedir.

Yapılan çalışmalar, diğer evsel atıklara oranla bitkisel kökenli atıkların ekonomik değerinin yüksek olduğunu ve bu atıklardan katma değeri yüksek ürünlerin elde edilmesiyle ekonomiye katkı sağlanabileceğini göstermektedir (Yaman, 2012). Beslenme ve sağlık açısından gıda atıklarının değerlendirilmesi, ekonomik açıdan önem arz etmesinin yanı sıra gıdaların zenginleştirilmesi ve içeriğinde bulunan değerli bileşenlerin insan metabolizmasına dahil edilmesi nedeniyle de ilave bir fayda sağlamaktadır (Yağcı ve ark., 2006).

Endüstrilerin, küçük veya büyük ölçekli atık meydana getiren tüm işletmelerin toplumsal sorumluluk görevlerinin en önemlisi çevreye verdikleri zararı en aza veya sıfıra düşürmektir. İşletmeler, üretim yönetimine ilişkin kararlarda bu sorumluluklarını yerine getirebilmek için çevre konularını da göz önünde bulundurarak değerlendirmelidir. İşletmeler, çevreye olan duyarlılıklarını kanıtlamak ve tüketicilerinin bu yöndeki taleplerini karşılamak için çevre konusunda hassas üretim teknolojilerine yönelmektedir veya bu teknolojileri kullanmaktadır (Yücel ve Emekçiler, 2008).

Gıda işleme sektörü, büyük miktarda atık ve çoğunlukla tohum, kabuk, posa vb. gibi bitki dokularından oluşan yan ürünleri açığa çıkarmaktadır. Bu büyük miktardaki atık, yüksek miktarda besin değeri yüksek madde kaybını temsil etmekte ve aynı zamanda çevre kirliliğini ve ekonomik sorunları artırmaktadır (Philippi ve ark., 2016).

Gıda tedarik zinciri göz önüne alındığında oldukça fazla miktarda meyve atığı çıkmaktadır. Meyve suyu endüstrisi özelinde irdelendiğinde, meyvelerin yüksek bir yüzdesi atık olarak atılmakta olup bu değer dünya çapında yılda yaklaşık 60 milyon tona denk gelmektedir (Bhushan ve ark., 2008; Putnik ve ark., 2017; Lobo ve Dorta, 2019). Bu atıklar, gıdalarda yüksek katma değerli katkı maddesi üretmek için işlenebilmektedir (Barreira ve ark., 2019; Senit ve ark., 2019; Virgen Ortiz ve ark., 2020). Meyve işleme sektöründe kabuklu meyvelerden oluşan atıklar, meydana gelen tüm atıkların %50-60'ını oluşturmaktadır. Bu nedenle verimli kullanımları çok önemlidir. Kabukların bozulma hızı da güvenli bir şekilde imha edilmelerinde önemli bir sorun haline gelmektedir. Bununla birlikte, bu atıklar, ticari olarak hayati öneme sahip pek çok nutrasötik için doğal ve ucuz bir kaynak olarak kullanılabilme potansiyeline sahiptir (Mao ve ark., 2017; Martins ve Ferreira, 2017).

Modern gıda endüstrisi, şu anda dünya çapındaki tüketiciler tarafından belirgin bir talep gören sertifikalı "süper gıdalar", "sağlıklı gıdalar" ve hatta "işlevsel gıdalar" da dahil olmak üzere sağlıklı ve daha güvenli ürünlere yönelmiştir (Bigliardi ve Galati, 2013). Fenolik bileşikler, karotenoidler, diyet lifi, vitaminler ve mineraller gıda ürünlerine en sık eklenen doğal bileşenler arasında yer almaktadır (Carocho ve ark., 2014). Ayrıca bu biyoaktif moleküller, çeşitli gıda maddelerine değer katmak ve beslenme fonksiyonlarını iyileştirmek, kullanılan konsantrasyona bağlı olarak renklendirici ve hatta terapötik amaçlar için uygulanmaktadır. Fenolik bileşikler ve

özellikle karotenoidler bu biyoaktif bileşiklerin önemli bir grubunu temsil etmektedir (Reis ve ark., 2015; Rodriguez Amaya, 2016).

Günümüzdeki ekonomik sistem, hayat tarzı, teknolojik ve sosyal yapı düşünüldüğünde işlenmiş gıda ürünleri oldukça fazla miktarda tüketilmekte ve bu durum da gıda katkı maddeleri dolayısıyla gıda renklendiricilerinin kullanımını zorunlu hale getirmektedir. Gıda renklendiricileri, bitkisel, hayvansal ve mineral kaynaklardan çeşitli ekstraksiyon yöntemleri ile sentetik renklendirici olarak elde edilebilmektedir. Dünya çapında, gıda endüstrisinde kullanılan sentetik renklendiricilerle ilgili yasal olarak çeşitli düzenlemelere gidilerek kullanımına izin verilen renklendirici sayıları azaltılmaktadır (Calvo ve Salvador, 2000). Sağlık üzerine yan etkilerinin bulunması, özellikle çocuklarda da bazı alerjik reaksiyonlara neden olması ve çevreye verdiği zararlar nedeni ile sentetik renklendiricilerin kullanımı giderek azalmasına karşılık doğal renklendiricilerin ve pigmentlerin payı her geçen yıl artmaktadır (Doğruyol, 2006; Bechtold ve Mussak, 2009).

Sentetik gıda boyalarının aşamalı olarak doğal olanlarla ikame edilmesi ve kimyasal bileşiminde fazla miktarda gıda maddesinin bulunması, ürünlere doğal gıda bileşenleri (renklendiriciler dahil) olarak eklenmesi yeni bir olgu değildir (Carocho ve ark., 2014; Carocho ve ark., 2015; Martins ve ark., 2016). Doğal renklendiricilerin kullanılması, tüketicilerin doğal pigmentlerin olası sağlık yararları ile pekiştirilen yapay gıda boyalarının güvenliği konusundaki endişelerinden dolayı mevcut pazarlama trendi olarak karşımıza çıkmaktadır (Kammerer ve ark., 2014; Rosello Soto ve ark., 2015). Bununla birlikte, doğal renklendiriciler genellikle daha kararsız yapıda olup daha maliyetlidir, sınırlı ton aralığına sahip olmaları nedeniyle sentetik renklendiricilere eşdeğer renk kuvvetini elde etmek için daha fazla miktarda kullanımı gerekli kılmaktadır. Bu nedenle pigmentler son yıllarda önem kazanan metabolitlerden biridir. Renk kaynağı olarak kullanılmalarının yanı sıra aynı zamanda sağlığa faydalı ve koruyucu bileşikler olarak da kullanım alanı bulmaktadırlar (Akyıl, 2017). Son yıllarda doğal renklendirici olarak önem kazanan renk pigmentlerinden biri de karotenoidlerdir.

Bitkilerin farklı çeşitte ve miktarda karotenoid içermesi, yapılarında bulunan bileşimsel farklılıklardan kaynaklanmaktadır. Karotenoid ekstraksiyonunda bu nedenle genellikle kabul edilmiş bir yöntem veya standart bir metot yoktur. Ancak, çoğu ekstraksiyon metodu, matriksten istenilen bileşenlerin açığa çıkarılması için dokuları

parçalamaktadır ve ardından istenmeyen bileşenlerin uzaklaştırılması basamaklarından oluşan ortak bir yol izlemektedir (Amorim Carrilho ve ark., 2014).

Sözü edilen biyoaktif nitelikteki bileşikler, gıda sistemlerine eklenebilmesi için çeşitli ekstraksiyon yöntemleriyle ekstrakte edilmektedirler. Geleneksel ekstraksiyon tekniklerinde yüksek miktarlarda çözücüye ve uzun sürelerle ihtiyaç duyulmaktadır. Ekstraksiyon için gerekli olan çözücü miktarını azaltan, işlem süresini kısaltan ve çevreci yeni ekstraksiyon yöntemlerine olan talep giderek artmaktadır. Mikrodalga destekli, ultrason destekli, süperkritik ve hızlandırılmış çözücü ekstraksiyon tekniklerinin böylece bitkisel ürünlerin ekstraksiyonunda kullanılmasının daha etkili ve hızlı olduğu belirtilmektedir. Yüksek basınç ve sıcaklıklarda çalışmaya uygun olan bu teknikler, ekstraksiyon süresinin önemli ölçüde kısılmasına yardımcı olmaktadır (Wang ve Weller, 2006).

Ultrason uygulaması ile sistemde kavitasyon kabarcıkları oluşmaktadır, sıvı içerisinde titreşimlerin oluşumunu sağlayan bu kabarcıklar sıvıdaki taşınımı artırmaktadır ve kütle transferi sırasında dış direnci düşürmektedir. Ultrason, hücre duvarlarının hasar görmesini sağlayarak doku içerisindeki bileşenleri ekstrakte edilebilmektedir. Bu bileşenlerin kütle transferi ile çözücü fazına aktarımı artmaktadır ve böylece bileşenlerin ortaya çıkması kolaylaşmaktadır (Vinatoru, 2001). Çeşitli ve çok sayıda ultrason işleminin uygulamaları mevcut olsa da günümüzde gıda sanayi tarafından kullanımı yaygın görülmemektedir. Ancak son zamanlarda sayıca az da olsa bazı işletmelerde ultrason uygulaması kullanılmaya başlanmış ve önemli gelişmeler kaydedilmiştir.

Yukarıda sözü edilen nedenlerle güncel tekniklerin kullanımı ile gıda atıkları değerlendirilerek katma değeri yüksek ürünler olarak kazanılması ve bu ürünlerin gıda formülasyonlarında kullanılması ile kimyasal katkı veya koruyucu kullanımının önlenmesine yönelik çalışmalara gereksinim duyulmaktadır.

Bu nedenle tez kapsamında; dünyada ve ülkemizde en çok bulunan bitkisel atıklardan biri olma özelliği taşıyan şeftali posasının yapısında bulunan karotenoidlerin, cevap yüzey yöntemi (RSM) kullanılarak, ultrason destekli enzimatik ekstraksiyon yöntemiyle karotenoid ekstraksiyon koşullarının optimizasyonu ve doğal gıda renklendiricisi olarak kullanılma olanaklarının araştırılması amaçlanmıştır.

2. KURAMSAL TEMELLER ve KAYNAK ÖZETLERİ

Bu bölümde, şeftali ve şeftali posası başta olmak üzere meyve ve sebze sanayi atıkları, karotenoidlerin genel yapıları ve ekstraksiyonlarında yararlanılan çeşitli uygulamaları konu alan çalışmalar üzerinde durulmuştur.

2.1. Şeftali

Şeftali, *Rosales* takımının *Rosaceae* familyasının, *Prunoidea* alt familyasına bağlı olan *Prunus* cinsine aittir. Botanik adı *Prunus persica* L. olan şeftalinin, isminden dolayı kaynağının İran ve Kafkasya olduğu ileri sürülmektedir. Ancak şeftalinin anavatanın 1883'te De'Candolle, Doğu Asya ve Çin olduğunu kanıtlamıştır (Altay, 2016).

Şeftali, farklı iklim koşullarına uyum gösteren, dünyanın birçok bölgesine yayılmış bir meyve türüdür. Dünyanın seksenden fazla ülkesinde yetiştiriciliği yapılmakta olan şeftali ve nektarinin en önemli üreticisi Çin'i sırasıyla İspanya, İtalya, Yunanistan, ABD ve Türkiye izlemektedir (İkinci ve Bolat, 2018). Dünya, şeftali/nektarin üretimi 2018 yılında 24 453 425 tona ulaşmıştır (FAO, 2020).

Türkiye İstatistik Kurumu 2020 yılı verilerine göre; 2018 yılında 789.457 ton, 2019 yılında 830.577 ton olan şeftali üretimi, 2020 yılında bir önceki yıla göre %6.8 bir artış ile 892.048 tona ulaşmıştır (TÜİK, 2020).

Türkiye'de şeftali, kayısıdan sonra en fazla yetiştiriciliği yapılan sert çekirdekli meyve türleri içerisinde yer almaktadır. Türkiye'de üretilen şeftalinin büyük bir kısmı taze olarak iç piyasada tüketilmektedir, ayrıca bu miktarın yaklaşık %15'inin işleme sanayinde kullanıldığı varsayılmaktadır (Çetinkaya, 2020). Şeftali taze olarak tüketilmesinin yanı sıra meyve pulpu olarak ya da kurutularak uzun süre muhafaza edilmektedir. Ayrıca meyve nektarı, reçel ve marmelat gibi ürünlere işlenmektedir. (Anonim, 2018).

Şeftali meyvesi yaklaşık %87 oranında su içermekle birlikte; bünyesinde karbonhidratlar, organik asitler, pigmentler, fenoller, vitaminler, uçucu maddeler, antioksidan maddeler, az miktarda da protein ve lipid barındırır. Olgunlaşmamış şeftali meyvesi çok az nişasta içermekte veya hiç içermemektedir. Ayrıca bu nişasta tanecikleri,

meyve olgunlaştıkça hızla çözünerek şekerlere dönüşmektedir. Sonuç olarak, depolama ve olgunlaşma esnasında çözünür şekerlerde belirgin bir artış gözlenmemektedir. Çözünebilir şekerler toplam ağırlığın %7-18'ini oluşturur ve lif tüm meyvenin taze ağırlığının (FW) %0.3'üne katkıda bulunur. Şeftali meyvesindeki çözünebilir şekerlerin %75'ini; glukoz, sakkaroz ve fruktoz oluşturmaktadır. Olgun şeftali meyvesinde baskın olan asit malik asittir ve bunu sitrik asit takip etmektedir (Layne ve Bassi, 2008).

Şeftali ayrıca antosiyanin, potasyum, flavonoid gibi fitokimyasallar bakımından da oldukça zengindir (Saidani ve ark., 2017; Polatçı ve ark., 2018). Yapılan çalışmalar, şeftali meyvelerinin çeşitli antioksidan maddelerin doğal kaynağı oldukları kanıtlanmıştır (Zhao ve ark., 2015). Stres, kanser, şeker hastalığı ve dolaşım sistemi gibi sağlık problemlerine karşı düzenli tüketiminde fayda sağladığı belirtilmiştir (Sun ve ark., 2002; Vinholes ve ark., 2016).

Şeftali, yüksek antioksidan bileşimi nedeniyle tümör hücresi inhibitörü gibi davranmaktadır (Noratto ve ark., 2009; Vizzotto ve ark., 2014). Meyve tüketimini artırmanın bir yolu olarak, günlük yiyeceklerin formülasyonuna posaların veya konsantrelerin dahil edilmesi önerilmektedir (Canalisa, 2020). Ancak bu yöntemin dışında içerdiği biyoaktif bileşenler nedeniyle katma değeri yüksek ürünlere dönüştürme potansiyeline sahiptir.

2.2. Şeftali Posası ve Biyoaktif Bileşenleri

Şeftali yapısında %78-85 oranında su içerdiğinden meyve suyu üreten işletmeler tarafından yaygın olarak tercih edilmektedir (Polatçı ve ark., 2018). Meyve suyu/pulp üretimi sonucunda, atık olarak ortaya çıkan posa yüksek oranda lif içermesinden dolayı hayvan yetiştiricileri tarafından yoğun talep görmektedir. Gıda endüstrisi atıklarının doğrudan doğaya atılması veya hayvan yemi olarak kullanılması bazı besin öğelerinin önemli miktarda kaybına neden olmaktadır. Atıkların etkili bir şekilde değerlendirilememesi ve depolanma problemleri işletmelere ekonomik açıdan zarar vermektedir (Yılmaz, 2013).

Genellikle, şeftali pulpu üretiminden çıkan palper kalıntısına atıfta bulunan şeftali posası (ŞP), başlangıçtaki meyve ağırlığının yaklaşık %10 'unu oluşturmaktadır (Argun ve Dao, 2017). Şeftali, esas olarak ŞP'nin ana bileşenleri olan pulp ve kabuk dokularında lokalize olan antioksidan bileşenler bakımından zengindir. Şeftalinin antioksidan aktivitesine, özellikle, fenolik bileşiklerin, ardından da askorbik asit ve karotenoidlerin katkısı olduğu kanıtlanmıştır (Redondo ve ark., 2017; Redondo ve ark., 2018). Buna rağmen, diğer bitkisel yan ürünler gibi, şeftali posasında günümüzde genellikle çöp olarak atılmakta, anaerobik olarak sindirilmekte veya kompostlanmaktadır. Bu ŞP yönetimi seçenekleri, yalnızca değerli biyokütle israfını değil, aynı zamanda şirketler için çevresel bir yükü ve ekonomik bir maliyeti temsil etmektedir. Bu nedenlerle, bu endüstriyel atığı katma değeri yüksek bir ürüne dönüştürmek için, ŞP'yi uygun şekilde değerlendirebilen alternatif yönetim seçeneklerinin tanımlanması gerekir. Bu bağlamda, biyobileşiklerin ekstraksiyonu, ŞP'nin etkili bir atık değerlendirme stratejisini temsil etmektedir (El Darra ve ark., 2018).

Araştırmacılar, şeftalilerin antioksidatif etkisinin büyük ölçüde fenolik içeriklerine ve bileşimlerine bağlı olduğunu göstermiştir (Gill ve ark., 2002). Bu nedenle, birçok çalışmada şeftali fenolik özütlerine ve bileşenlerine odaklanılmıştır (Mokrani ve Madani, 2016). Şeftali kabukları, etten üç ila beş kat daha fazla toplam fenolik madde içermektedir ve bu nedenle şeftali kabuğu özleri, meyve içeriğinden daha fazla antioksidan aktiviteye sahiptir (Saidani ve ark., 2017). Kabuğun büyük bir orana sahip olduğu meyve işleme endüstrisinde yaklaşık %30-40 tarımsal sanayi kalıntısı veya yan ürünlerinin üretildiği tahmin edilmektedir (Ferrentino ve ark., 2016). Bu değerli kaynağın gıda ve doğal sağlık ürünlerinin değerini artırmak için kullanılması araştırmacıların ilgi odağı haline gelmektedir.

Şeftali kabuğu ekstresi, lipid metabolizmasıyla ilgili gen ifadelerini düzenleyebilir ve oksidatif stresi iyileştirebilmektedir. Bu nedenle, mevcut çalışma, şeftali kabuğu ekstresi, lipid metabolik anormalliklerini iyileştirme potansiyeline sahip olabileceğini ve bu etkinin fenolik içeriklerine ve bileşimlerine atfedilebileceğini güçlü bir şekilde göstermektedir. Şeftali kabuğundan ekstrakte edilen polifenol bileşikler fonksiyonel gıdaların geliştirilmesinde lider bir bileşik olarak işlev görebilir (Kan ve ark., 2020).

Şeftali hurması meyvesinin, posasında bulunan karotenoidler (1.1 mg-22.3 mg/100 g), β -karoten (% 26.2-47.9), α -karoten (%18.2-34.3) ve likopen (%10.2-26.8) baskın olan karotenoid çeşitlerinin başında gelmektedir. Bu karotenoidler yağda çözünmekte ve sadece bitkiler ve mikroorganizmalar tarafından sentezlenebilmektedirler (Santos ve ark., 2015).

Şeftalinin rengi yeşilden sarıya ve hatta kırmızıya değişmektedir; bunun başlıca nedeni, meyve kabuğunda bulunan klorofildeki azalma ve karotenoidler, flavonoidler ve antosiyanin birikmesidir (Liu ve ark., 2015). Klorofilin bozunması sadece ilgili enzimler tarafından düzenlenmesiyle ilgili değil, aynı zamanda klorofil varlığıyla da ilgilidir (Alos ve ark., 2008; Borovsky ve Paran, 2008; Barry, 2009). Bu biyoaktif bileşenler nedeniyle katma değeri yüksek ürünlere dönüştürme potansiyeline sahip olan şeftali posasından elde edilen biyoaktif bileşenlerden birisi de şeftaliye rengini veren karotenoid pigmentidir.

2.3. Karotenoidler

Karotenoidler, farklı kaynaklarda fazla miktarda bulunmaları, yapısal farklılıkları, çok çeşitli etki ve fonksiyonlarıyla doğada bulunan önemli doğal pigmentlerdir. 700'den fazla farklı karotenoid, bu bileşik sınıfının çeşitliliğini yansıtmaktadır. Karotenoidler, çeşitli doğal kaynaklardan izole edilmiş ve tanımlanmıştır. Genellikle yapraklarda, çiçeklerde, meyvelerde ve bitkilerin diğer organlarında bulunmaktadır; az miktarda bakteri, fungus, alg ve birkaç hayvanda gözlenmektedir (Nisar ve ark., 2015; Yuan ve ark., 2015).

Karotenoidler, bitkisel dokularda serbest halde (kristal veya amorf) veya yağlı ortamda çözünmüş olarak bulunmaktadır, ayrıca şeker ve proteinlerle kompleks halde veya yağ asitleriyle esterleşmiş halde de bulunabilirler. Karotenoidler yaklaşık 430-480 nm dalga boylarında maksimum absorbans göstermektedirler ve renk kaynağını bu konjuge çift bağ sisteminden almaktadır. Bu nedenle, yüksek karotenoid birikimi, birçok bitkinin sarı, turuncu ve kırmızı görünmesine neden olmaktadır (Hirschberg, 2001). Renk, besleyici değer, tazelik ve tat ile ilgili olduğu için tüketiciler için belirleyici bir kriterdir (Garcia Chavarria ve Lara Flores, 2013). Ayrıca, karotenoidler, büyük antioksidatif aktiviteleri nedeniyle son yıllarda büyük ilgi görmektedir.

Esas olarak bitkilerde bulunan, doğal ve yağda çözünen pigmentler sınıfı olan karotenoidler, yüzyıllardır gıda endüstrisi tarafından renklendirme amacıyla yaygın olarak kullanılmıştır; ancak son yıllarda araştırmacıların ilgisi, antioksidan ajan olarak kullanımına odaklanmaktadır (Gammone ve ark., 2015). Öte yandan, insan diyetine bakıldığında, karotenoidler antitümör ajanlar, kardiyovasküler hastalık önleyiciler ve bağışıklık sistemi modülatörleri olarak ve şu anda belirtilen tüm bu etkileri uzun bir kullanım geçmişine sahiptir (Pechinskii ve Kuregyan, 2014; Gammone ve ark., 2015).

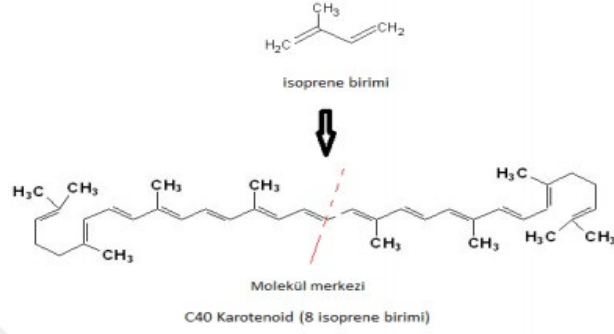
Karotenoidler, yaygın olarak antioksidan özellikleriyle bilinmekte ve bu nedenle çok sayıda gıda maddesinin raf ömrüne katkıda bulunmaktadır (Strati ve Oreopoulou, 2014). Etki mekanizmaları, kimyasal yapılarında (yani ksantofillerde) konjuge çift bağ ve hidroksil gruplarının varlığı nedeniyle elektron vericileri ve serbest radikal temizleyicileri olarak hareket etmeyi içermektedir (Ayala-Zavala ve ark., 2011; Gammone ve ark., 2015; Oroian ve Escriche, 2015). Öte yandan, doğal renklendiriciler olarak karotenoidlerin kullanımı da geniş çapta kabul görmekte ve giderek daha fazla uygulanmaktadır. Kırmızıdan turuncuya ve hatta sarı renge sahip olan karotenoidler, çok sayıda gıda maddesine yaygın olarak dahil edilmektedir (Gammone ve ark., 2015).

Karotenoidlerin yapısında bulunan konjuge çift bağ, pigmentlerin karakteristik rengini belirlediği gibi (Britton, 1995), enerji aktarımı, hücreleri ışığın zararlı etkilerinden koruma ve fotosentez sırasında ışığı absorbe etme gibi biyolojik fonksiyonlarını da belirlemektedir (Deming ve Erdman, 1999). Ek olarak, kök ve yapraklarda bulunan bazı karotenoidler, büyüme düzenleyici ve kimyasal taşıyıcı bir bileşik olan absisik asidin ön maddesi olarak işlev sağlamaktadır (Von Elbeve Schwartz, 1996).

Bir tür ikincil metabolit olan karotenoidler, bitkiler ve hayvanlar arasındaki iletişimde önemli bir rol oynamaktadır. Böylece karotenoid kaynaklı renkler, tozlanma (çiçekler için) ve tohum (meyveler için) aktarımı için hayvanlara yardımcı olmaktadır (Lorente ve ark., 2017; Rodriguez Concepcion ve ark., 2018).

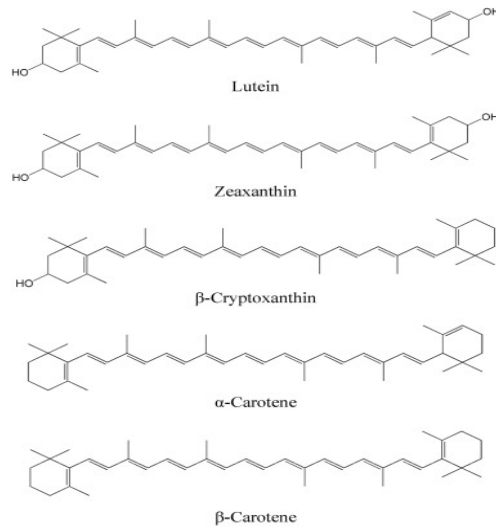
Gıda içeriğindeki karotenoidler, sekiz C₅ isopren ünitesinden C₄₀ tetraterpenden oluşmaktadır, merkezde ters olarak sıralanmıştır ve simetrik bir iskelet yapı göstermektedir. Bu yapı, farklı sayıda ve pozisyonlarda metil grubu içeren halkalar

içermektedir. Halkalaşma ve diğer modifikasyonlar, çift bağ göçü, zincir kısalması ya da uzaması, izomerizasyon, hidrojenasyon, dehidrojenasyon, oksijenin yapıya girişi ya da bunların kombinasyonundan kaynaklanmaktadır (Rodriguez, 2001).



Şekil 2.1. Karotenoidlerin kimyasal yapısı (Tekelioğlu, 2016)

Karotenoidler yalnızca karbon ve hidrojenlerden oluşan (β -karoten ve likopen) karotenler (hidrokarbon karotenoidler) ve hidroksi, epoksi, keto ve metoksi fonksiyonel grubunu içeren ksantofiller olarak sınıflandırılır. Karotenoidler arasında gösterilen α -karoten, β -karoten, lutein, likopen, β -kriptoksantin ve zeaksantin (Tablo 2.1.) insan diyet, kan ve dokularında yaygın olarak bulunmaktadır (Sowmya, 2015).



Şekil 2.2. Gıdalarda yaygın olarak bulunan bazı karotenoidlerin kimyasal yapıları (Melendez ve Mapelli, 2021)

β -karoten (E160a) turuncu sarı renkli en bilinen karotenoidtir ve esas olarak havuçtan (*Daucus carota* L.) ve küflerden (*Blakesleatrispora*) elde edilmektedir. Pigment, karakteristik renk vermenin yanı sıra, iki β -iyonon halkasından kaynaklanan en yüksek A vitamini aktivitesine sahiptir ve insan sağlığında önemli bir rol oynamaktadır (Mercadante ve ark., 2017). Ayrıca, bu bileşiğe birçok biyolojik fonksiyon atfedilmektedir; bir antioksidan görevi görmektedir ve lipid peroksidasyonunu inhibe etmektedir. Ayrıca kansere, kardiyovasküler hastalıklara karşı korumaktadır ve yaşlanma sürecini yavaşlatmaktadır (Zhang ve ark., 2011). Bununla birlikte, yüksek oranda doymamış kimyasal bileşim pigmenti ışık, sıcaklık ve metal iyonlarının varlığında hızlı oksidasyona yatkın hale getirerek önemli pigment kaybına ve biyoaktivitede azalmaya neden olmaktadır. Bu tür zorluklar, belirli biyolojik aktivite için gerekli hedeflerinde biyoaktif bileşenleri korumak, kapsüllemek ve serbest bırakmak için birçok kolloidal dağıtım sistemi kullanılarak üstesinden gelinmektedir.

β -Karoten, ticari olarak mikroalglerden üretilen ilk üründür (Gateau ve ark., 2016). Doğal β -karoten, iyonik radyasyonun neden olduğu beyaz kan hücrelerinin ve trombositlerin azalmasını önlemektedir, böylece bağışıklık sistemini güçlendirir ve istenmeyen radyasyon maruziyetine karşı koruma sağlamaktadır (Irwandi, 2011; Vilchez ve ark., 2011). β -Karoten ile ilişkili tıbbi tedaviler, insan vücudundaki çeşitli tümör türlerini başarılı bir şekilde inhibe etme ve önleme kabiliyetini göstermektedirler. Ayrıca, β -karoten, kolesterol seviyelerini kontrol etmede ve kardiyovasküler hastalık riskini azaltmada etkilidir (Pangestuti ve Kim, 2011; Gateau ve ark., 2016).

β -Karoten, 11 konjuge karbon-karbon çift bağı içeren bir tetraterpenoid poliendir. Bu kapsamlı konjugasyon, bileşiğin görünür ışığı yoğun şekilde absorbe etmesinden sorumludur. β -karoten, yağda çözünür ve bitkilerde en bol bulunan karotenoiddir. Sağlığa yararlı antioksidan özelliklere sahip olmakla birlikte, β -karoten ve bazı diğer karotenoidler, bitkisel yağ işleme sırasında sıklıkla kullanılan yüksek sıcaklıklar altında prooksidan davranış sergileyebilmektedir (Zeb ve Murkovic, 2010a; Zeb ve Murkovic, 2010b).

Tablo 2.1. Gıdalarda yaygın olarak bulunan bazı karotenoidler

Karotenoid	Özellikler	Referanslar
β-karoten (provitamin A)	β -karoten, diyetteki en önemli A vitamini öncülü olan, provitamin aktivitesinin yüksek olmasını sağlayan iki adet β -iyonon halkası ihtiva etmektedir ve gıdalarda en yaygın olarak bulunan karotenoidler arasında bulunmaktadır. Karotenoid pigmentlerin, antioksidan aktivitelere bağlı olarak kanser oranını ve koroner kalp hastalığı riskini düşürme etkisi vardır. En önemli faydaları provitamin etkinliğidir. β -karotenin başlıca kaynağı havuçtur ve bunun dışında β -karoten içeren diğer gıdalar; kayısı, şeftali, tatlı patates, maydanoz, kırmızı biber, hindiba, ıspanak ve marul, brokoli, yeşil turp, kabak ve bal kabağı gibi sarı ve yeşil sebzelerde bulunmaktadır.	(Fraser ve Bramley, 2004; Pechinski ve Kuregyan, 2014; Gammone ve ark., 2015)
α-karoten	Brokoli, ıspanak, yeşil fasulye gibi yeşil sebzeler ve havuç, bal kabağı, tatlı patates gibi turuncu sebzelerde sınırlı miktarda bulunmaktadır. α -karotene zengin gıdalar, β -karoten bakımından da benzer şekilde zengin bir gıda kaynağı olarak gösterilmektedirler.	(Amorim Carrilho ve ark., 2014)
Likopen	Domates, karpuz, havuç, yeşil biber, kayısı, kırmızı lahana, çilek, erik, guava ve pembe greylift gibi birçok meyve sebzede bulunan likopenin, provitamin A aktivitesi yoktur ancak, iyi bir antioksidan kaynağı özelliği taşımaktadır. Kanser ve koroner kalp hastalığına yakalanma riskini önlemede etkili rol oynamaktadır.	(Farre, 2010)
Lutein ve Zeaksantin	Mısır, portakal, nektarin ve kabak gibi bazı sarı turuncu ve yeşil meyve sebzelerde bulunmaktadır. Retinadaki sarı noktanın oluşmasını sağlayan temel karotenoidlerdir. Antioksidan etki, retina dokusunda hasarı, oksidatif stresi, lipid peroksidasyonu ve DNA hasarlarını önlemektedir, solunum ve kardiyovasküler sağlığı desteklemektedir.	(Farre, 2010)
β-kriptoksantin	Trabzon hurması, nektarin, şeftali, mısır, papaya, limon, portakal, kuru erik, kayısı, elma, havuç, kabak, mandalina, yeşil ve kırmızı biber, hurma gibi birçok turuncu meyvenin ana pigmentidir. Solunum fonksiyonunu iyileştirir, akciğer kanserini önleyen, kemik oluşumunu uyaran ve kemik erimesini inhibe eden, hücreleri ve DNA'yı oksidatif hasarlara karşı koruyan, kardiyovasküler riski azaltan karotenoid çeşididir.	(Fernandez Garcia ve ark., 2016)

Meyveler son zamanlarda, düşük kalorileri, yüksek antioksidan seviyeleri ile birlikte içerikleri, vitamin, mineral, lifler gibi besin maddeleri ve oksidatif stresi önlemede üstlendikleri önemli rolleri sayesinde fonksiyonel gıdalar olarak kabul edilmektedir. Fonksiyonel gıdalar, vücudun ihtiyacı olan besinsel öğeleri karşılamaktadır

ve fizyolojik ve metabolik fonksiyonlar üzerinde katkı sağlamaktadır (Orazem, 2011). Bir yaz meyvesi olan şeftali içerdiği faydalı fenolik bileşikler, askorbik asit, karotenoidler gibi bir dizi doğal kimyasal bileşikler ve pigmentler sayesinde gittikçe daha fazla ilgi çekmektedir.

Antioksidanların ve vitaminlerin ana kaynakları olan meyve ve sebzeler; tat, aroma ve kokularının yanında antioksidan maddelerce zengin olmaları, kalp ve damar hastalıklarına, kansere ve çeşitli hastalıklara karşı koruyucu etkileri nedeniyle günümüzde bilinçli tüketiciler tarafından tercih edilmeye başlanmıştır. İnsan vücudunu zararlı serbest radikallerin etkisinden koruyan ve gıdalarda mevcut olan antioksidanların başlıcası; vitaminler, proteinler, enzimler, flavonoidler, karotenoidler ve polifenollerdir. Bunların dışında ferritin, hemoglobin, metiyonin, melatonin, miyoglobin, laktoferrin, ürik asit, bilirubin ve glutatyon gibi antioksidan özelliğe sahip bileşenler de gıdalarda bulunabilen kimyasallardır (Güngör, 2019).

Antioksidan özelliğe sahip maddeler, gıdaları oksidatif strese karşı koruyan bileşenlerdir. Antioksidanlar tekli oksijen bağlayıcı, serbest radikal temizleyici, peroksit ve diğer reaktif oksijen türlerinin (ROS) inaktivatörü, ikincil oksidasyon ürünlerini sönmüleyen, metal iyonlarını bağlayıcı molekül ve prooksidatif enzimlerin inhibitörü olarak çalışan bileşenlerdir (Paiva ve Russell, 1999; Shahidi ve Zhong, 2015).

Karotenoidler önemli bir retinol (A vitamini) öncülü olmakla beraber fotosentetik olmayan organizmalardaki temel fonksiyonları fotooksidatif hasarlara karşı koruyucu özelliğe sahip olmalarıdır (El Akabawy ve El Sherif, 2019). Karotenoid bakımından zengin gıdalarla karotenoid alımının, son yapılan epidemiyolojik ve klinik araştırmalarda faydalı etkilerine dikkat çekilmektedir (Fiedor ve Burda, 2014). Bazı epidemiyolojik çalışmalar ise karotenoid içeren sebze ve meyve tüketiminin kardiyovasküler hastalık, bazı kanser türleri, nörolojik hastalıklar ve yaşlılık kataraktları gibi dejeneratif hastalıkların gelişimini önlemeye yardımcı olabileceğini göstermiştir (Fiedor ve Burda, 2014; Tan ve Norhaizan, 2019). Ayrıca veriler, lutein ve zeaksantin'in yaşa bağlı göz hastalıklarında ve bilinci sürdürmeye yönelik koruyucu etkiye sahip olduğunu doğrulamaktadır (Johnson, 2014). Bu nedenle, araştırmacılar bu pigmentlere olan ilginin arttığını belirtmektedir.

Karotenoid birikiminin düzenleyici mekanizmasını daha iyi anlamak için, meyve gelişimi sırasında farklı renklere sahip iki şeftali çeşidi arasında ilgili karotenoid genlerin ve metabolitlerin ekspresyon profili karşılaştırılmıştır. Sarı etli şeftali (Jinli) ile karşılaştırıldığında, beyaz şeftali (Hujing) çeşidi kabuk ve pulpta daha düşük karotenoid seviyeleri gözlenmiştir. Mavi ışık teknolojisi, depolama sırasında 'Jinli' şeftalilerinde karotenoid birikmesine neden olmuştur. Sarı etli şeftalilerin (Jinli) ve beyaz şeftalilerin (Hujing) beş meyve gelişim aşamasında kabuğundaki toplam karotenoid içeriği analiz edilmiştir ve HPLC ölçümleri; olgunlaşma sırasında her iki çeşitte de lutein, zeaksantin, β -karoten ve β -kriptoksantin baskın olduğunu göstermiştir. Karotenoid metabolizmasındaki genlerin ekspresyon profillerine ilişkin sonuçlar, mavi ışığın neden olduğu çok daha yüksek karotenoid sentez oranının, muamele edilmiş meyvede daha yüksek karotenoid içeriğiyle sonuçlanabileceğini göstermiştir (Cao ve ark., 2017).

Leong ve Oey (2012), çeşitli meyve ve sebzelerin (şeftali, nektarin, kayısı, havuç, kiraz, erik ve kırmızı biber) toplam karotenoid, antosiyanin miktarı ve C vitamini üzerine ısıtma (98°C, 10 dk), dondurma (-20°C) ve dondurarak kurutma işlemlerinin etkisi araştırılmıştır. Meyve ve sebzelerdeki fitokimyasalların kararlılığı, içeriğinin yetiştirme biçimi ve coğrafi koşullardan etkilenmiştir. Antosiyanin miktarının sırasıyla en fazla şeftali, nektarin, kiraz ve erikte olduğu belirlenirken, toplam karotenoid içeriğinin ise en fazla nektarin ve kırmızı biberde olduğu bildirilmiştir. Şeftali, kiraz, kırmızı biber ve havuçta ise sırasıyla C vitamini içeriği açısından en zengin meyveler olduğu tespit edilmiştir. Dondurma ve ısıtma tekniklerinin, taze meyve ve sebzelere nispetle meyve zararına bağlı antosiyaninlerin serbest bırakılmasında etkili bir işlev gördüğü tespit edilmiştir.

2.4. Karotenoidlerin Ekstraksiyonu

Ekstraksiyon, bitki veya hayvan dokularındaki biyoaktif bileşenlerin inert veya inaktif kısımlardan seçici çözücüler kullanılarak ayrılmasını sağlayan işlemler bütünü olarak tanımlanmaktadır (Handa ve ark., 2008). Bitkisel ekstraktlar ise bitkilerin tohum, kök, çiçek, yaprak veya kabuklarından bir ekstraksiyon metodu kullanarak elde edilen aktif bileşenler veya bileşenlerin karışımı olarak tanımlanmaktadır. Ekstraksiyon tekniği basit, ucuz, hızlı ve doğa dostu olmasının yanında istenen bileşenin elde edilmesini

yüksek verimde sağlamalıdır (Chemat ve ark., 2011). Ekstraksiyon sonucunda elde edilen biyoaktif bileşenler kayıp veya bozulmaya uğramamalıdır ve tekrar saflaştırmaya gerek duyulmadan elde edilmelidir (Demir ve ark., 2015).

Katı halde gıda maddesinin bileşenlerinden bir kısmının veya birinin uygun bir solvent kullanarak elde edilmesine dayanan katı:sıvı ekstraksiyonda verimi; çözücü türü, partikül boyutu, katı ve sıvı oranları, pH, sıcaklık ve süre gibi faktörler etkilemektedir (İlbay, 2016). Özellikle bitkisel gıda ekstraktları; bitkisel kaynaklı ilaç, kozmetik ve gıda endüstrilerini ilgilendirmektedir (Vinatoru ve ark., 2017).

Geleneksel olarak, karotenoidler organik çözücüler kullanılarak ekstrakte edilmektedir. Bununla birlikte, etkili bir özütleme elde etmek için, genellikle, hücrelerdeki varlığı, karotenoidlerin ve organik çözücülerin hidrofobik doğası nedeniyle, karotenoidlerin verimli bir şekilde ekstraksiyonunu engellediğinden, toplam su içeriğinin önceden çıkarılması gerekmektedir. Geleneksel çözücü ekstraksiyonları, büyük miktarlarda zararlı solventler, çoklu ekstraksiyon aşamaları gerektirir ve hücre zarları ekstraksiyonu olumsuz etkilediği için yalnızca sınırlı etkinliğe sahiptir. Sonuç olarak, bu bariyerleri bozmak, çözücülerin hücreye girişini ve ardından karotenoidlerin çözülmesini kolaylaştırmak için ekstraksiyon öncesinde veya sırasında farklı fiziksel prosedürler (ısıtma işlemi, ultrason, yüksek basınç homojenizasyonu) uygulanmaktadır (Middelberg, 1995; Liu ve ark., 2016).

Karotenoid ekstraksiyonu, hücre duvarının ve numunede bulunan diğer fiziksel engellerin parçalanmasına yardımcı olan ön işlem aşamalarını içermektedir (Pasquet ve ark., 2011). Bu nedenle, karotenoidlerin karmaşık gıda matrislerinden salınmasını kolaylaştırmak için çeşitli kimyasal ve fiziksel ön işlemler uygulanmaktadır.

Bitki ve mikroalgal hücreler, çözücülerin hücreye girişine engel oluşturan dinamik, karmaşık ve sert hücre duvarlarından oluşmaktadır. Ek olarak, karotenoidler ile proteinler ve yağ asitleri gibi diğer makromoleküller arasındaki sıkı ilişki, ekstraksiyon sırasında karotenoidlerin kütle transferini engellemektedir. Böylece, ekstraksiyonun ilk adımında, bu engeller fiziksel (pişirme, kurutma, ozmotik şok, dondurma/çözme, kriyojenik öğütme), kimyasal (asit, baz, yüzey aktif maddeler), enzimatik veya biyolojik yollarla bozulmaktadır. Uygun hücre bozulmasının seçimi

temelde hücresel matriks ve hücre duvarı özelliklerine bağlıdır (Pangestuti ve Kim, 2011).

Ekstraksiyon süresince bitkilerin enzim aktivitesi, oksijen ve ışık ekstraksiyon verimini etkilemektedir. Bu nedenle hidroliz, oksidasyon ve izomerizasyondan kaçınmak için son derece dikkatli olmak gerekmektedir (Tsao ve Deng, 2004). Bitki polifenollerinin ve diğer biyoaktif bileşiklerin ekstraksiyonu, kullanılan bitkinin parçası, numune partikül boyutu ve hazırlanması, saklama koşulları, ekstraksiyon çözücüsü ve ekstraksiyon için kullanılan yöntem ile ilgilenilen bileşiğin kimyasal yapısından etkilenmektedir (Nirmal ve ark., 2015; Adadi ve ark., 2018).

Fiziksel, kimyasal veya mekanik yollarla etkili bir şekilde hücrenin parçalanması, hücre içi karotenoidlerin verimli bir şekilde ekstraksiyonu için bir ön koşuldur. Hücre duvarı bozulması, hücre içi karotenoidleri çözündürmek için çözücülerin hücreye girişini kolaylaştırmaktadır. Etkili hücre duvarı bozulması, karotenoid verimini 8-10 kat artırmaktadır (Michelon ve ark., 2012; Uquiche ve ark., 2016). Organik çözücüler ile karotenoid ekstraksiyonu böylece sofistike aletler kullanmadan iyi ekstraksiyon verimi sağlamaktadır. Bununla birlikte, nihai ürünlerin maliyeti, toksik yapısı ve kalıntı kontaminasyonu nedeniyle, gıda ve yem ürünlerinde uygulanmasında sınırlamalar vardır.

Karotenoidler, doğada hücre yapıları içerisinde korunmaktadır. Hücre duvarının parçalanmasına ve proteinlerin denatürasyonuna neden olan gıda prosesleri, hücre yapısının bozulması ile karotenoidlerin bozulmaya karşı hassasiyetini de artırmaktadır. (Aflakı, 2012). Bitkisel kaynaklı karotenoidler, kromoplast ve kloroplast içerisinde gömülü biçimde bulunmaktadırlar (Bartley ve Scolnik, 1995). Enzimatik preparatlar, bitki dokularını parçalayarak ekstraksiyon verimini artırmaktadırlar. Çoğunlukla sıvılaştırma işlemini, pektinolitik ve selüloolitik enzim karışımı artırmaktadır (Çınar, 2005). Pektinaz, selülaz, amilaz, amiloglukoksidaz, dehidrogenaz, pentonaz, naringinaz enzimleri meyve suyu ekstraksiyonunda ve meyve işlenmesi sırasında sıklıkla kullanılmaktadır. (Blanco ve ark., 1999). Pektinaz ile selülaz, arabinaz ve ksilanaz kombinasyonu, meyveleri parçalama etkinliğini artırmak için meyve suyu ekstraksiyonunda kullanılmaktadır (Gailing ve ark., 2000).

Gıda matrisinin özellikleri (örneğin nem içeriği, sert hücre duvarı ve karotenoid bileşimin varlığı) ve ekstraksiyon parametreleri (çözücü, basınç ve sıcaklık), karotenoidlerin verimli ekstraksiyonunu etkileyen en hayati faktörlerdir. Örnek pişirme, kriyojenik öğütme, ozmotik şok, yüzey aktif maddelerle mikroemülsiyon ve yüksek basınçlı homojenizasyon (HPH) gibi fiziksel ve kimyasal yaklaşımlarla ön işlem, karotenoidlerin karmaşık bir matristen salınmasında etkilidir, böylece ekstraksiyon verimi önemli ölçüde iyileştirilmektedir.

Çözücü seçimi, karotenoidlerin verimli bir şekilde ekstraksiyonu için en kritik faktördür ve esas olarak gıdanın karotenoid bileşimine bağlıdır. Genel olarak, ksantofil (polar) ve karotenoidlerin (nonpolar) ekstraksiyonu için aseton ve heksan seçilmektedir. Öte yandan, polar ve polar olmayan karotenoidlerin eşzamanlı ekstraksiyonu için çoğunlukla bir aseton/etanol/heksan karışımı uygulanmaktadır (Saini ve Keum, 2018). Karotenoidler genel olarak aseton, hekzan, kloroform, metanol, izopropanol, metilen klorür ve dietil eter vb. organik çözücüler kullanılarak ekstrakte edilmektedir. Karotenoidlerin ekstraksiyonu üzerinde daha güçlü bir etki sağlayan çok çeşitli çözücü kombinasyonları da kullanılmıştır. Karotenoidlerin verimli ekstraksiyonu için en kritik faktörlerden biri de uygun çözücü veya çözücü kombinasyonunun seçimidir. Bununla birlikte, mevcut karotenoidlerin fonksiyonel grubu (polarite) ve zincir uzunluğu, numune matrisi ve bileşenleri ve nem içeriği önemli rol oynadığından, uygun olanın seçimi her zaman kolay değildir.

Likopen ve β -karoten polar fonksiyonel gruplardan yoksun konjuge hidrokarbon yapılarına bağlı olarak oldukça lipofilik polar olmayan karotenoidlerdir. Epoksi (violaxanthin ve neoxanthin), hidroksil (lutein ve zeaksantin), keto (canthaxanthin) veya keto gibi polar fonksiyonel grupların hidroksi (astaksantin) grupları ile eklenmesi, karotenoidlerin polaritesini arttırmaktadır. Su ile karışabilen özelliklere sahip olan aseton ve etanol, yüksek miktarda nem içeren bitki materyalinden karotenoidlerin verimli bir şekilde ekstraksiyonu için tercih edilmektedir (Amorim Carrilho ve ark., 2014).

Ekstraksiyon için kullanılan çözücülerin çoğu (etanol, heksan ve aseton dahil) çevresel (hava, su ve kalıcılık), sağlık (kronik, akut toksisite ve tahriş) ve güvenlik (ayrışma, patlama) tehlikelerine sahiptir. Bununla birlikte, çevre, sağlık ve güvenlik

sorunları temelinde, genellikle karotenoidlerin ekstraksiyonu için kullanılan heksan, dietil eter, diklorometan ve kloroform ile karşılaştırıldığında etanol ve aseton tercih edilen çözücülerdir (Capello ve ark., 2007; Alfonsi ve ark., 2008). Sürdürülebilirliği iyileştirmek için, karotenoidlerin ve diğer biyoaktif bileşiklerin ekstraksiyonu için daha çevre dostu yeşil çözücüler ve iyonik sıvılar araştırılmaktadır.

Ultrason destekli ekstraksiyon, basınçlı sıvı ekstraksiyonu, vurgulu elektrik alan destekli ve enzim destekli ekstraksiyon karotenoidlerin hızlı ekstraksiyonu için gelişen diğer termal olmayan yöntemlerdir. Bununla birlikte, bu yöntemlerin maliyet, çevre güvenliği, verimliliği ve tekrarlanabilirliğinin ayrıntılı analizinin daha fazla değerlendirilmesi gerekmektedir. Ek olarak, bu yöntemlerin otomasyonu büyük ölçekli endüstriyel uygulamalara yardımcı olabilir. Toksik olmayan çözücüler kullanan karotenoid ekstraksiyonu, çevre güvenliği açısından ve ayrıca gıda ile kozmetikte uygulanması açısından geleneksel çözücülere göre çeşitli avantajlar sunmaktadır. Bu nedenle, bu alanlardaki metodolojik ve teknolojik gelişmeler arzu edilmektedir (Saini ve Keum, 2018).

Yapılan bir çalışmada ekstraksiyon işleminin farklı aşamalarında asit hacminin, etanol-ekstrakt oranının ve asit ile muamele süresinin şeftali posasından pektik madde ekstraksiyon verimi üzerindeki etkisi araştırılmıştır. Asit ilavesi ve asit ile etkileşim süresinin arttırılmasıyla pektik madde ekstraksiyon veriminin arttığı ve aynı zamanda, uygun pH aralığında maksimum verime ulaşıldığı da bulunmuştur. Etanol-özüt oranı (ER) arttırılarak daha yüksek ekstraksiyon verimi elde edilmiş. Ayrıca, ekstrakte edilmiş pektinin esterifikasyon derecesi (DE) üzerindeki etkisi araştırılmış ve Etanol-özüt oranındaki (ER) artışın, esterifikasyon derecesi (DE) üzerinde %84.25±3'e kadar artışa neden olduğu bulunmuştur. Bu nedenle, maksimum ekstraksiyon verimi elde etmek için, ER ve asit hacmi gibi tüm parametreler, uygun pH aralığını elde edecek şekilde seçilmelidir (Faravash ve Ashtiani, 2008).

Tüm ekstraksiyon yöntemlerinde genellikle sıcaklığın kütle transferini ve karotenoidlerin ekstraksiyon verimini olumlu yönde artırdığı gözlemlenmiştir. Genellikle ekstraksiyon sıcaklığının artması, difüzyon oranını ve hedef bileşenin çözücü içerisinde çözünme kapasitesini artırmaktadır. Matriks ve hedef bileşen arasındaki bağları etkili bir

şekilde koparmaktadır. Çözücünün viskozitesini ve yüzey gerilimini azaltmaktadır. Karotenoidlerin izomerizasyonu ya da oksidasyonu, çözücünün kaynama noktası gibi istenmeyen durumlar, uygun ekstraksiyon sıcaklığı seçimini kısıtlayan faktörlerin başında gelmektedir (Strati ve Oreopoulou, 2011).

Oksijen, özellikle ısı ve ışık ile beraber önemli derecede yıkıcı bir etkiye sahiptir. Doğrudan güneş ışığı ve ultraviyole ışık, karotenoidlerin parçalanmasına ve trans-cis fotoizomerizasyona neden olmaktadır (Rodriguez, 2001). Bu faktörlerin etkisi altında olmayan gıdaların yapısında bulunan karotenoidler, yüksek sıcaklıklarda dahi stabil kalabilmektedir. Lipit peroksidasyonu ile gıdalarda oluşan serbest radikaller hızla bozulmaktadır (Belitz ve ark., 2009). Karotenoid yapıları asit varlığında bozulabilmekle beraber izomerize ve dehidrate olabilmektedir. Alkali varlığında ise birçok karotenoid stabil halde kalabilmektedir. Ekstraksiyon sırasında açığa çıkan ve gıdaların kendi yapılarında bulunan asitleri nötralize etmek için magnezyum karbonat, kalsiyum karbonat ya da sodyum bikarbonat gibi nötralize edici ajanlar ilave edilmektedir (Rodriguez, 2001). Bu pigmentlerin belirlenmesinde sabunlaştırma işleminin uygulanması önemli bir basamak olarak görülmektedir (Melendez Martinez ve ark., 2007).

Katı-sıvı ekstraksiyon işleminde katı haldeki ortamdan ayrılmak istenen madde, bu maddeyi önemli derecede çözebilen bir çözücü yardımıyla elde edilmektedir. Fazlar birbirinden ayrılmaktadır ve çözücünün ortamdan uzaklaştırılması ile istenen madde elde edilmektedir. Katı-sıvı ve sıvı-sıvı ekstraksiyonu benzer bir yöntem gibi görünmesine rağmen katı-sıvı ekstraksiyon daha zor bir işlem olarak bilinmektedir. Katı içindeki yayılım sıvı içindeki yayılımdan çok daha yavaş gerçekleşmektedir ve böylece dengeye ulaşması daha zor bir işlemdir. Katı-sıvı ekstraksiyon işlemi, genellikle katı madde içinde bulunan bir ya da birden fazla katı-sıvı bileşenleri çözücü fazına transfer etmek amacıyla uygulanmaktadır. Kütle transferi katı ve sıvı faz arasındaki ara yüzeyde oluşmaktadır. Prosesin etkinliği bakımından, katı ile çözücü fazları arasındaki temas alanı ve temas süresi önemlidir (Tenderis, 2010).

Geleneksel olmayan ekstraksiyon yöntemleriyle karşılaştırıldığında, maserasyon, süzme, alkol veya diğer yaygın organik çözücüler kullanan sokselet ekstraksiyon yöntemi gibi çeşitli geleneksel işlemlerin çok miktarda ekstraksiyon

solventi, daha uzun ekstraksiyon süresi ve verimi, daha yüksek enerji tüketimi, daha az çevre dostu olma sonucunda biyoaktif bileşenleri azalttığı bildirilmiştir (Cui ve ark., 2018; Mehmood ve ark., 2019). Geleneksel ekstraksiyonun önemli bir diğer dezavantajı ise ekstraksiyon sırasında büyük miktarda yanıcı, bozulmayan veya toksik organik çözücü kullanımıdır.

Sokselet ekstraksiyonu, hedeflenen bileşiklerin seçici ekstraksiyonu için kaynama sıcaklığında ve düşük basınçlarda (ortam basıncı) çözücüler kullanan bir tür atmosferik sıvı ekstraksiyonudur. Sokselet ekstraksiyonu, en yüksek karotenoid geri kazanımını sağlayan geleneksel bir tekniktir. Bu nedenle, diğer yöntemlerin performansını değerlendirmek için yaygın olarak kullanılmaktadır (Macias Sanchez ve ark., 2010). Bununla birlikte zaman alıcıdır, önemli miktarda çözücü kullanılmaktadır ve böylece ekstraksiyon maliyetini artırmaktadır. Ek olarak, yüksek sıcaklık ve uzun ekstraksiyon süresi karotenoidlerin termal bozunma ve *cis-trans* izomerizasyon olasılıklarını artırmaktadır (Cardenas Toro ve ark., 2015).

Katı-sıvı ekstraksiyonu, maserasyon, infüzyon ve sokshlet ekstraksiyonu gibi geleneksel ekstraksiyon yöntemlerinde uzun işlem süresine ve yüksek miktarda çözücüye ihtiyaç duyulmaktadır (Wang ve Weller, 2006). Karmaşık bir matris molekülünden sürdürülebilir bir şekilde moleküllerin ekstraksiyonu büyük bir sorundur. Çünkü moleküller genellikle matris içinde gömülü haldedir (Tiwari, 2015). Ayrıca ekstrakte edilen molekülün, sıcaklığın ve hidrolizin etkisiyle bazı bileşenlerinin bozulması ve uçucu maddelerin kısmi kaybı da geleneksel ekstraksiyon yöntemlerinde karşılaşılan sorunlardandır (Cravotto ve Binello, 2016). Bu sorunlara son zamanlarda dikkat çekilmiş ve bunların çözümü için optimizasyon ve iyileştirme çalışmalarına yoğunlaşarak yeni bir kavram olan yeşil ekstraksiyon tekniği geliştirilmiştir (Li ve ark., 2013).

Klasik ekstraksiyon yöntemi ile karşılaşılan problemler arasında uzun ekstraksiyon süresi, yüksek saflıkta çözgen ihtiyacı, yüksek maliyet, büyük miktarlarda çözgenin buharlaştırılma zorunluluğu, sıcaklığa hassas bileşenlerin termal bozunumu ve düşük ekstraksiyon seçiciliği gibi olumsuzluklar yer almaktadır ve bunların giderilmesi için yeni ekstraksiyon tekniklerinin geliştirilmesine odaklanılmıştır (Azmir ve ark., 2013; Chemat ve ark., 2017). Modern ekstraksiyon yöntemleri olarak geliştirilmiş; vurgulu

elektrik alan destekli ekstraksiyon, mikrodalga destekli ekstraksiyon, basınçlı sıvı ekstraksiyonu, süperkritik akışkan ekstraksiyonu, ultrason destekli ekstraksiyon ve enzim destekli ekstraksiyon gibi teknikler ve bu tekniklerden bazıları ABD Çevre Koruma Kurumu tarafından belirlenen standartlara uyduğu için 'yeşil teknikler' olarak adlandırılmaktadır (EPA, 2017). Yenilenebilir hammadde ve güvenilir kimyasalların kullanımı, enerji verimliliği tasarımı, düşük maliyet, ekstraksiyon süresinin kısaltılması, kirliliğin ve kazaların önlenmesi şeklinde sıralanan temel özellikler günümüzde geliştirilen ekstraksiyon tekniklerinde gözlemlenmektedir (Wen ve ark., 2018).

Yeşil ekstraksiyon, biyorafineri kavramını da kapsayan çevreci ve ekonomik ekstraksiyon yöntemlerin geliştirilmesinde uygulanan prensipler bütünüdür. Literatürde modern yeşil ekstraksiyon tekniklerinin (süperkritik sıvı ekstraksiyonu, ultrason destekli ekstraksiyon, mikrodalga destekli ekstraksiyon) etki mekanizması, avantajları ve dezavantajları ve bu özelliklerinin geleneksel ekstraksiyon (sokselet, süzülme, maserasyon) teknikleriyle karşılaştırılması hakkında birçok çalışma (Tablo 2.2.) bulunmaktadır (Ameer ve ark., 2017). Ayrıca bu tekniklerle birlikte su, gliserol, bitkisel yağlar, iyonik sıvılar, limonen gibi toksik madde içermeyen sürdürülebilir alternatif çözücü kullanımı da yeşil ekstraksiyon prensipleri arasındadır ve bunların kullanımı ile gerçekleştirilen çalışmalarda diğer petrol bazlı çözücülere göre daha kaliteli ekstraksiyon sağlandığı görülmektedir (Zhao ve ark., 2005; Viroit ve ark., 2008; Gu ve Jerome, 2010; Mustafa ve Turner, 2011).

Özellikle bitkisel ve hayvansal ürünlerde bulunan nutrasötik besin maddelerinden dolayı gıda alanında yeşil ekstraksiyon çalışmalarına ağırlık verilmiştir ve bu çalışmalar sonucunda gıda endüstrisinde çevresel sorun oluşturan gıda atıklarının pektin, kitosan, lipid, prebiyotik şeker, fenoller, antosiyanin, laktoz, kalsiyum, selüloz gibi besinsel değeri yüksek maddeler halinde doğaya kazanımı söz konusudur (Kettawan ve ark., 2002; Corrales ve ark., 2008; Wang ve ark., 2010; Machado ve ark., 2015; Paini ve ark., 2016; Petkowicz ve ark., 2017).

Yeşil ekstraksiyon teknikleriyle yüksek verimde ekstraksiyon işlemi gerçekleştirmek için katı:çözgen oranı, çözücü cinsi, basınç, güç, sıcaklık, gibi işlem parametrelerinin optimum koşullarda olması gerekir. Düşük parametrelerde çalışmak

verimi düşüreceği gibi, yüksek parametrelerde çalışmak ise hassas gıda bileşenleri üzerinde olumsuz etki yaratarak yine düşük ekstraksiyon verimine neden olabilmektedir (Rodrigues ve ark., 2008; Santos ve ark., 2015).



Tablo 2.2. Yeşil ekstraksiyon tekniklerinin avantaj ve dezavantajları

Yeşil ekstraksiyon teknikleri	Avantajlar	Sınırlamalar	Referanslar
Vurgulu Elektrik Alan Destekli Ekstraksiyon (PEF)	Düşük enerji kullanımı, kısa işlem süresi, tahribatsız ve termal olmayan süreç, kolay ölçeklendirme, yüksek ekstraksiyon verimi	Yüksek cihaz maliyetleri, PEF parametreleri, numunenin elektriksel iletkenliğindeki değişiklik ile farklılık gösterebilir.	(Martinez ve ark., 2020)
Enzim destekli ekstraksiyon	Çevre dostu yöntem, minimum çözücü kullanımıyla hızlı ve verimli ekstraksiyon	Enzimlerin yüksek maliyeti, Optimum enzim etkisi için orta pH ve sıcaklığın sıkı kontrolü	(Puri ve ark., 2012)
Mikrodalga destekli ekstraksiyon	Kısa ekstraksiyon süresi; düşük enerji ve yüksek ekstraksiyon kazanımı; ekipman için gerekli düşük sermaye	Fenolik asitlerin termal bozulmasına neden olabilen numunenin eşit olmayan şekilde ısıtılması veya aşırı ısınması	(Al Jitan ve ark., 2018; Suktham ve ark., 2021)
Süper kritik sıvı ekstraksiyonu	Süper kritik akışkanların düşük viskozitesi ve yüksek difüzyon hızı, kütle transferini ve verimi artırır, Düşük sıcaklıklarda çalışarak ısıya dayanıksız bileşiklerin geri kazanılmasına izin verir, SFE, bileşiklerin karakterizasyonu için NMR veya GC-MS'ye bağlanabilir; laboratuvar ölçeğinden (> 1 g), pilota (kg), endüstriyel ölçeğe (ton), Yanıcı, toksik olmayan ve geri dönüştürülebilir çözücü (CO ₂ ve etanol) kullanır.	Yüksek enstrüman maliyeti, Süper kritik karbondioksitin düşük polaritesinden dolayı polar bileşiklere karşı zayıf seçicilik, Yüksek miktarda su içeren materyaller için uygun değildir.	(Khaw ve ark., 2017; Valadez Carmona ve ark., 2018; Al Jitan ve ark., 2018)
Ultrason destekli ekstraksiyon	Hızlı, termal olmayan ve verimli ekstraksiyon	Üretilen ısı, ısıya dayanıksız bileşiğe zarar verebilir, İyi bir ekstraksiyon için küçük partikül boyutu gereklidir.	(Roohinejad ve ark., 2017; Louie ve ark., 2020)

PEF teknolojisi, iki elektrot arasına yerleştirilmiş biyolojik bir materyale (bitki, hayvan veya mikrobiyal hücreler) birkaç milisaniyeden (ms) daha kısa tekrarlayan yüksek voltaj vurgularının uygulanmasını içeren termal olmayan bir yöntemdir. Bu işlem, hücre içi karotenoidlerin ekstraksiyonunu sağlayan ve "elektroporasyon" adı verilen sitoplazmik zarın geçirgenliğini artırmaktadır. Geçirgenlik, uygulanan elektrik alan kuvvetlerine bağlı olarak geçici (geri dönüşlü elektroporasyon) veya kalıcı (geri dönüşsüz elektroporasyon) olabilmektedir (Luengo ve ark., 2015). PEF, düşük enerji kullanımıyla karotenoidlerin termal olmayan ve verimli ekstraksiyonu açısından umut verici sonuçlar göstermiştir (Vito ve ark., 2008). PEF uygulamasının; katı gıdalarda ekstraksiyon, kurutma gibi gıda işleme aşamaları öncesinde gıdaya uygulanan işlemlerin hızını, verimini ve ürün kalitesini arttırmak için basamak olarak kullanılmıştır. Sıvı gıdaların pastörizasyonu ile ilgili günümüze kadar çok sayıda çalışma yapılmış olup meyve suyu gibi endüstriyel olarak da pek çok ticari ürün piyasada satışa sunulmuştur (Mohamed ve Eissa, 2012).

Plazzotta ve ark. (2021) şeftali posasından biyoaktif bileşiklerin geleneksel ısıtma işlemi (CTT) ve vurgulu elektrik alan (PEF) yardımıyla geri kazanılmasını konu alan çalışmada antioksidan bileşikler açısından zengin ekstraktlar dondurulmuş ve kurutulmuş şeftali posasından (PP) elde edilmiştir. CTT için işlem sıcaklığı 50 °C'dir. Dondurulmuş ve kurutulmuş PP'den elde edilen ekstraktlar, PEF uygulanarak 0.8 'den 10 kV/cm 'ye kadar alan şiddetinde ve vurgu sayılarının 30 'a kadar artırılması için, dondurulmuş ve kurutulmuş PP için sırasıyla 20 ve 70 kJ/kg'a kadar enerji değerlerine yol açarak ekstraksiyon uygulanmıştır. CTT ekstraksiyon etkinliği ile karşılaştırıldığında, PEF uygulamaları donmuş şeftali posasında, toplam flavonoid içeriği, toplam antosiyanin içeriği ve toplam C vitamini içeriği ile daha yüksek sonuçlar elde edilmiştir. Ayrıca PEF uygulama yoğunluğunun artmasıyla hem antosiyaninlerin hem de C vitamininin bozulmasının arttığı da bildirilmiştir. PEF işlemlerinin, benzer ekstraksiyon verimliliklerine ulaşan termal ekstraksiyon için gereken sürenin (40 dakika) çok daha kısa olan ekstraksiyon sürelerinde gerçekleştirildiği vurgulanmıştır. Bu nedenle, şeftali atığının değerlendirilmesi için endüstriyel bir işlem geliştirmede, PEF, ekstraksiyon süresinde önemli bir azalma meydana getirmiştir. Bununla birlikte, ekstrakte edilen biyoaktif bileşiklerin hızlı bir şekilde bozunmasını önlemek için proses uygun şekilde optimize

edilmelidir. Bu bağlamda, kurutma, atık hacimlerinin azaltılmasına ve soğuk zincir depolamasından kaçınılmasına izin verse de dondurma, şeftali posasında orijinal olarak bulunan biyoaktif bileşiklerin daha iyi korunduğu saptanmıştır.

Enzim destekli ekstraksiyon (EAE) yöntemlerinde gelişmiş ekstraksiyon verimi için hücre içi materyalleri açığa çıkarmak üzere hücre duvarlarının yapısal bütünlüğünü parçalayan hidrolitik enzimler kullanılır. Enzim destekli ekstraksiyon yöntemi ile bitki ürünlerinden elde edilen karotenoidlerin içeriği yüksek bir potansiyele sahip gibi görünmektedir ve ticari uygulamalar için ümit vericidir (Sowbhagya ve Chitra, 2010). EAE reaksiyon süresi, enzim türü ve konsantrasyonu, sıcaklık, pH değeri ve bitki materyalinin partikül boyutuna bağlıdır (Rosello Soto ve ark., 2016; Poojary ve ark., 2017). EAE yönteminde, selüloz ve pektinaz enzimleri, genellikle çözücü ekstraksiyonundan önce, bir ön işlem aşamasında kullanılmaktadır. Selüloz, bitki hücrelerinin birincil hücre duvarında bulunan selülozun 1,4--d-glikosidik bağlarını hidrolize etmektedir. Benzer şekilde, pektinaz, orta lamel ve birincil hücre duvarlarında bulunan pektik maddeleri ve pektini parçalamaktadır (Strati ve ark., 2015).

Çinar (2005), tarafından yapılan bir çalışmada, pektinaz ve selülozun farklı kombinasyonları kullanılarak patates, havuç ve portakal kabuğundan enzimatik olarak karotenoid pigmentleri ekstrakte edilmiştir. Ekstraksiyon süresinin ve enzim konsantrasyonunun renk etkinliği üzerine etkisi araştırılmıştır. Ekstraksiyon süresi uzatılarak düşük enzim konsantrasyonlarında aynı renk değerine ulaşılabildiği bildirilmiştir. Ultrason destekli enzimatik yöntem son yıllarda gıda proteinlerinin yapılarının ve özelliklerinin modifikasyonundaki uygulamasıyla ilgi odağı haline gelmiştir (Ozuna ve ark., 2015). Yüksek yoğunluklu ultrason, kavitasyon etkisine neden olan yüksek kesme ve mekanik enerji üretebilmekte ve kovalent bağların yok edilmesi yoluyla protein yapısında değişikliklere yol açabilmektedir (Zhou ve ark., 2016). Bu substratın çözünürlük ve hidroliz bölgelerinde artışa katkıda bulunarak, onları enzim için daha erişilebilir hale getirebilir. Bu nedenle, ultrasonik işlem ve enzimatik hidroliz, protein hidrolizatlarının ve polipeptitlerinin üretimi için ve özelliklerinin modifikasyonunda sinerjik bir güçlendirme oluşturabilmektedir (Chen ve ark., 2011; Vera ve ark., 2019).

Yeşil bir ekoteknolojik teknik olarak mikrodalga destekli ekstraksiyon (MAE) kullanılarak bitki matrisinden biyoaktif bileşiklerin ekstraksiyonu son yıllarda araştırmacıların ilgisini çekmektedir (Fu ve ark., 2020). MAE, bitki malzemelerinden çözücülere biyoaktif bileşiklerin çıkarılması için yüklü iyonların hareketi (iyonik iletim) ve dipollerin tersine çevrilmesi (dipol dönüşü) gibi iki enerji aktarımı mekanizmasını içermektedir (Routray ve Orsat, 2014). İyonların ve dipollerin hareketi, daha kısa bir zaman diliminde materyallerin ısıtılmasına neden olur ve bitki hücrelerinde basınç oluşumunu artırır, bu da bitki materyaline daha iyi solvent nüfuz etmesine izin vermektedir. (Routray ve Orsat, 2012). MAE, karotenoidlerin ekstraksiyonu için basit, hızlı ve ekonomik bir yöntemdir ve düşük miktarda solventle çok kısa ekstraksiyon süresi gerektirmektedir (Hiranvarachat ve Devahastin, 2014; Ho ve ark., 2015). MAE, çok çeşitli materyaller için basit ve ekonomik bir yöntemdir. Bununla birlikte, termal bozunma ve *cis-trans* izomerizasyonu göz ardı edilemez. Bu bağlamda, aralıklı radyasyonun, termal bozunmayı en aza indirerek karotenoidlerin daha yüksek geri kazanımı ve geliştirilmiş antioksidan aktiviteleri için etkili olduğu kanıtlanmıştır. Bu nedenle MAE prosedürü, çeşitli seviyelerde mikrodalga gücü, çözücü hacmi ve kesinti oranı ile daha da optimize edilebilmektedir.

Temel olarak gıda maddelerinin işlenmesinde kullanılan mikrodalga, 300 MHz-300 GHz frekans aralığı ile iyonize olmayan radyasyonlar sınıfına aittir (Zhi ve ark., 2017). Mikrodalga destekli ekstraksiyon, son yıllarda, özellikle tarımsal-endüstriyel faaliyetlerden üretilen yan ürünlerin geri dönüşümü için, aktif bileşiklerin gıdalardan ekstraksiyonunda artan bir kabul görmüştür (Ekezie ve ark., 2017; Zhi ve ark., 2017). Mikrodalga destekli ekstraksiyon, kuru veya solvent içermeyen mikrodalga destekli ekstraksiyon olarak adlandırılan bir yöntem olan solvent olmadan da gerçekleştirilebilir. Bu durumda, materyalde bulunan su çözücü görevi görmektedir ve hücre parçalanmasını kolaylaştırmaktadır (Costa, 2016). Solventsiz mikrodalga destekli ekstraksiyon, aromatik bitkilerden uçucu yağ ve antioksidanların ekstraksiyonu için kullanılmaktadır (Benmoussa, 2019). Yeşil çözücü olarak örnek verilecek olursa, keten tohumu yağı, havuç posasından karotenoidlerin ekstraksiyonu için çözücü olarak kullanılmıştır (Elik ve ark., 2020). Süper kritik sıvı ekstraksiyonu ve basınçlı sıvı ekstraksiyonunun aksine,

mikrodalga destekli ekstraksiyon nispeten daha hızlı olduğu ve ekstraksiyon süresini kısalttığı belirtilmiştir.

Süper kritik akışkan ekstraksiyonu, kritik noktanın üzerindeki sıcaklık ve basınçta sıvı ve gaz benzeri özellikler sergileyen süper kritik akışkanları kullanır (Padma Ishwarya ve Nisha, 2021). Nispeten düşük viskozite ve yüksek yayılma özelliğine sahip süperkritik sıvılar böylece ekstraksiyon süresini azaltmak, difüzyon ve kütle transferini arttırmak için uygun sıvılardır (Uwineza ve Waskiewicz, 2020). Süper kritik akışkanlar, sıvı ile benzer yoğunluğa sahiptir ve bu nedenle benzer çözme gücüne sahiptir (Padma Ishwarya ve Nisha, 2021). Süper kritik karbondioksit, gıda işlemede en yaygın olarak kullanılan süper kritik sıvıdır. Karbondioksit; ucuz olması, saf halde bulunabilmesi ve zararsız olması gibi çeşitli avantajlar sunmaktadır. Düşük sıcaklıkta işleme, ısıya duyarlı bileşiklerin korunmasını, üstün kaliteyi ve geri kazanılan bileşiklerin daha iyi işlevselliğini sağlamaktadır (Khaw ve ark., 2017). Bununla birlikte, süper kritik akışkan ekstraksiyonunda 70 °C'ye kadar sıcaklık uygulanabilmektedir. Süper kritik akışkan ekstraksiyonunda yüksek sıcaklık kullanımı, solvent (çözücü) yoğunluğunu ve çözünme gücünü azaltırken, sıvı buhar basıncını artırır ve bu nedenle ekstraksiyon verimini artırmaktadır (Uwineza ve Wakiewicz, 2020). Bununla birlikte, azaltılmış çözücü yoğunluğu çözünürlüğü olumsuz etkilemektedir (Cvjetko Bubalo ve ark., 2018). Çözünür maddenin çözünürlüğünün "geçiş noktası" olarak bilinen çözücü yoğunluğuna bağlı olmadığı nokta, optimum ekstraksiyonu sağlamak için en önemli parametredir (Espinosa Pardo ve ark., 2017; Uwineza ve Wakiewicz, 2020). Isıya dayanıklı bileşiklerin ekstraksiyonu için 35 ile 60 °C arasında değişen sıcaklığın ve 400 bar basıncın uygun olduğu bildirilmiştir (Uwineza ve Wakiewicz, 2020). Bununla birlikte, ekstraksiyon prosedürlerini optimize etmek için bilimsel doğrulama tavsiye edilmektedir.

Su, etanol ve metanol gibi yardımcı çözücülerin eklenmesi, karbondioksitin çözündürme gücünü arttırmakta ve daha polar bileşiklerin ekstraksiyonuna izin vermektedir. Ayrıca, süper kritik sıvı ekstraksiyonunda yardımcı çözücü olarak etanolün kullanılması, metanol, heksan ve kloroform gibi toksik çözücülere bir alternatif olarak önerilebilir. Süper kritik sıvı ekstraksiyonunun önemli bir sınırlaması, polar bileşiklere karşı seçiciliğin yetersizliğidir (Da Porto ve ark., 2014). Süperkritik Akışkan Ekstraksiyonu (SFE) termal olarak kullanılarak, bir katı ya da sıvı matristen,

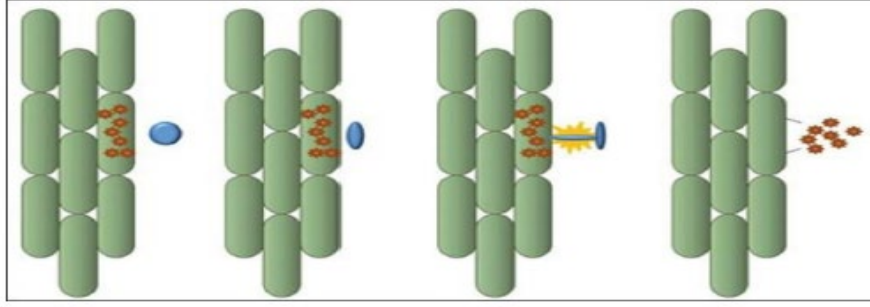
karotenoidlerin bileşikler olarak çıkarılması için etkili bir yöntemdir. Süper kritik (SC-CO₂) kullanımı, geleneksel yöntemlere göre birçok avantaj sunmaktadır. SC-CO₂'nin daha yüksek difüzyon katsayısı ve daha düşük viskozitesi, karmaşık matrislerin gözeneklerine hızlı bir şekilde nüfuz etmesine izin vererek ekstraksiyon verimliliğini arttırmaktadır. Ek olarak, basınçsızlaştırma işlemi CO₂'yi kolayca ayırdığından, SFE kullanıldıktan sonra elde edilen ekstraktlar oldukça konsantredir. Böylece nihai üründe hiçbir toksik organik çözücü izi bırakmaz. Ayrıca, süper kritik (SC-CO₂) gaz akışı geri dönüştürülebildiğinden ekstraksiyonu çevre dostu (yeşil ekstraksiyon) bir proses olarak kabul edilir. Hızlı basınçsızlaştırma işlemi kullanılarak hücre bozulması, SFE ekipmanında gerçekleştirilebilir, bu da zaman ve iş gücü gereksinimlerinin azaltılmasıyla ekstraksiyonu iyileştirmektedir (Uquiche ve ark., 2016).

Hasbay ve ark., (2007) dört bağımsız değişkenli üç seviyeli Box-Behnken deneme deseni kullanılan çalışmada, basınç (20-60MPa), sıcaklık (40-60°C), etanol konsantrasyonu (%14–20wt) ve ekstraksiyon süresi (0–40dk) parametreleri oluşturmuştur. Elma ve şeftali posalarından subkritik (karbondioksit+etanol) ekstraksiyonu ve polifenol ekstraktların antioksidan aktivitelerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Elma ve şeftali posası için optimum basınç ve sıcaklık sırası ile; 54.6-57 MPa, 55.7-58.4 °C ve 50.6-51 MPa, 50.9-52.3°C belirlenmiştir ayrıca optimum etanol konsantrasyonu ve ekstraksiyon süresi her iki posa için de %20 etanol ve 40 dakika olarak bulunmuştur. Bununla birlikte şeftali posasından subkritik ekstraksiyon ile elde edilen, toplam fenolik içerik ,antiradikal verimlilik elma posasından daha düşük olduğu belirlenmiştir. Şeftalide bulunan ve elmadan büyük ölçüde farklı olan polifenoller arasında bulunan antosiyaninlerin bu ekstraksiyon yöntemi ile daha düşük çözünürlük göstermesinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Bu nedenle subkritik ekstraksiyon, polifenolleri elma ve şeftali posalarından, özellikle elma posasından ekstraksiyon için daha uygun bir yöntem olduğu düşünülmektedir.

Ultrason ise insanın işitebileceğinin ötesinde ses dalgalarının özel bir türüdür. Ultrason uygulamalarının yapıldığı frekans değerleri 20 kHz ile 100 kHz arasındadır (Yılmaz, 2011). Diğer dalgalar gibi sıkışma ve genişleme yaparak bir ortamdan geçebilmektedir. Bu süreci üretim, büyüme ve kabarcıkların çöküşü anlamına gelen kavitasyon kabarcıkları oluşturmaktadır (Şekil 2.3). Kabarcığın içindeki enerjinin büyük

miktarı, hareket enerjisinden ısı enerjisine dönüşmektedir (Azmir ve ark., 2013). Ultrason destekli ekstraksiyon (UAE), klasik ekstraksiyon tekniklerinin gelişmiş biçimlerinden biridir ve çarpışmada daha yüksek sıcaklık ve basınçla kavitasyon kabarcıkları oluşturmak için ultrasonik dalgaları kullanmaktadır. Bitki matrisindeki bileşenlerden böylece daha hızlı ve verimli ekstraksiyon sağlanmaktadır (Chemat ve ark., 2017). Ultrason kararlı ve geçici iki tür kavitasyon kabarcığı oluşturmaktadır. Kararlı durumdaki kabarcıklar büyümeye devam ederken, geçici kabarcıklar çökene kadar küçülerek büyük miktarda ısı ve basınç açığa çıkarmaktadır ve oluşan kavitasyon kabarcıkları komponent ayrışmasına neden olmaktadır (Pedros Garrido ve ark., 2017). Ultrasonik enerjinin neden olduğu kavitasyon kabarcıklarının kararsız olanları, çözücü ortamında çok sayıda patlama geçirmektedirler (Mason ve Peters, 2002). Bu patlamalar, bir mikroskobik türbülans oluşturarak sıcaklık ve basınç değişimi meydana getirmektedir. Bu durum, hücre zarında incelmeye ve hücrenin yapısında bozulmaya neden olmaktadır. Yapısı bozulan hücreye daha fazla çözücü nüfuz etmektedir ve çözücü içinde hedef bileşiklerin kütle transferi artmaktadır (Valachovic ve ark., 2001; Shirsatha ve ark., 2012).

Umut verici ve çevreci bir teknoloji olan ultrason tekniği, ekstraksiyon, kapsülleme, filtreleme ve paketlenme gibi çeşitli gıda işleme teknikleriyle tamamlanmış ve geliştirilmiştir (Bermudez Aguirre, 2017). Ultrasonik ekstraksiyon, hızlı işlenmesi, düşük maliyeti, çevre dostu, daha yüksek verimi, kolay kullanımı nedeniyle ekstraksiyon uygulamasına başarıyla giren ve endüstriyel ihtiyaçları karşılamak için satışa sunulabilen yeşil ve yeni bir tekniktir (Chemat ve ark., 2017). Ultrasonikasyon sırasında kavitasyon işlemi, bitki materyallerinin hücre duvarının parçalanmasına katkıda bulunacak ve dolayısıyla hücre yapısının neden olduğu kütle transferinin sınırlandırılmasını zayıflatacaktır (Yang ve ark., 2017). Öte yandan, sonikasyon sırasında bitki materyallerinin yüzeyi etrafındaki şiddetli türbülans, katının çözücü ile karıştırılmasını kolaylaştıracak, difüzyon sınır katmanlarını azaltacak ve özütlerin çözücü içindeki kütle ve ısı transferini artıracaktır (Tao ve Sun, 2015; Fu ve ark., 2020).



Şekil 2.3. Ultrason destekli ekstraksiyonun etki mekanizması (Shirsatha ve ark., 2012)

Kavitasyon sonucunda gıdalarda kimyasal ve fiziksel değişimlerin görülmesi, ultrason teknolojisinin gıda endüstrisinde kullanılmasına olanak sağlamıştır. Son yıllarda kalite kontrol, ekstraksiyon, et işleme, kristalizasyon, sterilizasyon, fermantasyon gibi gıda uygulamalarında kullanılmaktadır. Kullanılan alana göre ultrason uygulamaları iki kategoriye ayrılmıştır. Yüksek frekanslı ultrason (MHz aralığında), kalite kontrol için çok küçük güç seviyelerinde; düşük frekanslı ultrason (20-40 kHz), yoğunlaştırma, kesme gibi gıda işleme uygulamaları için yüksek güç seviyelerinde kullanılmaktadır (Leonelli ve Mason., 2010; Ashokkumar, 2015; Ojha ve ark., 2017).

Yüksek şiddetli ultrason, düşük frekansta (20-100 kHz) ve yüksek güç düzeyinde ($>1 \text{ W/cm}^2$) uygulanmaktadır. Yüksek şiddetli ultrasonun temel amacı, üründe veya uygulanan işlemde değişimler meydana getirmektir. Kavitasyon ile gıdalarda mikrobiyal inaktivasyonu sağlamaktadır (Piyasena ve ark, 2003). Ayrıca gıda endüstrisinde emülsifikasyon, enzim inaktivasyonu, kristalizasyon, sıvı gıdaları gazdan arındırma, ısı ve kütle transferi amacıyla kullanım alanı sağlamaktadır (İcier ve Baysal, 2012). Düşük şiddetli ultrason ise yüksek frekansta ve düşük güç düzeyinde ($<1 \text{ W/cm}^2$) kullanılmaktadır (Patist ve Bates, 2008). Ultrasonik ses dalgaları, hız ve frekans gibi özellikleri bir ortamdan geçerken birtakım değişikliklere maruz kalmaktadırlar. Böylece dalganın geçtiği ortamın özelliklerini belirlemek amacıyla düşük şiddetli ultrason dalgaları kullanılmaktadır (Carcel ve ark., 2012). Gıdanın kompozisyonu, partikül büyüklüğü, faz ve partikül değişikliği dağılımını ölçmede yararlanır. Ayrıca düşük şiddetli ultrason uygulamaları; ultrason destekli ekstraksiyon, kristalizasyon, gıdaların yüzey temizliğini sağlamak, filtrasyon, emülsifikasyon, kurutma ve dondurma tekniklerinde uygulanmaktadır.

Dalgalar, düşük ve yüksek yoğunluklu ultrasonlardan ayırt edilir (McClements, 1995). Düşük yoğunluklu ultrason tahribatsızdır ve gıda endüstrisinde gıda kristalizasyonu ve emülsifiye stabilite gibi fiziksel ve kimyasal özellikleri analiz etmek için yaygın olarak kullanılmaktadır (Awad ve ark., 2012). Yüksek yoğunluklu ultrason, raf ömrünü uzatmak, emülsifikasyonu hızlandırmak ve enzim aktivitesini baskılamak gibi uygulamalar dahil olmak üzere sıvı gıdaların işlenmesinde kullanılmaktadır (Baker ve ark., 2001).

Ultrason kullanımı; polisakkarit, uçucu yağ, proteinler, peptitler, boyalar ve pigmentler, ticari öneme sahip biyolojik olarak aktif moleküller de dahil olmak üzere çeşitli moleküller için yeni, temiz, yeşil bir ekstraksiyon yöntemidir. Ekstrakt kalitesi ve verimi, ultrasonik güç, yoğunluk, reaksiyon kabı tipi, ekstraksiyon sıcaklığı ve süresi, çözücü pH değeri, konsantrasyonu ve hacmi gibi çeşitli faktörlerinden önemli ölçüde etkilenmektedir. Bu nedenle, üstün kaliteli ekstrakt elde etmek için önemli proses faktörlerinin belirlenmesi ve seviyelerinin optimizasyonu ön koşuldur (Huang ve ark., 2008, Pandey ve ark., 2018).

Ultrason destekli yöntemler, doğal bitkilerden biyoaktif bileşiklerin ekstraksiyonu için geleneksel yöntemlerden daha etkilidir ve geleneksel ekstraksiyon tekniklerine ucuz, basit ve verimli bir alternatif olması nedeniyle endüstriyel olarak çok popülerdir (Vinatoru ve ark., 2017). Geleneksel yöntemlere göre ekstraksiyon için gereken sıcaklık, zaman ve basınç ihtiyacını azaltmaktadır (Chua, 2013). Ekstraksiyon verimi ve kinetiği, ultrasonik frekans veya güç, ekstraksiyon süresi, ekstraksiyon solventinin tipi ve konsantrasyonundan etkilenmektedir ve ekstraksiyon sürecinde anahtar faktörler olarak kabul edilmektedirler (Chemat ve ark., 2017).

Geleneksel teknolojilerle karşılaştırıldığında, sulu ortamda ekstraksiyonu kuvvetlendirme, düşük enerji tüketimi ve ekstrakt kalitesinde iyileşme sağlandığı görülmüştür. Ayrıca mikrodalga, süper kritik sıvı tekniği gibi diğer ekstraksiyon teknolojisi ile birlikte uygulanan ultrason destekli ekstraksiyonda daha fazla verim alınmıştır (Rombaut ve ark., 2014).

Bir çalışmada, iki unlu mamulde doğal bir renklendirici olarak kullanılmak üzere mandalina epikarpından toplam karotenoidlerin ultrason destekli ekstraksiyon koşulları

optimize edilmiştir. Yağda çözünen pigmentlerin ultrason destekli ekstraksiyonunu maksimize etmek için merkezi karma tasarıma sahip yanıt yüzey metodu kullanılmıştır. Ultrasonik ekstraksiyon işlemi Ordenez Santos ve ark. (2015), tarafından açıklanan metodoloji izlenerek gerçekleştirilmiştir. Mandalina epikarp unu örnekleri cam tüplerde 4 mL ayçiçek yağı ile karıştırılmış ve 42 kHz'de 240 W giriş gücünde çalışan bir ultrasonik cihazda işleme alınmıştır. Ekstraksiyon parametreleri; sıcaklık (40-60°C), süre (40-60dk), katı/çözücü oranı (0.0004-0.0012 g/mL) bağımsız değişkenleri kullanılarak optimize edilmiştir. Karotenoid ekstraksiyonunun optimizasyonu, 0.0004 g/mL katı/sıvı oranı ile 60 dakika süreyle 60°C sıcaklıkta gerçekleştirildiğinde, toplam karotenoidlerin maksimum ekstraksiyonu 140.70 ± 2.66 mg/100 g β -karoten olarak elde edilmiştir. Mandalina epikarpından elde edilen karotenoid lipid özleri, kek ve ekmek gibi unlu mamullerde tartrazin kullanımını azaltma potansiyeline sahip doğal bir renklendirici katkı maddesi olanağı sunmaktadır (Ordenez Santos ve ark., 2020).

Bir diğer çalışmada, zeytin prinasından yüksek antioksidan aktiviteye sahip fenolik bileşiklerin ekstraksiyonu için en uygun UAE koşullarını özetlemektedir. Güç, zaman ve numune-çözücü oranı parametreleri için yanıt yüzey metodolojisi (RSM) kullanılarak optimum koşullar geliştirilmiştir. Optimum güç aralıkları (150-250 W), süre (45-75 dk) ve numune-çözücü oranı (1-3 g/100 mL) ön deneylere dayanarak belirlenmiştir. Ultrason işlemi olmadan aynı optimal zamanda ve numune/çözücü oranında bir kontrol ekstraksiyonu gerçekleştirilmiştir. Sıcaklık, ultrasonik banyoda 40 °C'de sabit tutulmuştur. Yüksek antioksidan aktiviteye sahip fenolik bileşiklerin ekstraksiyonu için optimal koşullar, 75 dakika, 250 W güç, 2 g kurutulmuş prina/100 mL su olarak belirlenmiştir. UAE, suyun ekstraksiyon verimliliğini artırmakta ve yüksek seviyelerde fenolik bileşikler ve güçlü antioksidan aktiviteye sahip ekstreler vermekte olduğunu kanıtlamıştır (Goldsmitha ve ark., 2018).

Başka bir çalışmada ise ultrason uygulamasının şeftali suyunun fiziksel özellikleri ve stabilitesi üzerindeki etkisi değerlendirilmiştir. Standardizasyonu ve tekrarlanabilirliği garanti etmek için, şeftali suyunu elde etmek için ticari pastörize edilmiş şeftali posası (DeMarchi, Brezilya) kullanılmıştır. İşlenmemiş ve ultrasonik işlenmiş şeftali suyu örneklerinin mikro yapıları incelenmiş ve uygulanan parametrelere göre değerlendirmeleri yapılmıştır. Örnekler, 1000 W nominal güce sahip bir ultrasonik prob

kullanılarak beş işlem süresinde (0, 3, 6, 10 ve 15 dakika), 20 kHz frekans ve 1.26 cm² titanyum uç ile işlenmiştir. Ekipman ultrasonik yoğunluğu ve hacimsel enerji sırasıyla; 793.65 olan W/cm² ve 6.67 W/mL. İşlenmemiş ve işlenmiş numuneler ultrasonik işleminden hemen sonra ve 21 günlük depolama sırasında karşılaştırılmıştır. 21 gün boyunca 25 °C'de saklanan 25 mL'lik dereceli silindirler kullanılarak değerlendirilmiş ve değerlendirme, ilk 6 gün boyunca her gün ve sonraki 15 gün boyunca beş kez yapılmıştır. Elde edilen sonuçlar, ultrason teknolojisinin şeftali suyunun fiziksel özelliklerini iyileştirmek, tortulaşmaya karşı stabiliteyi ve duyu özellikleri artırmak, hidrokoloid gibi katkı maddelerinin eklenmesini azaltarak renginde ihmal edilebilir değişikliklerle kullanılabileceğini göstermiştir. Sonuç olarak, ultrason teknolojisinin meyve suyu özelliklerini ve stabilitesini artırmak, mikro yapısındaki değişiklikler ile fiziksel özelliklerini ve stabilitesini iyileştirmek için güçlü bir araç olduğu kanıtlanmıştır (Rojas ve ark., 2016).

Baltacıoğlu ve ark. (2019), şeftali posasından fenolik maddelerin ekstraksiyonu üzerine üç farklı yöntemin etkisi araştırılmıştır ve toplam fenolik madde (TFM) miktarları ile antioksidan aktivite değerleri karşılaştırılmıştır. Şeftali posasından fenolik bileşikler %80'lik metanol (%1 HCl içeren) çözeltisi kullanılarak, geleneksel yöntemle (30, 60, 120 ve 240 dk); ultrason destekli ekstraksiyonla (24 kHz, 400 W, %60, 80 ve 100 genlik; 10, 20 ve 30 dk); mikrodalga destekli ekstraksiyonla (360, 600 ve 900 W; 30, 60 ve 90 sn) ekstraksiyon uygulanmıştır. Dört saat sonunda geleneksel yöntem ile TFM, 1834.88±84.55 mg GAE/kg yaş ağırlık (YA) olarak ölçülmüştür. Ultrason destekli ekstraksiyonda TFM, %100 genlikte 10 dakika için 1817.21±36.95 mg GAE/kg YA olarak belirlenmiştir. Mikrodalga destekli ekstraksiyonda TFM, 900 W ve 90 s için 2802.464±61.49 mg GAE/kg YA olarak ölçülmüştür. Antioksidan aktivite değeri, geleneksel ekstraksiyon için 37.54±0.08 mg/ml, mikrodalga destekli ekstraksiyon için 63.17±0.16 mg/ml ve ultrason destekli ekstraksiyon için 73.72±0.13 mg/ml olarak belirlenmiştir. Bulunan sonuçlar incelendiğinde, sağlık üzerine birçok olumlu etkileri bulunan antimikrobiyal ve antioksidatif özellikleri ile bilinen fenolik bileşiklerin elde edilmesi için geleneksel yöntemle alternatif olarak ultrason ve mikrodalga gibi teknikler tercih edilmektedir. Her iki yöntemin de daha kısa sürelerde daha fazla fenolik bileşik elde edilmesini sağladığı için avantajlı olduğu düşünülmektedir.

Ordenez Santos ve ark. (2015) ayçiçek yağı ile birlikte şeftali hurması (*Bactris gasipaes*) yan ürünlerinden toplam karotenoidlerin ekstraksiyonunu incelemiştir. İşlem değişkenlerinin ultrason destekli ekstraksiyon (UAE) üzerindeki etkisini araştırmak için yanıt yüzey metodolojisi kullanılmıştır. Ultrasonik yoğunluk (764–1528, W/m²), sıcaklık (25–45°C) ve ekstraksiyon süresi (10–30 dk) dahil olmak üzere üç bağımsız değişken ile değerlendirilmiştir. Elde edilen verilere göre; 1528 W/m² ultrasonik yoğunluk, 35 °C ekstraksiyon sıcaklığı ve 30 dakikalık ekstraksiyon süresi ile optimum nokta belirlenmiştir. Bu koşullarda, toplam karotenoidlerin maksimum ekstraksiyonu 163.47 mg/100 g olarak belirlenmiştir. Ekstraksiyon değişkenleri özellikle ekstraksiyon süresi ve sıcaklığı, şeftali hurması meyve kabuğundan elde edilen toplam karotenoidlerin oranını önemli ölçüde etkilediği ortaya çıkmıştır.

2.5. Doğal Renk Maddesi Eldesi

Rengin, herhangi bir ürünün pazarlama başarısında önemli bir rol oynadığı bilinmektedir ve genellikle tüketicilerin tercihlerini ve yeme isteklerini olumlu yönde etkilemektedir (Carocho ve ark., 2015; Lopez ve ark., 2018). Kimya açısından bakıldığında, bu görsel özellik, ışık enerjisinin yakalanmasında elektron sisteminin delokalizasyonuna neden olan ve karakteristik gıda rengiyle sonuçlanan konjuge çift bağ sisteminin spesifik moleküler yapısı ile ilgilidir (Simon ve ark., 2017).

Karmaşık aromatik yapıya sahip sentetik boyalar; kauçuk, kağıt, tekstil, plastik, gıda ve kozmetik gibi endüstrilerde ürünleri renklendirmek amacıyla kullanılmaktadırlar (Yang ve ark., 2011). Bu boya ve boya ürünlerinin insanda kanserojen ya da kısmi mutajenik etki gösterdiği ayrıca yapay boyaların flora ve fauna için tehlikeli olduklarını göstermektedir (Şentürk ve ark., 2010). Sentetik renklendiriciler, doğal muadillerine kıyasla daha yüksek stabilite, renklendirme potansiyeli ve nispeten düşük maliyeti nedeniyle gıda endüstrisi tarafından tercih edilmektedir (Albuquerque ve ark., 2020). Bununla birlikte, çok sayıda düzenleme ve tüketici güvenliği endişeleri nedeniyle, sentetik pigmentler yerini çevre dostu bir ürün olan doğal pigmentler almaktadır (Dikshit ve Tallapragada, 2018; Muthusamy ve ark., 2020). Ayrıca, potansiyel toksisite ve diğer sağlık bozukluklarından yoksun doğal biyoaktif bileşiklere yönelik artan bir talep oluşmuştur (Pinela ve ark., 2019; Albuquerque ve ark., 2020). Örneğin, 50 mg'dan fazla

sentetik renklendirici tüketimi çocuklarda hiperkinezi, alerjik patolojiler ve nörolojik bozukluklara yol açmaktadır (Muthusamy ve ark., 2020). Doğal renklendiricilerin, antioksidan, antikanser, anti-obezite ve nöroprotektif aktiviteler gibi güçlü biyolojik etkiler sergileyen ikincil metabolitleri sayesinde daha güvenli olma, yaşam kalitesini iyileştirme gibi müteakip faydaları ile çok daha etkili olduğu ortaya çıkmaktadır (Rodriguez Amaya, 2016). Bu nedenle, lutein, β -karoten gibi doğal etiketli bileşenlere yönelik istek, modern gıda endüstrilerini zararlı sentetik analogların yerini alacak etkili doğal alternatifleri keşfetmeye ve sürdürülebilir ekstraksiyon teknikleri geliştirmeye zorlamaktadır (Steiner ve ark., 2018).

Ticari olarak gıda ve farmasötik amaçlar için kullanılan doğal renklendiricilerin çoğu, fitokimyasallar gibi sadece karakteristik renk vermekle kalmayıp aynı zamanda potansiyel sağlığı geliştiriciler olarak da bilinmektedirler. Antosiyaninler, betalainler, klorofil ve karotenoidler doğada bol miktarda bulunan dört önemli bitki pigmenti sınıfındadırlar. Antosiyaninler ve betalainler, hücre özünde çözünen suda çözünür pigmentlerdir, karotenoidler ve klorofiller ise bitki protoplastında yağda çözünen maddelerdir. Bu biyolojik olarak parçalanabilen, çevreye uyumlu ve yenilenebilir pigment kaynakları, büyük ölçüde yeşil kimya altında incelenmektedir (Muthusamy ve ark., 2020). Ayrıca, bu pigmentler yapıları ve metabolik içerik bakımından farklılık göstermektedirler ve çoğu zaman birçok alerjik reaksiyon ve olumsuz sağlık etkileri ile ilişkili bulunan sentetik gıda renklendiricilerine mükemmel alternatiflerdir. Birçok deniz, mikroalg ve fitoplanktonunun da zengin klorofil, karotenoid ve kırmızı veya mavi fikobiliprotein kaynakları olduğu bulunmaktadır. Bununla birlikte, birçok durumda, gıda renklendirmesinde kullanılan doğal renklendiriciler, daha düşük stabilite ve daha yüksek maliyet gibi zorluklar ortaya çıkarmaktadır. Sonuç olarak, daha kararlı ve yoğun bitki bazlı doğal renklendiricilerin geliştirilmesi için yeni pigment kaynakları olarak izin verilen veya henüz onaylanacak olan bilinmeyen egzotik bitki türlerinin aranmasında önemli bir gelişme sağlanmaktadır (Berland ve ark., 2019).

2.6. Yanıt Yüzey Metodolojisi

Yanıt yüzey metodolojisi (RSM), solvent konsantrasyonu ve ekstraksiyon süresi gibi birkaç bağımsız değişkenin bir veya daha fazla bağımlı (yanıt) değişken üzerindeki etkisini tanımlayan deneysel modellerin analizinde kullanılan istatistiksel bir deneysel protokoldür.

RSM, proses değişkenlerinin deneysel uzayını araştırmak amacıyla deneysel stratejileri, sistemin yanıtı ve üzerinde etkili olan bağımsız değişkenler arasındaki ilişkinin belirlenmesi, kullanılan empirik modelleme tekniklerini ve proses değişkenlerinin sistemin yanıtında istenilen etkiyi gösterdiği seviyelerinin bulunması için kullanılan optimizasyon tekniklerini içermektedir. Böylece, denemelerin dizayn edilmesi, optimizasyon, model geliştirilmesi (regresyon analizi) ve varyans analizi (ANOVA) RSM'in önemli kısımlarını oluşturmaktadır (Eren, 2004).

RSM, bitkilerdeki polifenollerin, polisakkaritlerin, proteinlerin ekstraksiyonunun optimize edilmesinde başarıyla kullanılmıştır ve ekstrak en yüksek biyolojik aktivite ile ilişkilendirilmiştir (Amado ve ark., 2014; Yang ve ark., 2015). Geleneksel ve diğer modern ekstraksiyon teknikleriyle karşılaştırıldığında, ultrason destekli ekstraksiyon (UAE) ekstraksiyon süresini, ekstraksiyon sıcaklığını, enerji girişini ve organik çözücülerin tüketimini azaltır ve kimyasal kinetiği, çözünürlüğü ve deneysel tekrarlanabilirliği artırmaktadır (Vilkhu ve ark., 2008).

Ultrasonik ekstraksiyon koşulları yanıt yüzey metodolojisi (RSM) ile birleştirilirse, bu süreç, bir çalışma matrisinde maksimum karotenoid pigment ekstraksiyonu elde etmek için optimize edilebilmektedir (Parra Campos ve Ordonez Santos, 2019). Öte yandan bu tür yeşil ekstraksiyon, üretimin tüm aşamalarında atıkları azaltan daha ekolojik ve sürdürülebilir tarımsal/endüstriyel süreçler tasarlama ihtiyacını öneren Gıda ve Tarım Örgütü (FAO) tarafından belirtilen küresel yönergelere katkıda bulunabilmektedir (Zuin ve ark., 2020). Ayrıca, meyve kalıntıları söz konusu olduğunda bunlar dünya çapında gıda kaybını ve israfı azaltmayı amaçlayan Birleşmiş Milletler tarafından bildirilen Sürdürülebilir Kalkınma Hedeflerine (SDGs) uygun yöntemlerdir (Zuin ve ark., 2020).

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. Materyal

Tez kapsamında kullanılan şeftali posası ve enzim preparatı Dimes Gıda San. ve Tic. A.Ş'den (TOKAT) temin edilmiştir ve çalışma kapsamında temin edilen şeftali posaları, Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Mühendislik ve Mimarlık Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü laboratuvarlarında ekstraksiyon aşamasına kadar dondurularak -18°C'de muhafaza edilmiştir. Ekstraksiyon öncesinde ise buzdolabı koşullarında çözündürülerek kullanılmıştır.

Enzimatik ekstraksiyon amacıyla Pektinex Ultra Color (Novozymes-Danimarka) enzim preparatı kullanılmıştır. Tez kapsamında kullanılan enzim pektin liyaz ve poligalakturanaz aktivitesine sahiptir ve aktivitesi 7700 PECTU/ml'dir. Ekstraksiyon aşamasına kadar buzdolabı koşullarında muhafaza edilmiştir.

3.2. Yöntem

Şeftali posası dokusunu parçalamak için şeftali atığının sulu bir enzim çözeltisi ile işlenmesi, katı tortunun, biyoaktif bileşikler içeren sulu çözeltiden ayrılması, enzimin inaktivasyonu işlemlerine dayanmaktadır. Öncelikle, 1-3 g örnek 7 ml ekstraksiyon solventi (pektinaz; %0-10) ile karıştırılarak ve ultra turraks ile 3 dk homojenize edilmiştir. Ultrasonik banyoda 37 kHz (Elma S 100 H) seçilen sıcaklık değişkenleri (20-60°C) ve farklı süreler (10-60 dk) içerisinde enzimatik ekstraksiyon işlemine tabi tutulmuştur. Enzim inaktivasyonu amacıyla tüm örnekler 90°C'deki su banyosunda enzim inaktivasyonu amacıyla 3 dk tutulmuş ve daha sonra buz banyosunda soğutulmuştur.

Örneklerin karotenoid ekstraksiyon koşulları, Cevap Yüzey Yöntemi (RSM) kullanılarak "Box Behnken" deneme planı seçilerek optimize edilmiştir. Elde edilen optimizasyon modelleri istatistiksel olarak değerlendirilerek, optimum işlem koşulları belirlenmiştir. Faktörler ile yanıtlar arasındaki en uygun yanıt fonksiyonuna ulaşan model seçilmiştir. Bu amaçla gerekli deneysel veriler oluşturulmuştur. Ekstraksiyon koşullarının optimizasyonu için 29 deneysel noktadan oluşan ve dört değişken ile oluşturulan istatistiksel tasarım kullanılmıştır.

Ekstraksiyon uygulamaları 37 kHz frekansta çalışan ultrasonik banyo (Elmasonic, S100H) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla ekstraksiyon koşullarının optimizasyonunda örnek miktarı (1-3 g), enzim miktarı (%0-10), sıcaklık (20-60°C) ve süre (10-60 dk) bağımsız değişkenleri kullanılarak optimize edilmiştir. Cevap seçimi ise maksimum toplam karotenoid içeriği ve maksimum b* (sarılık) renk değerine göre belirlenmiştir.

Optimizasyon için deneysel tasarımda kullanılan parametreler (bağımsız değişkenler) ve bu parametrelerin seviyeleri literatür verileri kullanılarak belirlenmiştir. İncelenen değişkenler ve seviyeleri Tablo 3.1’de verilmiştir.

Tablo 3.1. Ekstraksiyon koşullarının optimizasyonunda kullanılan parametreler ve seviyeleri

Faktörler	Bağımsız Değişkenler	Değişken seviyeleri		
		-1	0	+1
x_1	Örnek miktarı (g)	1	2	3
x_2	Enzim miktarı (%)	0	5	10
x_3	Sıcaklık (°C)	20	40	60
x_4	Süre (dk)	10	35	60

Elde edilen ekstraktların ısıtıl işlem sonrası limonatada ortaya çıkan renk kayıplarının önlenmesi amacıyla doğal renk maddesi olarak kullanılıp/kullanılamayacağı ve kullanılması durumunda olası kullanım oranlarının belirlenmesi çalışmaları da tez kapsamında yürütülmüştür. Bu aşamada biri kontrol (ekstrakt içermeyen örnek) grubu örnek olmak üzere 4 farklı konsantrasyonda ekstrakt içerecek şekilde limonata hazırlanarak uygun koşullarda pastörizasyonu (95-100°C ve 5dk) yapılmıştır (Ermiş ve ark., 2019). Sonrasında “Gıda denemeleri analiz yöntemleri” başlığında verilen ve optimizasyon basamağında kullanılan analiz yöntemleriyle genel kalite özelliklerinin yanında fonksiyonel özellikleri de belirlenmiştir. Limonatalara ilave edilecek olan ekstrakt konsantrasyonları ön denemelerle belirlenmiştir.

3.3. Analiz Yöntemleri

3.3.1. Optimizasyon basamağında yürütülen analizler

Toplam Karotenoid Tayini: Uygulanan yöntemlerin şeftali posasındaki toplam karotenoid içeriklerinde ortaya çıkan değişimlerin belirlenmesi Lee ve Castle (2001)'in tanımladığı spektrofotometrik yöntem kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla 15 ml ekstrakt 30 ml ekstraksiyon solventi (hegzan/aseton/etanol; 50/25/25 v/v) ile karıştırılmış ve ultraturaks ile 4. hız konumunda 30 sn süreyle homojenize ve ardından santrifüj (4000 RPM, 5 °C, 10 dk) edilmiştir. Sonrasında üst faz alınarak 450 nm'de absorbans değerleri belirlenerek ve molar absorpsiyon katsayısı ($E_{1\%}^{1\text{cm}}$; $E_{1\text{cm}}=2505$) dikkate alınarak karotenoid içeriği ppm β -karoten cinsinden aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır.

$$c = (a / E * b) * 1000 \quad (3.1.)$$

c : birim konsantrasyon (w/v)

a : absorbans değeri

E : molar absorpsiyon katsayısı, 2505

b : birim ışık yolu uzunluğu, 1cm

Renk Tayini: Örneklerin rengi, Chromameter model renk ölçme (CR-300 model) cihazı beyaz ve siyah standart bir plakada kalibre edildikten sonra Hunter renk ölçüm parametreleri ile b^* (sarı/mavi) değeri üç farklı noktada ölçülerek belirlenmiştir (Anonim, 1991). Optimizasyon aşamasında örneklerle ait b^* renk değeri kullanılmıştır. Çalışmanın kalan kısmında diğer renk parametrelerine ait veriler de değerlendirilmiştir.

Karotenoid Dağılımı: Shimadzu 20 serisi, HPLC-UV cihazı ile C8 kolon kullanılarak (Tübitak-MAM, D.05.G402, İşletme içi Metot-HPLC UV) belirlenen optimum noktalarda yapılan üretimler sonucunda elde edilen ekstraktlarda belirlenmiş ve hizmet alımı ile gerçekleştirilmiştir. Örneğin sabunlaştırılması ve ekstraksiyonu sonrası uygun çözücüye alınan ekstraktın ters fazlı analitik analizi HPLC ile gerçekleştirilmiştir. Her karotenoidin yaklaşık 1 mg'ı 100 mL'lik bir ölçülü balonda tartılmaktadır ve (Tablo 3.2.) spesifik bir çözücü içinde çözündürülmektedir. Her bir stok solüsyonun bir mL'si Tablo 3.2'de belirtildiği gibi her bir spesifik çözücü ile 10.0 mL'ye seyreltilmektedir. Her bir stok solüsyonun konsantrasyonu spesifik absorpsiyon katsayıları kullanılarak

hesaplanmaktadır. 5 mL standart stok çözelti nitrojen altında kuruyana kadar buharlaştırılmıştır ve 10 mL metenol/THF (75:25 (h/h)) içinde çözülerek ayrı bir çalışma solüsyonu hazırlanmıştır. Safılık, her karotenoid için ayrı pik alanının kromatogramın toplam pik alanına bölünmesiyle yüzde olarak hesaplanmıştır. Absorbans okumalarından ölçülen konsantrasyonlar safılık için düzeltilmiştir (Marina ve ark., 1989; Konings ve Roomans, 1997).

Tablo 3.2. Karotenoidlere ait çözücü, maksimum dalga boyu ve absorbans katsayısı

Karotenoid	Çözücü	Abs _{max} ; nm	Absorbans Katsayısı
Lutein	Etanol	445	2550
Zeaksantin	Aseton	452	2340
α-karoten	Heksan	444	2800
β-karoten	Heksan	450	2560
Likopen	Heksan	472	3450

3.4. Gıda Denemelerinde Yürütülen Analizler

Elde edilen ekstraktın asidik karakterde olması nedeniyle gıda denemeleri limonata ile yürütülmüştür. Limonata üretimi literatürde Ermiş ve ark (2019) tarafından yürütülen benzer çalışma referans alınarak gerçekleştirilmiştir. Limonata üretiminde, 300 mL limon suyu, 30 g şeker ve 670 mL saf su ile toplam hacim 1 L olacak şekilde hazırlanmıştır. Toplam 2 L olarak hazırlanan limonata içecekleri 95°C'ye ayarlanmış sıcak su banyosunda 5 dk ısıtılma maruz bırakılmıştır. Hazırlanan limonataya belirli konsantrasyonlarda (%0.1; %0.2; %0.3; %0.4) ekstraktlar eklenerek her bir gruptan dörder adet örnek oluşturulmuştur.

Optimizasyon basamağında belirlenen noktalarda elde edilen ekstraktlarda ve belirli oranlarda alınan ekstraktların, ilavesi ile üretimi gerçekleştirilen limonata içeceğinde; pH, titrasyon asitliği, suda çözünür kuru madde, renk, toplam fenolik madde ve antioksidan kapasite analizleri gerçekleştirilmiştir.

pH Tayini: Elde edilen renk maddesinden gerekli miktarda örnek alınarak WTW Inolab pH Level1 (Almanya) model pH-metre kullanılarak pH değeri belirlenmiştir (Anonim, 1995).

Titrasyon Asitliği Tayini: AOAC (1995)'de belirtilen potansiyometrik yöntemle gerçekleştirilmiştir. Titrasyon asitliği belli oranda suda çözündürülmüş örneğin pH 8.1 değerine kadar 0.1 N NaOH ile titrasyonu yapılmıştır ve % asitlik cinsinden hesaplanmıştır.

Suda Çözünür Kuru Madde Tayini: Şeftali posası ekstraktlarının suda çözünür kuru madde (SÇKM) içerikleri, sıcaklık düzeltmesine sahip refraktometre kullanılarak belirlenmiştir (AOAC, 1995).

Renk Tayini: Örneklerin rengi, Chromameter model renk ölçme (CR-300 model) cihazı beyaz ve siyah standart bir plakada kalibre edildikten sonra Hunter renk ölçüm parametreleri ile L* (parlaklık), a* (kırmızı/yeşil), b*(sarı/mavi) değerleri üç farklı noktada ölçülerek belirlenmiştir (Anonim, 1991). Referans L*, a* ve b* değerleri kullanılarak ΔE , ΔC ve Hue açısı değerleri aşağıdaki formüller kullanılarak hesaplanmıştır.

$$\Delta E = [(L^* - L_{ref}^*)^2 + (a^* - a_{ref}^*)^2 + (b^* - b_{ref}^*)^2]^{1/2} \quad (3.2.)$$

$$\Delta C = [(a^* - a_{ref}^*)^2 + (b^* - b_{ref}^*)^2]^{1/2} \quad (3.3.)$$

$$\text{Hue açısı} = \tan^{-1} (b^*/a^*) \quad (3.4.)$$

Toplam Fenolik Madde Tayini: Franke ve ark., (2004) tanımladığı spektrofotometrik yöntemle uygun şekilde yürütülmüştür. Kalibrasyon grafiği; stok gallik asit çözeltisinin farklı konsantrasyonlarına Folin-Ciocalteu ayracı ve NaHCO₃ ilavesinden sonra standartlar 100 mL'ye tamamlanarak ve 2 saat karanlıkta bekletildikten sonra 760 nm dalga boyunda okunan absorbans değerlerine karşı konsantrasyonlarından standart kurve (Ek-A.1) oluşturulmuştur.

Örnek hazırlama aşamasında ise; örnek 0.5 mL tüplere alındıktan sonra üzerine 2 mL (%10 v/v) Folin&Ciocalteu reaktifi eklenerek karıştırılmıştır. Her bir tüp içerisine 1 mL %7 lik NaHCO₃ çözeltisi eklendikten sonra karanlıkta 30 dakika bekletilmiş, 30

dakika sonunda spektrofotometrede 760 nm dalga boyunda absorbans değerleri okunmuştur. K r   zelti ile örneklerin absorbansı belirlenmiştir. Gallik asit ile hazırlanan kalibrasyon eğrisinden belirlenen absorbansa karşılık gelen konsantrasyon değeri seyreltmeler dikkate alınarak hesaplanmıştır ve gallik asit cinsinden mg/L olarak verilmiştir.

Antioksidan Kapasite Tayini: Elde edilen karotenoid ekstraktlarının antioksidan kapasiteleri Re ve ark., (1999) tarafından geliştirilmiş spektrofotometrik yöntem kullanılarak “Troloks Eşdeğeri Antioksidan Kapasitesi (TEAC)” yöntemiyle ve Benzie ve Strain (1996) tarafından tanımlanan “Demir (III) İndirgeme Antioksidan Gücü FRAP” yöntemi ile belirlenmiştir.

Troloks eşdeğeri antioksidan kapasitesi (TEAC): Seyreltilmiş ABTS radikal çözeltisi ve PBS   zeltisi belli oranda karıştırılarak 734 nm’de 0.700 absorbans değeri verecek şekilde seyreltilmiş ve başlangıç absorbans değeri kaydedilmiştir. 10  L ekstrakt ilave edilerek birer dakika arayla 6. dakikanın sonuna kadar absorbans değerleri kaydedilmiştir. 6. dakika sonundaki ve başlangıçtaki absorbans değerlerinden % inhibisyon oranı hesaplanmıştır. Elde edilen veriler kullanılarak inhibisyon oranına karşılık gelen örnek miktarları grafiğe aktarılarak linear regrasyon analizi uygulanarak oluşan eğriyi tanımlayan eşitliğe ulaşılmıştır. İşlem basamağında belirtilenler örnek yerine farklı konsantrasyonlardaki (5, 10, 15, 20, 25  L) troloks standardının ilavesiyle gerçekleştirilmiş (Ek-A.2) ve inhibisyon oranları hesaplanmıştır. Linear regrasyon uygulanarak grafiğe yukarıda bahsedildiği gibi aktarılmıştır. TEAC değeri örneğe ait yüzde inhibisyon eğrisinin eğiminin, troloks standart eğrisini eğimine bölünmesi ile hesaplanıp ve örnekte yapılan seyreltmeler seyreltme faktörü kullanılarak hesaplamaya dahil edilmiştir.

Demir (III) indirgeme antioksidan gücü (FRAP): FRAP yöntemiyle antioksidan kapasite tayini Benzie ve Strain (1996) tarafından tanımlanan yönteme göre yapılmıştır. Örnekler (100  l) veya uygun konsantrasyonda ki troloks standart çözeltisi (100  l) ve 2900  l çalışma solüsyonu 20 mM sodyum asetat (pH 3.6) tampon çözeltisi, 20 mM sulu demir (III) klorür çözeltisi ve 10 mM sulu TPTZ   zeltisi 10/1/1 oranında karıştırılarak FRAP  alışma çözeltisi elde edilmiştir) karıştırılmış ve 30 dk karanlık oda koşullarında

bekletilmiştir. Süre sonunda 593 nm’de spektrofotometrede absorbans değerleri kaydedilerek sonuçlar “trolox eşdeğeri” cinsinden verilmiştir (Ek-A.3).

3.5. İstatistiksel Analiz

Optimizasyon modellerinin oluşturulması ve değerlendirilmesinde Design-Expert paket programı kullanılmıştır. Elde edilen optimizasyon modelleri istatistiksel olarak değerlendirmiş, optimum işlem koşulları belirlenmiştir. Faktörler ile yanıtlar arasındaki ilişki bilinmediğinden sıfıncı dereceden başlayarak ikinci dereceden polinomiyal bir modele kadar tüm model ihtimalleri denenmiş ve en uygun yanıt fonksiyonuna ulaşan model seçilmiştir. Bu amaçla gerekli deneysel veriler “Box Behnken” deneme planı seçilerek oluşturulmuştur.

Ekstraksiyon koşullarının optimizasyonu için 29 deneysel noktadan oluşan ve dört değişken ile oluşturulan istatistiksel tasarım kullanılmıştır. Her deneme için paralel yapılarak, denemelerin standart sapması hesaplanmıştır. Seviyeler, 0 merkez noktası olmak üzere, -1, 0, +1’dir. Her faktörün merkez noktasındaki gerçek seviyesi aşağıdaki denklem kullanılarak hesaplanmıştır.

$$\text{Kodlanmış değer} = \frac{\text{Gerçek seviye} - (\text{yüksek seviye} + \text{düşük seviye}) / 2}{(\text{yüksek seviye} + \text{düşük seviye}) / 2} \quad (3.5.)$$

Proses değişkenlerinin yanıtlara etkisini tahminle belirleyen ikinci derece polinomiyal denklem aşağıda verilmiştir.

$$Y = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_3 X_3 + \beta_{11} X_1^2 + \beta_{22} X_2^2 + \beta_{33} X_3^2 + \beta_{12} X_1 X_2 + \beta_{13} X_1 X_3 + \beta_{23} X_2 X_3 \quad (3.6.)$$

Burada, $\beta_0, \beta_1, \beta_2, \dots, \beta_{23}$ regresyon katsayılarını, X_1, X_2, X_3, X_4 bağımsız değişkenleri ifade etmektedir. Oluşturulan modelin deneysel verileri ne ölçüde karşıladığı varyans analizi (ANOVA) ile belirlenmiştir. Bu yöntemle her bir faktörün lineer, kuadratik ve interaksiyon etkilerinin cevaplar üzerindeki istatistiksel önemlilikleri %95 güvenlik seviyesinde Fischer (F testi) uygulanarak bulunmuştur. Her bir etki için hesaplanan F_{cal} ile tablo F_{tab} değerleri karşılaştırılmış ve istatistiksel olarak önemli

olmayan etkiler modelden çıkarılmıştır. Bir model sistemin gerçek cevaba uygun bir yaklaşım olup olmadığına; uyum eksikliğinden (lack of fit) kaynaklanan hatanın önemsiz ve regresyondan kaynaklanan varyasyonun %95 güvenlik seviyesinde önemli olması koşulu ile karar verilmiştir.

Doğrulama testlerinde ve limonata örneklerindeki istatistiksel değerlendirme Duncan testi ile %95 güven aralığında yapılmıştır.



4. BULGULAR ve TARTIŞMA

4.1. Hammaddeye Ait Fizikokimyasal Özellikler

Ekstraksiyon işlemlerinde kullanılan dondurularak muhafaza edilmiş şeftali posasının fizikokimyasal özelliklerini belirlemek amacıyla yürütülen, pH, toplam asitlik (%), suda çözünür kuru madde, renk değeri, toplam fenolik madde (mg/L), antioksidan kapasite analizlerine ait sonuçlar Çizelge 4.1’de verilmiştir. Analiz sonuçlarına göre pH değeri 4.06; toplam asitlik 1.07 (%); suda çözünür kuru madde 11.0; renk b* değeri 37.37; toplam fenolik madde miktarı 2114.60 (mgGAE/L), Troloks eşdeğeri antioksidan kapasitesi 7435.90 (mg/L); Demir (III) İndirgeme antioksidan gücü 336.19 ($\mu\text{mol/L}$) olarak bulunmuştur.

Çizelge 4.1. Hammaddeye ait fizikokimyasal özellikler

Nitelik	Sonuç [#]
pH	4.06±0.02
Toplam asitlik (%)	1.07±0.07
Suda çözünür kuru madde (%)	11.00±0.01
Renk b*	37.37±4.07
Toplam fenolik madde (mg/L)	2114.60±12.02
Troloks eşdeğeri antioksidan kapasitesi (TEAC) (mg/L)	7435.90±21.03
Demir (III) indirgeme antioksidan gücü (FRAP) ($\mu\text{mol/L}$)	336.19±9.08

#n=3, verilere ait aritmetik ortalama standart sapma (SD)

4.2. Optimizasyon

4.2.1 Cevap seviyeleri ve model uyumu

Örneklerin karotenoid ekstraksiyon koşulları, Cevap Yüzey Yöntemi (RSM) kullanılarak “Box Behnken” deneme planı seçilerek optimize edilmiştir. Elde edilen optimizasyon modelleri istatistiksel olarak değerlendirilerek, optimum işlem koşulları belirlenmiştir. Faktörler ile yanıtlar arasındaki en uygun yanıt fonksiyonuna ulaşan model seçilmiştir. Bu amaçla gerekli deneysel veriler oluşturulmuştur. Ekstraksiyon koşullarının optimizasyonu için 29 deneysel noktadan oluşan ve dört değişken ile oluşturulan istatistiksel tasarım kullanılmıştır.

Ekstraksiyon uygulamaları 37 kHz frekansa çalışan ultrasonik banyo (Elmasonic, S100H) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla ekstraksiyon

koşullarının optimizasyonunda örnek miktarı (1-3 g), enzim miktarı (%0-10), sıcaklık (20-60°C) ve süre (10-60 dk) bağımsız değişkenleri kullanılarak optimize edilmiştir. Cevap seçimi ise maksimum toplam karotenoid içeriği ve maksimum b* (sarılık) renk değerine göre belirlenmiştir. İncelenen değişkenler ve seviyeleri Çizelge 4.2.'de verilmiştir. Çalışmada, işlem değişkenlerinin yanıt üzerine etkileri varyans analizi (ANOVA) yapılarak belirlenmiştir.

İşlem değişkenleri ile her bir yanıt arasındaki ilişkiyi ifade eden matematiksel modeller çoklu lineer regresyon analizi yapılarak oluşturulmuştur. Bu amaçla modellere her bir değişkenin öncelikli olarak lineer etki terimleri, daha sonra “ikinci dereceden” (kuadratik) ve “etkileşim” (interaksiyon) etki terimleri toplu halde eklenmiş ve kareler toplamındaki artış ve “modelin matematiksel forma uygunluk” (lack of fit) değerleri analiz edilmiştir. Çizelge 4.2’de gösterilen verilere göre yanıtlar için ikinci dereceden terimlerin eklenmesinin modelleri önemli ölçüde geliştirdiği belirlenmiştir. Dolayısı ile şeftali posası ekstraksiyonu için en uygun modelin ikinci dereceden polinomiyal modeller olduğu kanıtlanmıştır.

Çizelge 4.2. Box-Behnken deneme deseni deneysel yanıt değerleri

Deney no	Bağımsız değişkenler				Yanıtlar	
	Örnek Miktarı (g)	Enzim (%)	Sıcaklık (°C)	Süre (dk)	Karotenoid miktarı (mg/kg)	Renk b*
1	2	5	60	60	0.091	13.41
2	2	10	60	35	0.082	17.88
3	2	0	40	10	0.047	9.18
4	2	10	20	35	0.099	19.99
5	3	5	40	60	0.071	19.97
6	1	5	40	60	0.126	9.26
7	3	5	20	35	0.085	18.9
8	3	5	60	35	0.052	16.25
9	2	10	40	60	0.098	16.05
10	2	5	40	35	0.102	20.01
11	1	10	40	35	0.131	11.37
12	2	5	60	10	0.085	16.68
13	1	5	40	10	0.113	12.67
14	3	10	40	35	0.093	22.75
15	2	5	20	10	0.102	15.11
16	2	0	40	60	0.054	14.41
17	3	5	40	10	0.073	15.89
18	2	5	40	35	0.099	20.14
19	2	10	40	10	0.101	20.51
20	2	0	20	35	0.074	12.88
21	3	0	40	35	0.044	12.03
22	1	5	20	35	0.118	10.97
23	1	5	60	35	0.11	11.78
24	2	5	40	35	0.095	19.52
25	2	5	40	35	0.089	19.59
26	2	5	20	60	0.099	17.95
27	1	0	40	35	0.074	9.93
28	2	5	40	35	0.091	19.49
29	2	0	60	35	0.041	12.42

Tez kapsamında elde edilen analiz verileri değerlendirildiğinde regresyon modellerinin %95 güven aralığında anlamlı olduğu belirlenmiştir. Çizelge 4.3 ve 4.4 incelendiğinde, p-değeri 0.05'den büyük olan etkiler istatistiksel olarak önemsiz kabul edilmiş ve bu terimler model hiyerarşisine zarar vermeden modelden çıkarılmıştır. Ayrıca kalıntı hata, deneysel dizaynın merkez noktasında yapılan gözlemlerin tekrarlanmasıyla saf deneysel hata ve matematiksel forma uygunluk (lack of fit) olarak ayrılarak

incelenmiştir. Yanıt yüzey modeli için matematiksel forma uygunsuzluğun %95 güven seviyesinde önemsiz olduğu yani elde edilen modellerin matematiksel formunun deneysel veriyi temsil ettiği belirlenmiştir ($p>0.05$).

Çizelge 4.3'te de görüldüğü gibi x_1 , x_2 , x_3 , x_4 , x_1x_4 , x_2^2 , x_4^2 önemli model terimleridir. Hesaplama, F-değeri 76.06 olarak bulunmuştur. Buna göre elde edilen modelin matematiksel forma uygunsuzluğu saf hataya göre önemsizdir.

Çizelge 4.3. Karotenoid miktarı ANOVA çizelgesi

Kaynak	df ^a	Katsayı	Kareler Toplamı	p-değeri [#]
Model	14	0.0989	0.0181	<0.0001
x_1	1	-0.0147	0.0059	<0.0001
x_2	1	+0.0145	0.0063	<0.0001
x_3	1	-0.0011	0.0024	<0.0001
x_4	1	+0.0010	0.0003	0.0010
$x_1 x_2$	1	-0.0007	0.0001	0.0901
$x_1 x_3$	1	-0.0001	0.0000	0.2449
$x_1 x_4$	1	-0.0002	0.0002	0.0089
$x_2 x_3$	1	+2500E-06	2500E-07	0.9051
$x_2 x_4$	1	-0.0000	0.0000	0.1673
$x_3 x_4$	1	+6000E-06	0.0000	0.1673
x_1^2	1	+0.0025	0.0000	0.1408
x_2^2	1	-0.0007	0.0024	<0.0001
x_3^2	1	+5375E-06	0.0000	0.2050
x_4^2	1	-6560E-06	0.0001	0.0238
Residual	14		0.0002	
Lack of Fit	10		0.0001	0.8826
Pure Error	4		0.0001	
Cor Total	28		0.0183	
R^2		0.9870		
Adj R^2		0.9740		
Pred R^2		0.9520		
PRESS		1.096*10 ⁻³		
CV		4.71		
Yeterli Kesinlik		32.5878		

^a df serbestlik derecesi (degress of freedom)

[#] p-değeri ≤ 0.05 a=0.05'te önemli. Uyum eksikliği p-değeri > 0.05'te önemsizdir.

x_1 : miktar (g); x_2 : enzim (%); x_3 : sıcaklık (°C); x_4 : süre (dk)

ANOVA' da uyarlanan modelin matematiksel modele uygunluğu tüm cevap yüzey modelleri için %95 güven aralığında istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Diğer taraftan, regresyon katsayısı (R^2), düzeltilmiş regresyon katsayısı (adj- R^2) ve değişim katsayısı (CV) model uygunluğunu denetlemek için hesaplanan değerlerdir.

Modele eklenen değerler önemli olsa da olmasa da R^2 değeri artış göstermektedir. Fakat yüksek R^2 değeri her zaman regresyon modelinin daha iyi olduğu anlamına gelmemektedir. Bu açıdan model uygunluğunu değerlendirmede adj- R^2 kullanımı daha uygundur ve %90'ın üstünde olmalıdır. Modelden önemsiz olan değerler çıkartılmışsa, R^2 ve adj- R^2 değerleri aynı değerdedir. Modelin regresyon katsayısı (R^2) 0.98 olarak belirlenmiştir. CV, deneysel noktaların model önermelerine göre dağılımını ifade etmektedir ki, bu değer %4.71 olarak bulunmuştur. Tahmin edilmiş çoklu regresyon katsayısı (pre- R^2) model tarafından belirlenen yeni verilerdeki değişimlerin toplamını ölçmektedir. Genellikle bir sayısına yakın değerler ideal kabul edilmektedir. Tahmin edilmiş hata kareler toplamı (PRESS) ise tasarımın her noktasına modelin ne kadar uygun olduğunu ifade eden bir parametredir. Model uygunluğunun kontrolü, önemsiz olan etkilerin ($p>0.05$) azaltılması ve PRESS, pre- R^2 değerleri göz önüne alınarak yapılabilmektedir. Bu analizde pre- R^2 değeri 0.95 bulunmuş olup 0.97 bulunan adj- R^2 değeri ile örtüşmektedir. Ayrıca, yeterli kesinliği gösteren adeq-precision değeri 32.58 olarak bulunmuştur. Şeftali posası enzim destekli ultrasonik ekstraksiyonu ile karotenoid miktarına ait değişkenlerin kodlanmış seviyelerini gösteren çoklu regresyon Eşitlik 4.1.'de gösterildiği şekildedir:

$$\begin{aligned} \text{Karotenoid Miktarı} = & 0.0989 - 0.0147x_1 + 0.0145x_2 - 0.0011x_3 + 0.0010x_4 + \\ & 0.0025x_1^2 - 0.0007x_2^2 + 5375E-06x_3^2 - 6560E-06x_4^2 - 0.0007x_1x_2 - 0.0001x_1x_3 - \\ & 0.0002x_1x_4 + 2500E-06x_2x_3 - 0.0000x_2x_4 + 6000E-06x_3x_4 \end{aligned} \quad (4.1.)$$

x_1 : miktar (g); x_2 : enzim (%); x_3 : sıcaklık (°C); x_4 : süre (dk)

Şeftali posasının enzim destekli ultrasonik yöntem ile karotenoid ekstraksiyonunda, miktar, enzim, sıcaklık ve süre lineer; miktar-süre interaksiyon; enzim ve süre oranlarının ise kuadretik etkilerinin %95 sınırları içerisinde önemli olduğu belirlenmiştir.

Çizelge 4.4. Renk b* ANOVA çizelgesi

Kaynak	df ^a	Katsayı	Kareler Toplamı	p-değeri [#]
Model	14	-18.02	433.94	<0.0001
x ₁	1	+13.42	132.07	<0.0001
x ₂	1	+1.4943	118.44	<0.0001
x ₃	1	+0.5381	4.54	<0.0001
x ₄	1	+0.3151	0.0850	0.4139
x ₁ x ₂	1	+0.4640	21.53	<0.0001
x ₁ x ₃	1	-0.0432	2.99	0.0002
x ₁ x ₄	1	+0.0749	14.03	<0.0001
x ₂ x ₃	1	-0.0041	0.6806	0.0319
x ₂ x ₄	1	-0.0193	23.47	<0.0001
x ₃ x ₄	1	-0.0030	9.33	<0.0001
x ₁ ²	1	-3.33	71.95	<0.0001
x ₂ ²	1	-0.0950	36.64	<0.0001
x ₃ ²	1	-0.0044	20.42	<0.0001
x ₄ ²	1	-0.0034	30.42	<0.0001
Residual	14		1.68	
Lack of Fit	10		1.31	0.3887
Pure Error	4		0.3658	
Cor Total	28		435.61	
R ²		0.9961		
Adj R ²		0.9923		
Pred R ²		0.9813		
PRESS		8.13		
CV		2.20		
Yeterli Kesinlik		54.9117		

^a df serbestlik derecesi (degress of freedom)

[#] p-değeri ≤ 0.05 a=0.05'te önemli. Uyum eksikliği p-değeri > 0.05'te önemsizdir.

x₁ : miktar (g); x₂ : enzim (%); x₃ : sıcaklık (°C); x₄ : süre (dk)

Renk b* ANOVA çizelgesi incelendiğinde, modelin regresyon katsayısı R²; 0.99 ve CV değeri; %2.20 olarak bulunmuştur. Ayrıca pre-R² değeri 0.98 bulunmuş olup 0.99 bulunan adj-R² değeri ile örtüşmektedir. Yeterli kesinliği gösteren adeq-precision değeri 54.91 olarak bulunmuştur. Miktar, enzim, sıcaklık ve süre lineer etkilerinin %95 güven sınırları içerisinde önemli olduğu belirlenmiştir. Şeftali posası enzim destekli ultrasonik ekstraksiyon ile renk b* değerine ait değişkenlerin kodlanmış seviyelerini gösteren çoklu regresyon Eşitlik 4.2'de gösterildiği şekildedir:

$$\text{Renk } b^* = -18.02 + 13.42x_1 + 1.4943x_2 + 0.5381x_3 + 0.3151x_4 - 3.33x_1^2 - 0.0950x_2^2 - 0.0044x_3^2 - 0.0034x_4^2 + 0.4640x_1x_2 - 0.0432x_1x_3 + 0.0749x_1x_4 - 0.0041x_2x_3 - 0.0193x_2x_4 - 0.0030x_3x_4$$

x₁ : miktar (g); x₂ : enzim (%); x₃ : sıcaklık (°C); x₄ : süre (dk)

(4.2.)

Ultrasonik ekstraksiyon için optimum işlem koşulları istenilirlik fonksiyonu (desirability function) metodu kullanılarak belirlenmiştir. Optimum noktaların seçiminde en yüksek ekstraksiyon miktarını karşılayan değerleri sağlayan üç optimum nokta istenilirlik fonksiyonu değeri %85-100 koşulunu sağlayacak şekilde seçilmiştir. Seçilen bu üç noktada üretimler yapılarak deneysel ve tahmini değerler kıyaslanmıştır. Belirlenen optimum noktalar ve bu noktalardaki deneysel ve tahmini veriler Çizelge 4.5’de verilmiştir.

Çizelge 4.5. Optimum noktalarda karotenoid ve renk b* değeri

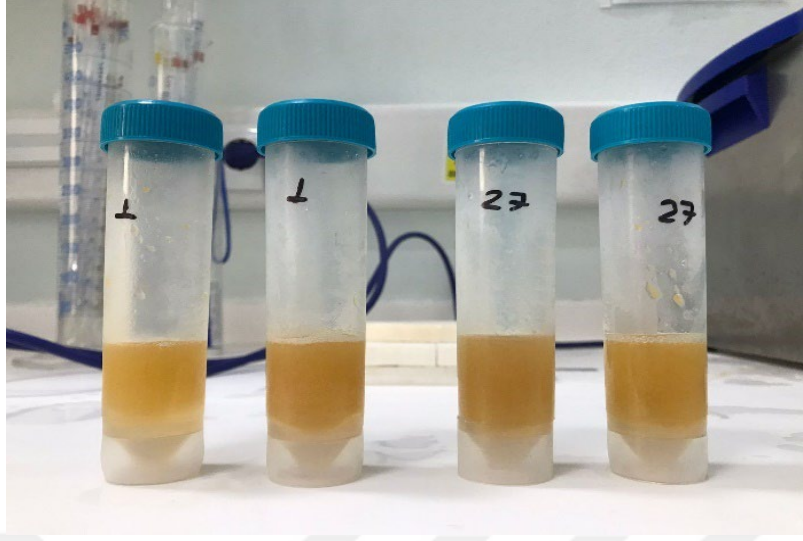
Örnek [#]	Karotenoid Miktarı		Renk b*	
	Tahmini	Deneysel	Tahmini	Deneysel
U-1.06g/8%/45°C/55dk	0.128	0.246(±0.03) ^a	9.18	13.00(±0.25) ^b
U-1.00g/8.50%/45.18°C/50.36dk	0.130	0.242(±0.00)^c	9.18	15.00(±0.13)^a
U-1.01g/9.03%/33.45°C/47.62dk	0.135	0.235(±0.01) ^b	9.95	13.38(±0.56) ^b

[#]U-kodu ultrason uygulamasını ifade etmektedir.

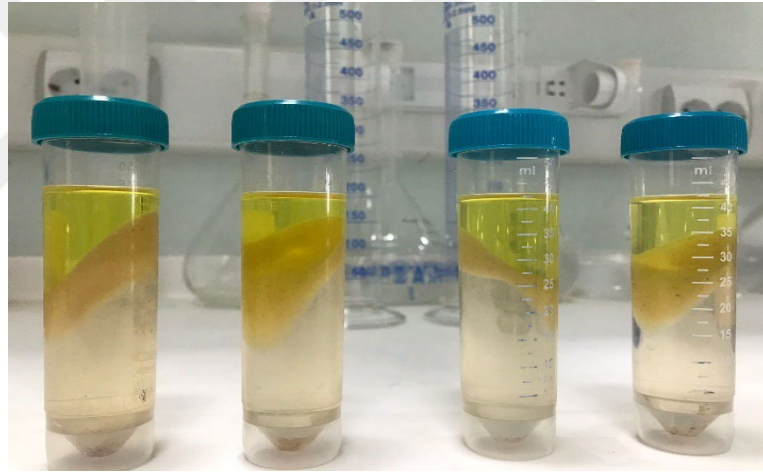
± Verilere ait standart sapma; ^{a- b} Farklı harflere sahip ortalama değerler istatistiksel olarak birbirinden farklıdır (p<0.05)

Deneysel veriler tahmini değerlerin üzerinde belirlenmiştir. Bunun gerekçesi ise Covid-19 pandemi sürecinde çalışmanın ön görülen sürede tamamlanamaması sonucu çalışılan enzim preparatının aktivitesini kaybetmesi ve şeftali posasının öngörülenden fazla depolanmasıdır. Bu nedenle şeftali posası ve enzim preparatı yeniden temin edilmiştir. Bu sebeple optimum nokta üzerinde deneysel veriler tahmini değerlerin üzerinde gözlemlenmiştir.

Bu üç farklı noktadan elde edilen deneysel değerlere en uygun optimum nokta seçilmiş ve çalışmanın bundan sonraki bölümü bu optimum nokta kullanılarak yürütülmüştür. Optimum noktalar seçilirken ilk önce tahmini değerler ile deneysel değerler birbiriyle karşılaştırılmıştır. Deneysel değerlere ait standart sapmalarda göz önüne alınarak tahmini değerler ile kıyas yapılmıştır. Bu kıyaslamada örneklerin ekstraksiyon kapasiteleri ve renk b* değeri de birlikte düşünülerek karar verilmiştir.



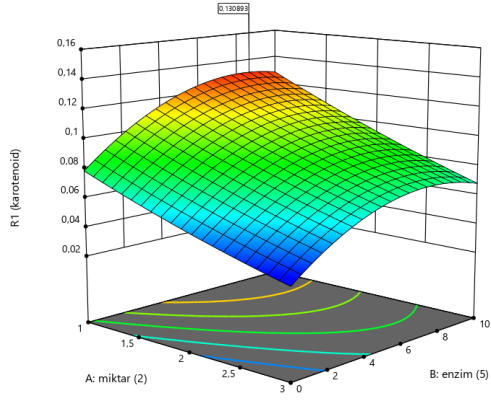
Şekil 4.1. Ultrasonik işlem sonucu optimum noktalarda yapılan çalışmalara ait örnekler
(no 1: 45°C-55 dk; no 27: 45°C 50 dk)



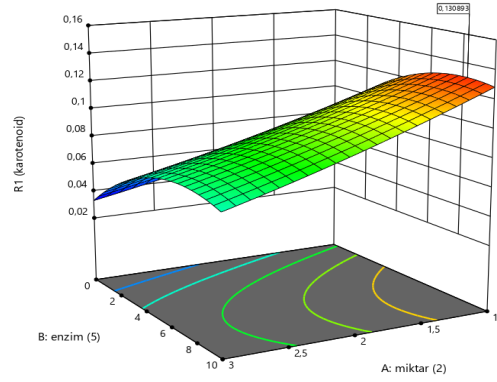
Şekil 4.2. Santrifüj işlemi sonrası optimum noktalarda yapılan çalışmalara ait örnekler

Belirlenen optimum noktada ekstraksiyon kapasitesinin maksimum düzeyde olması istenmiştir. Buna göre Çizelge 4.5’deki veriler incelendiğinde örnekler; U-1.00g/8.50%/45.18°C/50.36dk optimum nokta olarak belirlenmiştir. Bu optimum noktaya ait ekstraksiyon kapasitesi ve renk b^* değerlerinin üç boyutlu cevap yüzey grafikleri Şekil 4.3 ve Şekil 4.4’de verilmiştir.

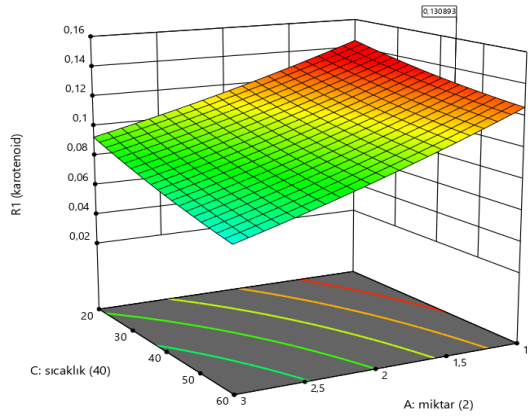
a.1.)



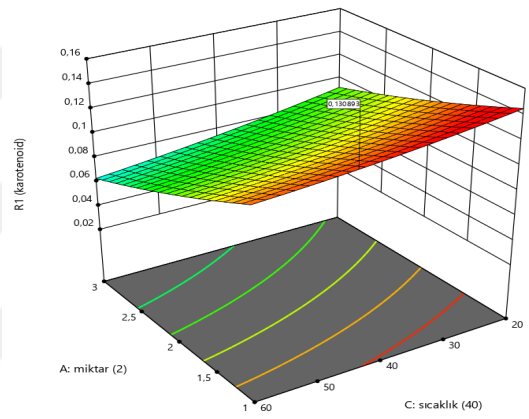
a.2.)



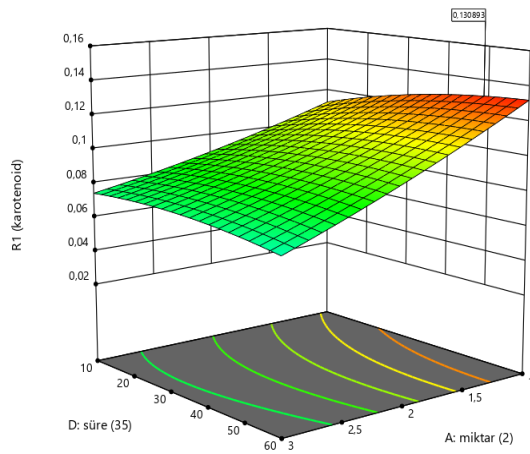
b.1.)



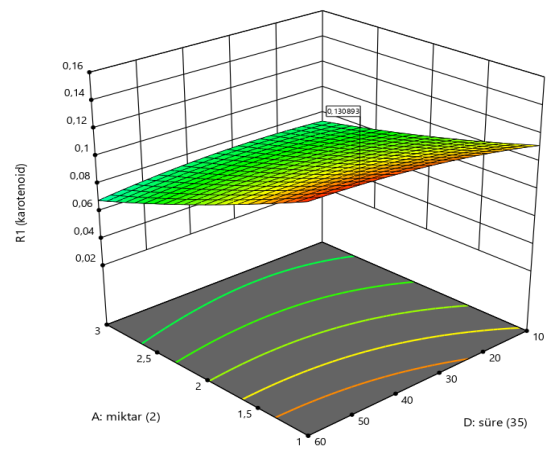
b.2.)



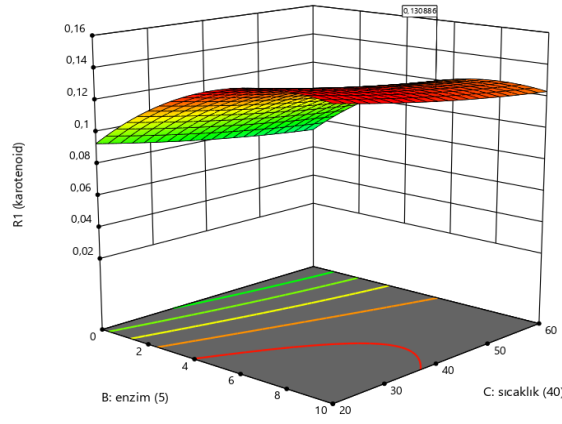
c.1.)



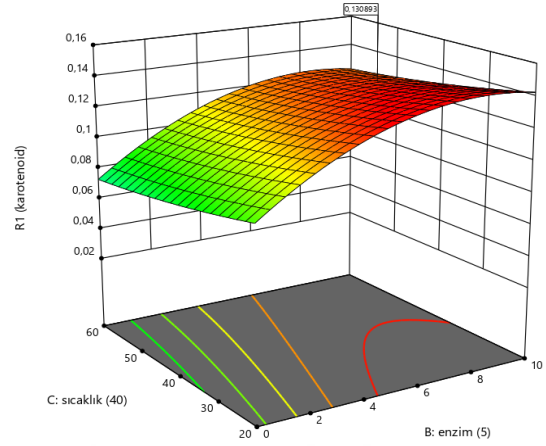
c.2.)



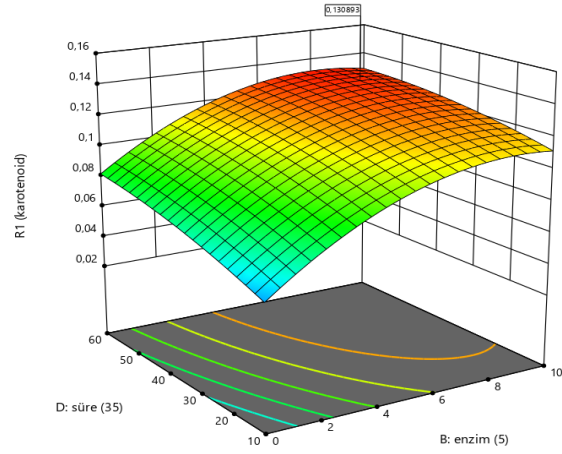
d.1.)



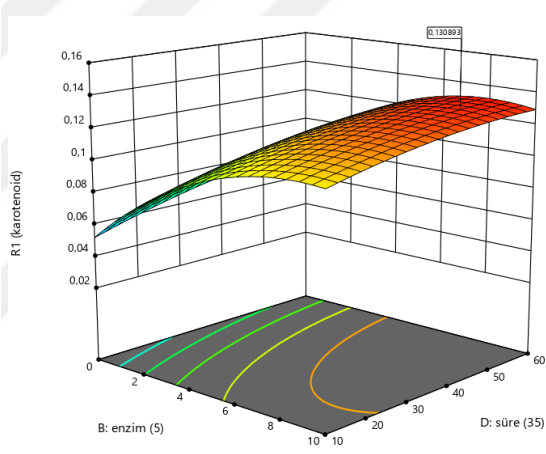
d.2.)



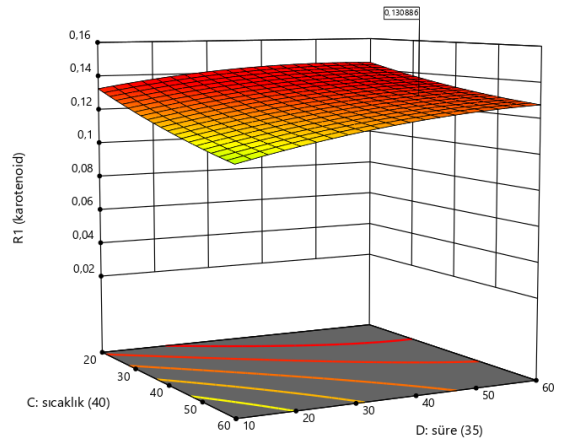
e.1.)



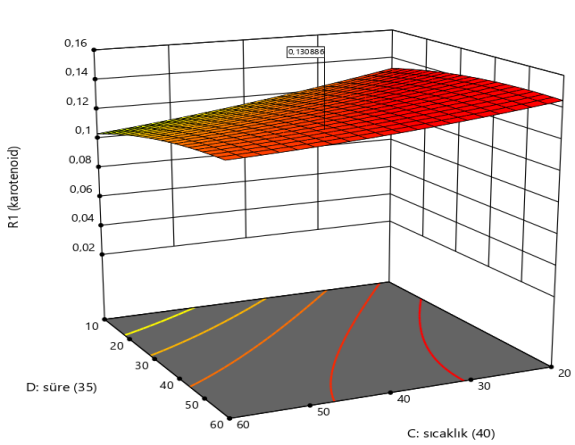
e.2.)



f.1.)



f.2.)



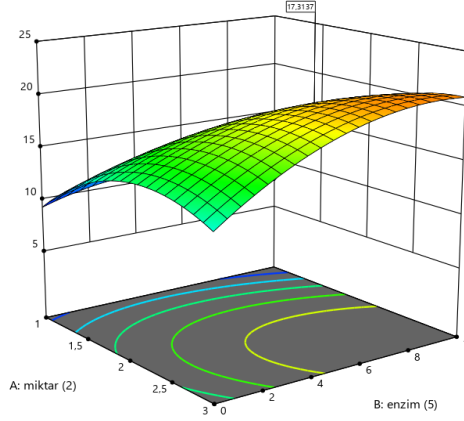
Şekil 4.3. Optimizasyon aşamasında karotenoid miktarı değerlerinin seçilmesiyle oluşturulan 3D yanıt yüzey grafikleri
((a₁-a₂) enzim ve miktar, (b₁-b₂) sıcaklık ve miktar, (c₁-c₂) süre ve miktar, (d₁-d₂) sıcaklık ve enzim, (e₁-e₂) süre ve enzim, (f₁-f₂) süre ve sıcaklık)

Şekil 4.3 ekstraksiyon grafikleri incelendiğinde; karotenoid ekstraksiyon kapasitesinin (sıcaklık ve süre=sabit) enzim miktarı arttıkça karotenoid miktarının arttığı ve buna karşılık örnek miktarı arttıkça karotenoid miktarının azaldığı gözlenmektedir (Şekil 4.3. a₁-a₂). Sıcaklık ve örnek miktarının ekstraksiyon kapasitesine etkisi incelendiğinde; sıcaklık artışı ile ekstraksiyon kapasitesinin arttığı, buna karşılık örnek miktarının artışına bağlı olarak ekstraksiyon kapasitesinde bir azalma meydana geldiği tespit edilmiştir (Şekil 4.3. b₁-b₂). Örnek miktarı ve sürenin etkisi incelendiğinde; süre arttıkça ekstraksiyon kapasitesinin arttığı, örnek miktarının artışı ile ekstraksiyon kapasitesinin azaldığı belirlenmiştir (Şekil 4.3. c₁-c₂).

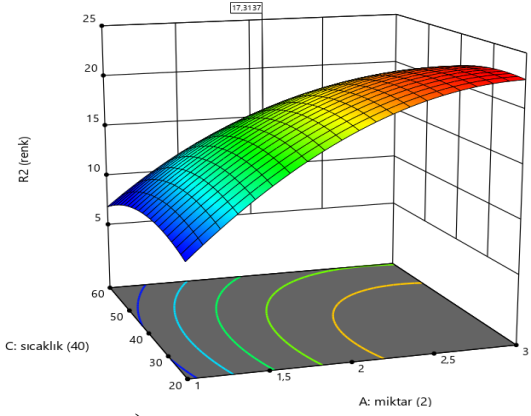
Şekil 4.3'te (örnek miktarı ve ekstraksiyon süresi=sabit) enzim ve sıcaklık parametreleri değerlendirildiğinde; ekstraksiyonda kullanılan enzim oranının artışı ile beraber karotenoid miktarının da arttığı ancak sıcaklığın ekstraksiyon kapasitesine belirgin bir etkisi görülmemektedir (Şekil 4.3 d₁-d₂). Enzim miktarı ve süre arttıkça karotenoid miktarının da arttığı gözlemlenmektedir (Şekil 4.3. e₁-e₂). Sıcaklık ve sürenin ekstraksiyon kapasitesine etkisi değerlendirildiğinde; karotenoid miktarının sıcaklık ve süre parametreleri karşısındaki değişiminde sürenin belirleyici olduğu görülmektedir (Şekil 4.3. f₁-f₂).

Tüm bu değerlendirmeler ışığında ekstraksiyon kapasitesinin maksimum olarak seçildiği cevap yüzey grafiklerinden belirli sonuçlar elde edilmiştir. Örnek miktarı, enzim, sıcaklık ve süre bağımsız değişkenlerinin tümünün karotenoid miktarına etkisi önemli bulunmuştur. Kullanılan enzim oranının ve ekstraksiyon süresinin artışı ve örnek miktarının düşüşü ile ekstraksiyon kapasitesinin arttığı tespit edilmiştir. Ekstraksiyon koşullarının optimum noktasının belirlenmesinde bu parametrelerden elde edilen sonuçlar dikkate alınmıştır. Analiz verileri değerlendirildiğinde örnek miktarının az, enzim oranının yüksek, uygulanan sıcaklık değerinin ılımlı sıcaklıkta, ekstraksiyon süresinin uzun seçildiğinde optimum noktanın alındığı sonucuna varılmıştır. Buna göre Çizelge 4.5'deki veriler incelendiğinde U-1.00g/8.50%/45.18°C/50.36dk optimum nokta olarak seçilmiştir.

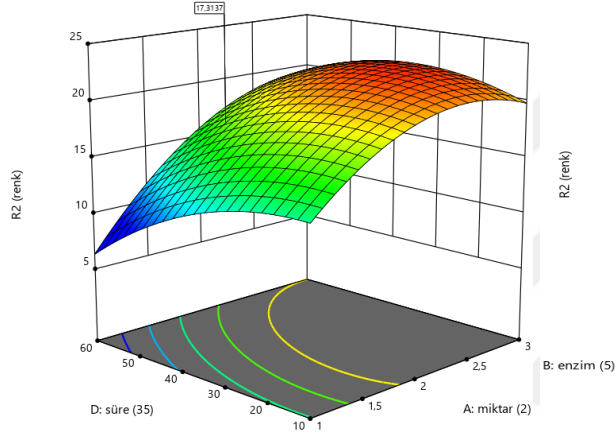
g)



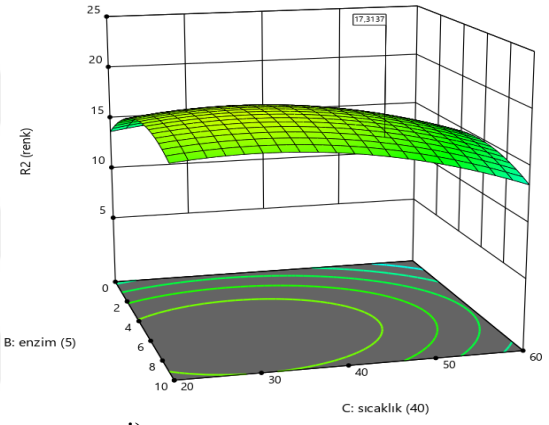
ğ)



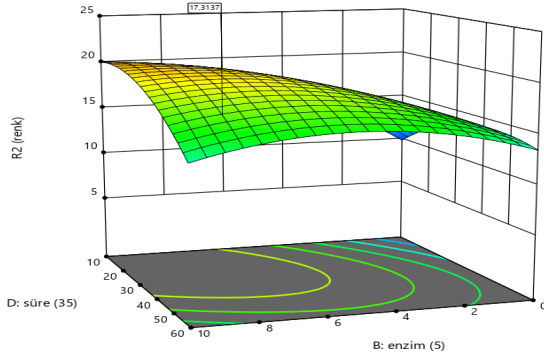
h)



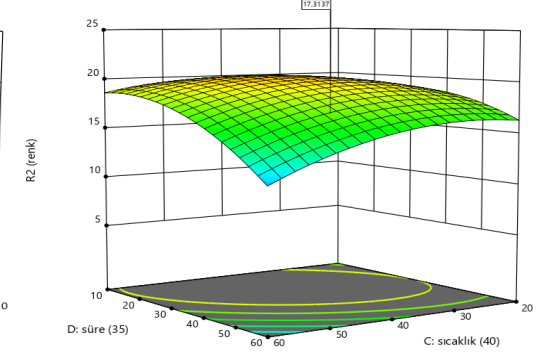
ı)



i)



j)



Şekil 4.4. Optimizasyon aşamasında renk b* değerlerinin seçilmesiyle oluşturulan 3D yanıt yüzey grafikleri
 ((g) enzim ve miktar, (ğ) sıcaklık ve miktar, (h) süre ve miktar, (ı) sıcaklık ve enzim, (i) süre ve enzim, (j) süre ve sıcaklık)

Şeftali posalarının renk analizi sonucunda elde edilen Şekil 4.4 incelendiğinde; sarılığı ifade eden b^* değerinin örnek miktarı ve enzim oranının artışı ile b^* değerinin arttığı gözlemlenmiştir (Şekil 4.4 g). Sıcaklık ve örnek miktarı parametrelerine göre değişiminde örnek miktarı belirleyici rol oynamıştır (Şekil 4.4 ğ). Örnek miktarı artışına bağlı olarak b^* renk değerinin arttığı, uygulanan ekstraksiyon süresinin artışının ise b^* değeri üzerinde etkin olmadığı tespit edilmiştir (Şekil 4.4 h). Renk analizinde b^* değerinin sıcaklık ve enzim parametreleri karşısındaki değişiminde ise kullanılan enzim oranının artışı ile beraber b^* değerinin de arttığı görülmektedir (Şekil 4.4 ı). Süre ve enzim parametrelerine göre b^* değerinin değişiminde; süre ve enzim artışı ile belli bir yere kadar arttığı daha sonra azaldığı belirlenmiştir (Şekil 4.4 i). Yine benzer şekilde renk b^* değerinin süre ve sıcaklıkla değişiminde belirgin bir etki görülmemektedir (Şekil 4.4 j). Sonuç olarak renk analizinde elde edilen veriler değerlendirildiğinde; örnek miktarı ve kullanılan enzim oranının b^* değeri üzerinde belirgin bir etkiye sahip olduğu ve b^* değerinin arttığı tespit edilirken süre ve sıcaklığın daha az etkiye sahip olduğu sonucuna varılmıştır.

4.3. Optimizasyon Koşullarında Gerçekleştirilen Geleneksel ve Ultrasonik Ekstraksiyon Yöntemlerinin Karşılaştırılması

Ekstraksiyon işlemi, Design Expert 12 programına göre belirlenen optimum nokta seçilerek gerçekleştirilmiştir. Enzimatik ekstraksiyon amacıyla Pektinex Ultra Color (Novozymes-Danimarka) enzim preparatı kullanılmıştır. Optimum nokta olarak (1.00g örnek, 8.50% enzim, 45.18 °C sıcaklık, 50.36 dk süre) seçilen örnekte hem ultrasonik yöntem hem de geleneksel yöntem ile ekstraksiyon işlemleri gerçekleştirilmiştir. Optimum noktada ultrasonik işlemin etkinliğini belirlemek amacı ile aynı işlem ve koşullarda ultrason uygulaması elemine edilerek geleneksel yöntem olarak ifade edilen ekstraksiyon uygulanmıştır. Bu işlemlere ek olarak şeftali posası için de karotenoid miktarı ve renk değerleri hesaplanmıştır. Ekstraktların fizikokimyasal özelliklerinin belirlenmesi amacıyla her üç örnek grubunda karotenoid dağılımı, toplam fenolik madde, antioksidan kapasite (ABTS ve FRAP), pH, toplam asitlik, suda çözünür kuru madde ve renk değerleri açısından analizler yürütülmüştür.

4.3.1. Ekstraksiyon kapasitelerinin ve renk değerlerinin belirlenmesi

Optimizasyon aşamasında belirlenen koşullarda uygulanan analizler sonucunda bulunan değerler Çizelge 4.6’da verilmiştir.

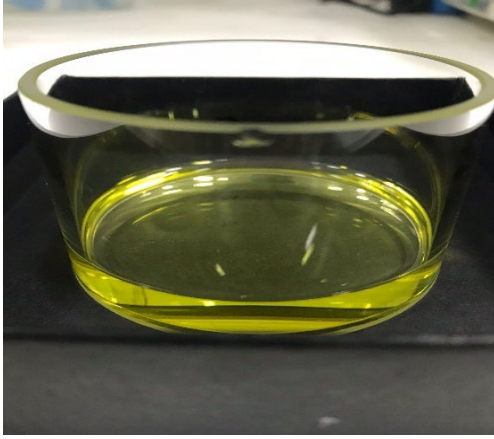
Çizelge 4.6. Çalışılan ekstraksiyon noktaları ve bulunan değerler

Örnek*	Karotenoid miktarı (mg/kg β karoten)	Renk b* değeri
U-1.00g/8.50%/45.18°C/50.36dk	0.241($\pm$0.00)^a	14.79($\pm$0.13)^a
G-1.00g/8.50%/45.18°C/50.36dk	0.200($\pm$ 0.00) ^c	13.25($\pm$ 0.19) ^a
P-1.00g	0.228($\pm$ 0.02) ^b	14.60($\pm$ 0.10) ^b

*U-kodlu örnekler ultrason uygulanan, G-kodlu örnekler ise geleneksel ekstraksiyon uygulamasını, P-kodlu örnekler posayı ifade etmektedir.

$\pm$ Verilere ait standart sapma; ^{a-b} Farklı harflere sahip ortalama değerler istatistiksel olarak birbirinden farklıdır (p<0.05)

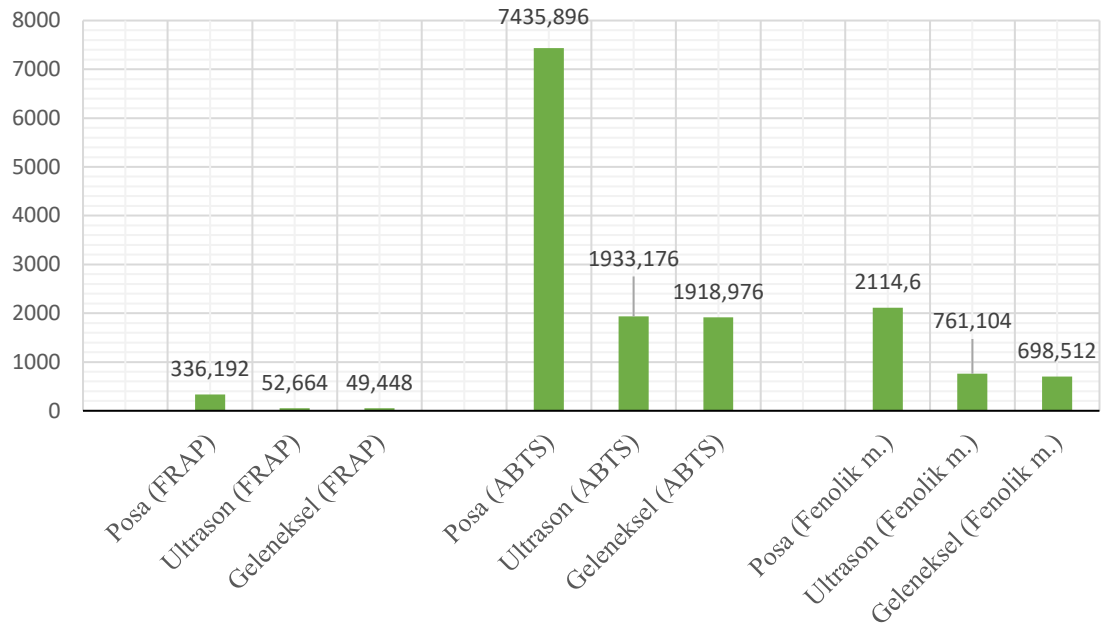
Optimizasyon ile elde edilen sonuçların geçerliliğinin belirlenmesi amacı ile belirlenen optimum noktalarda uygulanan yöntemlerin karotenoid miktarı ve renk b* değeri saptanmıştır. Çizelge 4.6 incelendiğinde karotenoid miktarı açısından herhangi bir işlem uygulanmamış posa, geleneksel yöntemle elde edilen ekstrakt ve ultrasonik yöntemle elde edilen ekstraktlar arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (p $\leq$ 0.05). Ayrıca deneysel verilerde; analiz sonucu elde edilen karotenoid değerleri (gerçek) ile optimizasyon sonucu design expert programı üzerinden belirlenen karotenoid değerlerinin (teorik) uyumlu olduğu ve hammaddedeki (posa) karotenoid miktarı (0.228 $\pm$ 0.02 mg/kg β karoten) göz önüne alındığında belirlenen optimum koşullarda geleneksel ekstraksiyon ile %87, UE ile %105 ekstraksiyon verimine ulaşıldığı görülmektedir. Bu sonuca tek bir ekstraksiyon basamağında ulaşılması ultrasonik ekstraksiyonun etkinliği açısından önemlidir.



Şekil 4.5. Şeftali posası karotenoid ekstraksiyonu sonucu renk görünümleri

4.3.2. Toplam fenolik madde ve antioksidan aktivite

Geleneksel ve ultrasonik ekstraksiyon yöntemleriyle elde edilen ekstraktların toplam fenolik madde ve antioksidan kapasiteleri Şekil 4.6’da verilmiştir.



Şekil 4.6. Ekstraktların toplam fenolik madde ve antioksidan kapasite değerleri

Çizelge 4.7. Ekstraktların toplam fenolik madde ve antioksidan kapasite değerleri

	Toplam Fenolik Madde (mg/L)	ABTS (mg/L)	FRAP (μmol/L)
Posa	2114.60 (±12.02) ^a	7435.90 (±21.03) ^a	336.19 (±9.08) ^a
Ultrason	761.10 (±8.12) ^b	1933.33 (±11.06) ^b	52.66 (±1.65) ^b
Geleneksel	698.51 (±6.09) ^b	1918.97 (±10.11) ^b	49.44 (±0.79) ^b

± Verilere ait standart sapma; ^{a-b} Farklı harflere sahip ortalama değerler istatistiksel olarak birbirinden farklıdır (p<0.05)

Ekstraktların toplam fenolik madde ve antioksidan kapasite değerleri incelendiğinde, ekstraktların elde edilmesinde kullanılan yönteme bağlı olarak toplam fenolik madde ve antioksidan kapasite miktarının değiştiği tespit edilmiştir. Geleneksel ekstraksiyon yönteminde toplam fenolik madde miktarı 698.51±6.09 mgGAE/L bulunurken; ultrasonik yöntem ile 761.10±8.12 mgGAE/L bulunmuştur ve posa da bu miktar 2114.60±12.02 mgGAE/L olarak belirlenmiştir. Ekstraksiyon koşullarına bağlı olarak toplam fenolik madde ve antioksidan kapasite değerlerinin istatistiksel olarak farklı olduğu ve beklendiği şekilde hammaddeye kıyasla daha düşük olduğu tespit edilmiştir. Antioksidan aktivite değeri ABTS yönteminde; ultrasonik yöntem sonucu elde edilen ekstraktlarda 1933.33±11.06 mg/L bulunurken geleneksel yöntem ile elde edilen ekstrakt örneklerinde ise 1918.97±10.11 mg/L olarak saptanmıştır. FRAP yönteminde ise geleneksel yöntemle ile 49.44±0.79 μmol/L, ultrason yöntemi ile 52.66±1.65 μmol/L değerlerine ulaşılmıştır. Ekstraktların ABTS ve FRAP yöntemi ile elde edilen antioksidan kapasite verilerinde geleneksel ekstraksiyon ile ultrasonik ekstraksiyon arasında istatistiksel olarak önemli bir fark bulunmamıştır. Tüm sonuçlar değerlendirildiğinde ise ekstraktlarda en yüksek toplam fenolik madde konsantrasyonuna ve toplam antioksidan aktivite değerine ultrasonik ekstraksiyon yöntemi ile ulaşılmıştır.

Saidani ve ark. (2017) tarafından şeftali meyvelerinin fenolik bileşikleri ve antioksidan aktivitelerinin belirlenmesi amacıyla yapılan çalışmada şeftali çeşitlerinin toplam fenolik madde içeriklerinin 88.0-277 mg GAE/100g taze ağırlık, antioksidan aktivitelerinin ise çeşide bağlı olarak 22.7 ile 401 mg TE/100 g taze ağırlık olduğu belirlenmiştir. Tosun ve Üstün (2003) tarafından gerçekleştirilen bir başka çalışmada vişne, portakal, kayısı ve şeftali meyvelerinin toplam antioksidan kapasitesi, toplam fenolik içeriği, toplam karotenoid miktarını ve askorbik asit içeriğini araştırılmıştır.

Örneklerin antioksidan kapasitelerinin belirlenmesinde FRAP yöntemi kullanılmış ve portakal için 6.54 $\mu\text{mol/ml}$, vişne için 8.01 $\mu\text{mol/ml}$, kayısı için 5.68 $\mu\text{mol/ml}$, şeftali için 5.19 $\mu\text{mol/ml}$ arasında değerler arasında olduğu sonucuna varılmıştır.

Konu ile ilgili benzer çalışmalar incelendiğinde tez kapsamında elde edilen ekstraktların toplam fenolik madde konsantrasyonlarının ve antioksidan kapasite değerlerinin hem geleneksel yöntemde hem de ultrasonik yöntemde şeftali meyvesine kıyasla daha yüksek değerlerde olduğu sonucuna varılmıştır. Bununla beraber posanın toplam fenolik madde miktarı ve antioksidan kapasite değerinin meyveye kıyasla çok daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Bunun nedeninin posanın içerdiği kabuk miktarının şeftaliye kıyasla daha fazla olmasından ve kabuktaki toplam fenolik madde miktarının yüksek olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir (Chang ve ark., 2000; Liu ve ark., 2015; Altemimi ve ark., 2016; Bento ve ark., 2018; Baltacıoğlu ve ark., 2019).

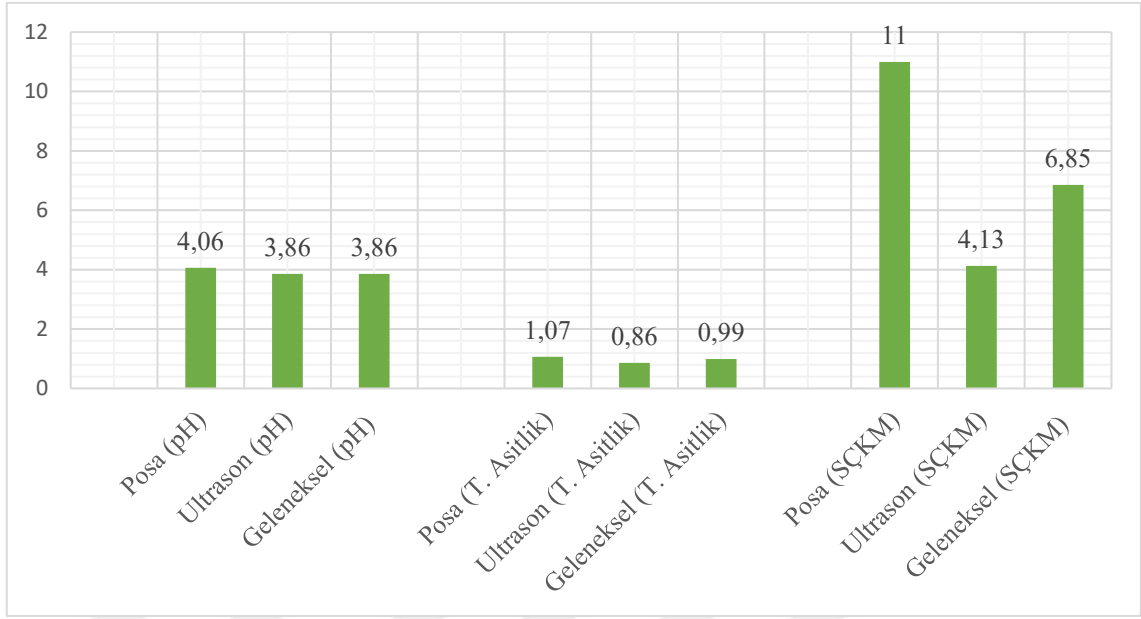
4.3.3. pH değeri, toplam asitlik ve suda çözünür kuru madde

Örnek gruplarına ait pH değeri, toplam asitlik ve suda çözünür kuru madde (SÇKM) sonuçları Şekil 4.7’de ve Çizelge 4.8’de verilmiştir.

Çizelge 4.8. Ekstraktlarının pH, toplam asitlik ve SÇKM değerleri

	pH	Toplam Asitlik(%)	SÇKM
Posa	4.06 (± 0.02) ^a	1.07 (± 0.07) ^a	11.00 (± 0.10) ^a
Ultrason	3.86 (± 0.01) ^b	0.86 (± 0.06) ^b	4.13 (± 0.06) ^b
Geleneksel	3.86 (± 0.00) ^b	0.99 (± 0.00) ^b	6.85 (± 0.23) ^c

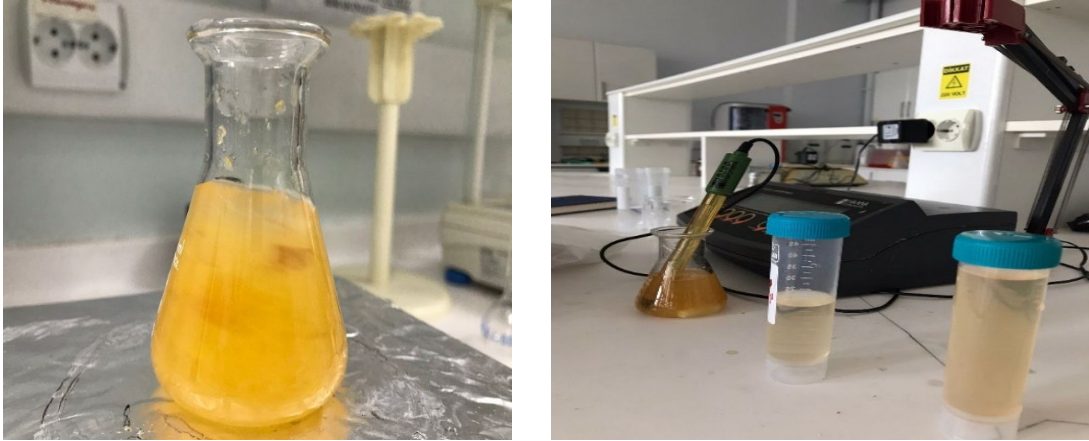
$\pm$ Verilere ait standart sapma; ^{a- b} Farklı harflere sahip ortalama değerler istatistiksel olarak birbirinden farklıdır (p<0.05)



Şekil 4.7. Şeftali posası ekstraktlarının pH, titrasyon asitliği ve SCKM değerlerinin kıyaslanması

Çalışmada, örneklerin pH değerleri hammadde için 4.06 ± 0.02 ; ultrasonik ve geleneksel ekstraksiyon yöntem uygulanarak elde edilen ekstrakt örnekleri için 3.86 olarak belirlenmiştir. Elde edilen veriler istatistiksel olarak değerlendirildiğinde; kontrol grubunun pH değeri ile ultrasonik ve geleneksel yöntemle elde edilen ekstrakt örneklerinin pH değeri arasındaki farklılık önemli bulunurken ultrason ve geleneksel yöntem kendi içerisinde değerlendirildiğinde bir fark tespit edilememiştir ($p > 0.5$). Toplam asitlik değerleri incelendiğinde; pH ile benzer şekilde hammaddenin toplam asitlik değeri ile ultrasonik ve geleneksel yöntemle elde edilen ekstrakt örneklerinin toplam asitlik değerleri arasındaki farklılık önemli bulunurken ultrason ve geleneksel yöntem kendi içerisinde değerlendirildiğinde bir fark tespit edilememiştir. Bu anlamda pH ile titrasyon asitliği değerleri birbirleri içerisinde uyumlu bulunmuştur.

Güven ve ark. (2007), 46 şeftali çeşidinde yaptıkları çalışmada pH değerinin 3.59-4.65, titrasyon asitliği değerlerinin ise %0.29-0.78 arasında değer aldığını tespit etmiştir. Türkmen (2003), 6 şeftali ve 7 nektarin çeşidinde yaptığı çalışmada pH değerini 3.51-4.21 aralığında saptamıştır. Konu ile ilgili yapılan çalışmalar göz önüne alındığında tez kapsamında elde edilen pH ve titrasyon asitliği değerlerinin beklenen değer aralıklarında olduğu sonucuna varılmıştır (Gür ve Parlak, 2011; Bayazıt ve ark., 2012).



Şekil 4.8. Şeftali posası çözeltisi ve ekstraktlara ait pH analizi

Ekstraktların suda çözünür kuru madde miktarları değerlendirildiğinde 4.13-11.0 briks değeri arasında değişmektedir. Hammadde için 11.0 ± 0.10 ; geleneksel yöntem ile üretilen ekstraktların ortalama briks değeri 6.85 ± 0.23 ve ultrasonik ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen örneklerin ortalama briks değeri ise 4.13 ± 0.06 olarak belirlenmiştir. Optimum noktalarda gerçekleştirilen işlemler sonucunda elde edilen veriler incelendiğinde ultrasonik ekstraksiyonla elde edilen ekstrakt örneklerinin suda çözünür kuru madde değerlerinin, geleneksel yöntem ile elde edilen örneklerle kıyasla daha düşük olduğu görülmektedir. İstatistiksel olarak incelendiğinde her iki ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen briks değerleri arasındaki fark önemli bulunurken bu iki grubun hammadde ile arasındaki fark da istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p \leq 0.05$). Şeftali örneklerinde yapılan benzer çalışmalar incelendiğinde hammaddeye bağlı olarak %8-16 arasında olduğu belirlenmiştir (Güven ve ark., 2007; Gür ve Pırlak, 2011; Bayazit ve ark., 2012; Kaçan, 2013). Tez kapsamında elde edilen sonuçlarla değerlendirildiğinde hammaddeye uygulanan ekstraksiyon işleminin suda çözünür kurumadde değerlerini azalttığı görülmektedir. Ancak elde edilen ekstraktlara herhangi bir konsantrasyon işlemi uygulanmaması nedeniyle briks değerlerinin daha düşük değerlerde olduğu düşünülmektedir.

Özetle; elde edilen sonuçlara göre örneklerin pH değerleri dikkate alındığında asidik karakterli bir ürün olduğu ve bu ekstraktların gıda formülasyonlarında kullanılmaları durumunda ürünün mikrobiyolojik ve fizikokimyasal bozulmalara karşı daha güvenilir ürün elde edilmesi ve kullanıldıkları ürüne bağlı olarak renk kayıplarının

minimize edilmesi noktasında katkı sağlayacağı düşünülmektedir. Toplam asitlik değerleri incelendiğinde; ultrasonik ekstraksiyon ile elde edilen ekstraktlarda daha düşük sonuçların elde edilmesinin nedeninin ultrasonik ekstraksiyon yöntemi ile bileşimde yer alan organik asitlerin parçalanması nedeniyle meydana geldiği düşünülmektedir.

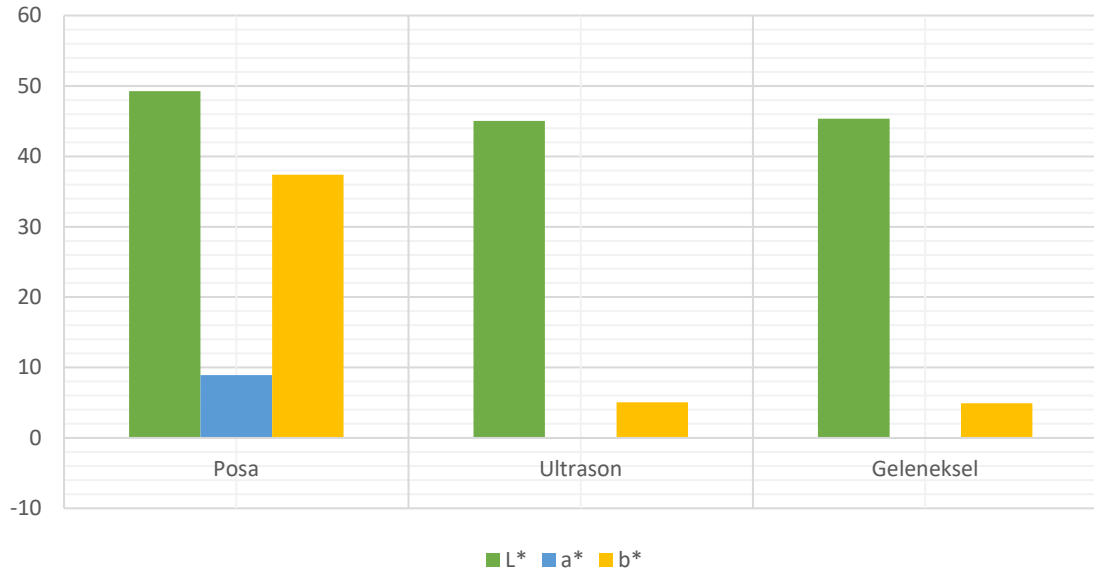
4.3.4. Renk değerlerinin belirlenmesi

Renk değerlerine (L^* , a^* , b^* , Hue açısı, ΔE , ΔC ,) ait sonuçlar Çizelge 4.9 ve Çizelge 4.10'da verilmiştir.

Çizelge 4.9. Ekstraktların L^* , a^* , b^* değeri

	L^*	a^*	b^*
Posa	49.28 (± 3.27) ^a	8.92 (± 1.73) ^a	37.37 (± 4.07) ^a
Ultrason	45.02 (± 0.03) ^b	-0.12 (± 0.03) ^b	5.04 (± 0.15) ^b
Geleneksel	45.34 (± 0.03) ^b	-0.13 (± 0.02) ^b	4.93 (± 0.26) ^b

± Verilere ait standart sapma; ^{a-b} Farklı harflere sahip ortalama değerler istatistiksel olarak birbirinden farklıdır ($p < 0.05$)



Şekil 4.9. Şeftali posası ekstraktlarına ait L^* , a^* , b^* değerleri

Ekstraksiyonlar sonucunda elde edilen örneklere ait renk değerleri (L^* değeri parlaklık/aydınlık, a^* değeri + ise kırmızı, - ise yeşil; b^* ise + ise sarı, - ise mavi) Çizelge 4.9'da verilmiştir.

Şeftali posası referans alındığında L^* parametresi ısıtılma işlemi etkisi ile azalmakta olup, şeftali ekstraktlarının parlaklığını yitirdiğini göstermektedir. Kontrol grubu örneklerinde L^* değerleri (49.28 ± 3.27) diğer uygulamalara kıyasla daha yüksek bulunmuş olup uygulanan ultrason ve geleneksel yöntemle elde edilen ekstraktlarda L^* değeri azalarak paralel değerler elde edilmiştir. Renk analizinde kontrol grubunda 8.92 olan a^* değeri, geleneksel ekstraksiyon ile elde edilen ekstrakt örneğinde -0.13 ± 0.02 ; ultrasonik ekstraksiyonda ise -0.12 ± 0.03 bulunmuştur. Şeftali posasında önemli renk parametresi olan sarı renk tonunu ifade eden b^* değeri, posada 37.37 ± 4.07 ile en yüksek değeri alırken bunu sırasıyla 5.04 ± 0.15 değeri ultrasonik ekstraksiyon ile elde edilen ekstrakt ve 4.93 ± 0.26 değeri ile geleneksel ekstraksiyon ile elde edilen ekstrakt örnekleri takip etmektedir.

Türkmen (2003), 6 şeftali ve 7 nektarin meyvesi çeşidinde yaptığı çalışmada L^* değerini 55.06-72.32 aralığında bulmuştur. Bayazit ve ark. (2012), L^* değerini en yüksek şeftali meyvesi çeşidinde (67.43) belirlerken en düşük değer 58.77 olduğunu bildirmiştir. Türkmen (2003), 6 şeftali ve 7 nektarin meyvesi çeşidinde yaptığı çalışmada L^* değerini 55.09-70.65 arasında bulmuştur.

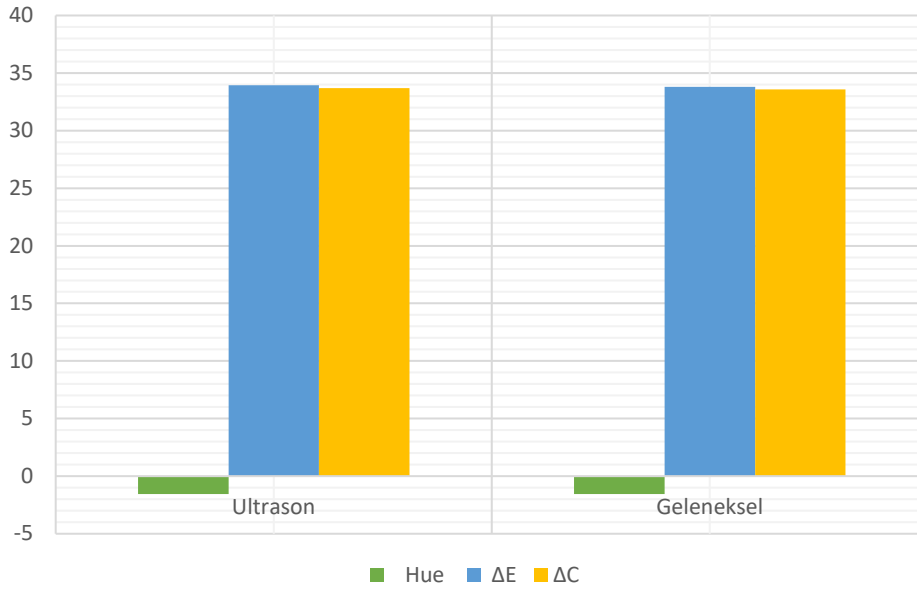


Şekil 4.10. Şeftali katı posa (Referans) örneği (1), Geleneksel ve ultrason uygulaması ile üretilen ekstrakt örnekleri (2)

Çizelge 4.10. Ekstraktların Hue açısı, ΔE ve ΔC değerleri

	Hue°	ΔE	ΔC
Ultrason	-1.54 (± 0.01) ^b	33.95(± 0.13) ^a	33.68(± 0.14) ^a
Geleneksel	-1.55 (± 0.00) ^b	33.80(± 0.03) ^a	33.57(± 0.03) ^a

± Verilere ait standart sapma; ^{a- b} Farklı harflere sahip ortalama değerler istatistiksel olarak birbirinden farklıdır (p<0.05)



Şekil 4.11. Şeftali posası ekstraktlarına ait Hue açısı, ΔE ve ΔC değerleri

Karotenoid ekstraktlarında, geleneksel ekstraksiyon yönteminde ΔE (toplam renk farkı) değeri 33.80 ± 0.03 ; ultrasonik ekstraksiyon yönteminde ise ΔE değeri 33.95 ± 0.13 bulunmuştur. ΔE değerlerinin ultrasonik yöntemle elde edilen ekstraktlarda az fark ile daha yüksek çıktığı belirlenmiştir. ΔC (doğgunluk) için, en yüksek değer 33.68 ± 0.14 ile ultrason, en düşük değer 33.57 ± 0.03 ile geleneksel yöntem ile elde edilen örnekte bulunmuştur. ΔC değeri yüksek çıkan ultrasonik yöntemle elde edilen örneklerin daha yüksek miktarda renk pigmenti içerdiği belirlenmiştir. Geleneksel ekstraksiyonda Hue açısı değeri ise -1.55 ± 0.00 ; ultrasonik ekstraksiyonda ise Hue açısı değeri -1.54 ± 0.01 bulunmuştur. Hue açısı, ΔE ve Croma değerleri bakımından istatistiksel bir fark yoktur ($p > 0.05$). Elde edilen ekstraktların renk değerleri açısından benzer özellikler taşıdıkları görülmektedir.

4.3.5. Şeftali posası ve ekstraktların karotenoid dağılımı

Şeftali posası, ultrason ve geleneksel yöntem ile üretilen ekstrakt örneklerinde karotenoid (lutein, β -karoten, likopen) dağılımına ait analiz sonuçları Çizelge 4.11’de verilmiştir. Şeftali posasında; β -karoten 204 $\mu\text{g}/100\text{g}$, likopen 127 $\mu\text{g}/100\text{g}$ ve lutein tespit edilememiştir. Ultrason ve geleneksel uygulaması ile elde edilen ekstraktlarda β -karoten, likopen ve lutein tespit edilememiştir. Bunun nedeni üretilen ekstraktlara konsantrasyon ya da kurutma uygulamalarının uygulanmaması nedeniyle mevcut konsantrasyonun analiz yönteminde yakalanamamasına bağlıdır.

Çizelge 4.11. Şeftali posası, geleneksel ve ultrason örneklerine ait ekstraktların karotenoid dağılımı

	β karoten ($\mu\text{g}/100\text{g}$)	Likopen ($\mu\text{g}/100\text{g}$)	Lutein ($\mu\text{g}/100\text{g}$)
Şeftali posası	204	127	-
Ultrason	-	-	-
Geleneksel	-	-	-

-Tespit edilemedi

Heinonen ve ark., (1989) tarafından yapılan çalışmada bazı meyvelerin karotenoid madde dağılımı araştırılmıştır. Şeftali meyvesine ait 0.086 mg/100g β -karoten, çok az α -karoten ve 0.014 mg/100g lutein tespit edilmiştir.

Hızlandırılmış solvent ekstraksiyonu, Tunus'ta yetiştirilen kaki (*Diospyros kaki* L.), şeftali (*Prunus persica* L.) ve kayısı (*Prunus armeniaca* L.) meyvelerinden karotenoid ekstraksiyonu için verimli bir ekstraksiyon işlemi olarak kullanılmıştır. Metanol ve tetrahidrofurandan oluşan ikili bir çözücü kullanarak, en iyi ekstraksiyon koşullarını 40 °C, 20:80 (v:v) metanol/tetrahidrofuran ve 5 dk ekstraksiyon süresi olarak uygulamıştır. Kullanılan yüksek ekstraksiyon basıncı (103 bar) nedeniyle; lutein, zeaksantin gibi ksantofilleri ve oldukça farklı polariteler sunan β -karoten gibi karotenleri elde etmek için en iyi koşullar belirlenmiştir. Şeftali meyvesinde lutein, zeaksantin, β -karoten için sırasıyla; $9.35 \pm 0.22 \mu\text{g/g}$ (%23.47), $7.85 \pm 1.01 \mu\text{g/g}$ (%19.71), $12.25 \pm 0.29 \mu\text{g/g}$ (%30.75) olarak tespit edilmiştir (Zaghdoudi ve ark., 2015).

Literatür verileri incelendiğinde, şeftali meyvesine ve posasına ait karotenoid dağılımı geniş yelpazede değişim göstermektedir. Posaya ait karotenoid içeriği değerlendirildiğinde ise en çok sırasıyla β -karoten, likopen ve lutein bulunmaktadır.

4.4. Enzim Destekli Ultrasonik Ekstraksiyon ile Elde Edilen Karotenoid Ekstraktının Limonata Üretiminde Kullanımı

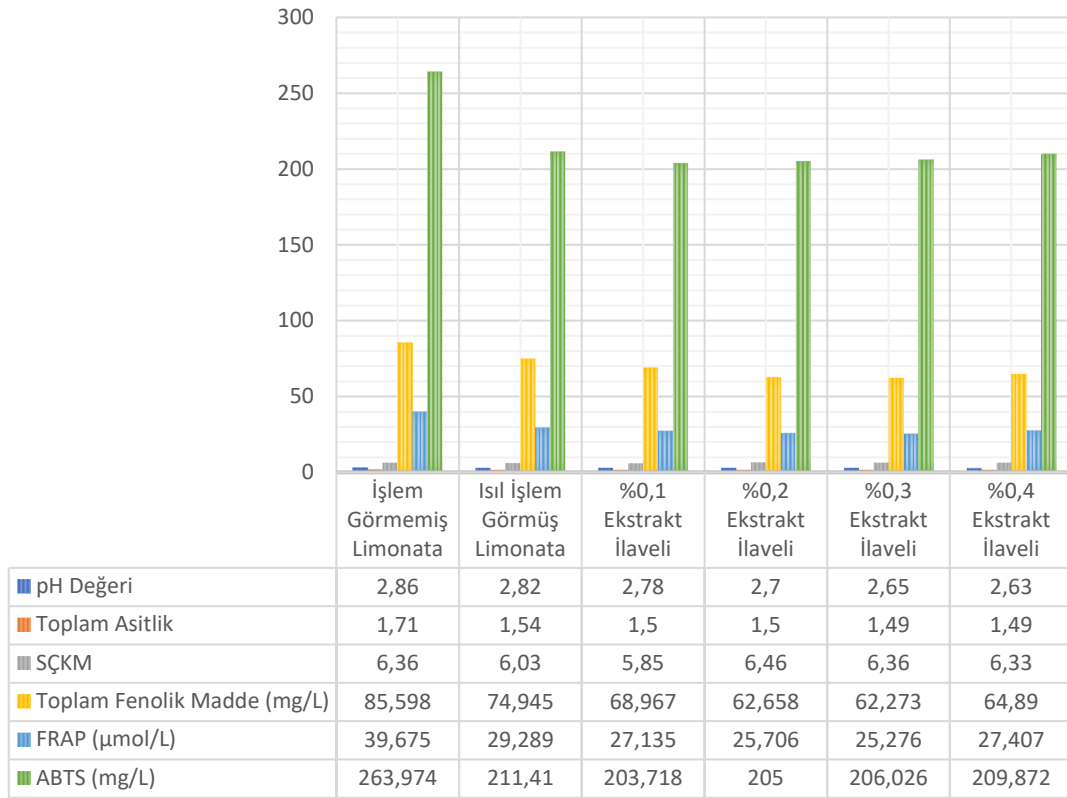
Farklı oranlarda ekstrakt (%0.1; %0.2; %0.3; %0.4) içeren limonata örneklerinde gerçekleştirilen kimyasal analizler ve elde edilen sonuçlar aşağıda verilmiştir.

Şeftali posası ekstraktlarının farklı oranlarda ilavesi ile üretimi gerçekleştirilen limonata örneklerine ait kimyasal analiz sonuçları Çizelge 4.12’de verilmiştir. Kontrol grubu (ısıl işlem görmüş limonata) ve farklı oranlarda ekstraktlar ile zenginleştirilerek üretilen limonatada; pH, toplam asitlik (%), suda çözünür kuru madde, toplam fenolik madde (mg/L), antioksidan kapasite analizlerine ait sonuçlar verilmiştir.

Çizelge 4.12. Kontrol grubu ve farklı oranlarda ekstrakt ilaveli limonatada yapılan analiz sonuçları

	pH	Titrasyon Asitliği (%)	SÇKM	T. Fenolik M.(mg/L)	ABTS(mg/L)	FRAP(μ mol/L)
Isıl İşlem Görmemiş L.	2.86 (± 0.01) ^a	1.71 (± 0.02) ^a	6.36 (± 0.06) ^b	86.598(± 4.58) ^a	263.974(± 4.24) ^a	39.675(± 0.43) ^a
Isıl İşlem Görmüş L.	2.82 (± 0.01) ^b	1.54 (± 0.00) ^b	6.03 (± 0.06) ^c	74.945(± 1.88) ^b	211.410(± 2.02) ^b	29.289(± 0.82) ^b
%0.1 Ekstrakt İlaveli L.	2.78 (± 0.01) ^c	1.50 (± 0.00) ^c	5.85 (± 0.08) ^d	68.967(± 2.41) ^{bc}	203.718(± 3.47) ^b	27.135(± 0.34) ^c
%0.2 Ekstrakt İlaveli L.	2.70 (± 0.01) ^d	1.50 (± 0.00) ^c	6.46 (± 0.00) ^a	62.658(± 0.05) ^c	205.000(± 2.03) ^b	25.706(± 0.58) ^d
%0.3 Ekstrakt İlaveli L.	2.65 (± 0.01) ^c	1.49 (± 0.01) ^c	6.36 (± 0.00) ^b	62.273(± 2.12) ^c	206.026(± 2.91) ^b	25.276(± 0.09) ^d
%0.4 Ekstrakt İlaveli L.	2.63 (± 0.01) ^f	1.49 (± 0.00) ^c	6.33 (± 0.06) ^b	64.890(± 1.05) ^c	209.872(± 3.20) ^b	27.407(± 0.31) ^c

$\pm$ Verilere ait standart sapma; ^{a- b} Farklı harflere sahip ortalama değerler istatistiksel olarak birbirinden farklıdır (p<0.05)



Şekil 4.12. Kontrol grubu ve farklı oranlarda ekstrakt ilaveli limonatada yapılan analiz sonuçları

Veriler incelendiğinde; en düşük pH değeri 2.63 ± 0.01 ile %0.4 ekstrakt ilaveli limonata örneğinde bulunurken; en yüksek değer 2.78 ± 0.01 ile %0.1 ekstrakt ilaveli limonata örneğinde bulunmuştur. İstatistiksel olarak incelendiğinde gruplar arasındaki farklılıklar önemli bulunmuştur ($p \leq 0.05$). İşlem görmemiş limonata ve ısıtılmış işlem görmüş ekstrakt ilavesiz limonata örneklerinde gerçekleştirilen analizler, örneklerin etkinliğini belirlemek için yapılmıştır. Titrasyon asitliği (%) değerleri incelendiğinde, tüm örnekler için ortalama toplam asitlik değeri ise %1.54 olarak belirlenirken en düşük titrasyon asitliği değeri 1.49 ± 0.00 ile %0.4 ekstrakt ilaveli limonata örneği ile; en yüksek titrasyon asitliği değeri 1.50 ± 0.00 ile %0.1 ekstrakt ilaveli limonata örneğinde elde edilmiştir.

Literatürde konu ile ilgili yapılan araştırmalardan; Altan ve Fenercioğlu (1989), taze sıkım limon suyu pH değerini ise 2.7, titrasyon asitliği değerini %7.49 (susuz sitrik asit cinsinden) olarak belirlemiştir. Farklı limon çeşitlerinden elde edilen limon sularına yönelik gerçekleştirilen bir başka çalışmada ise pH değerinin 2.31-2.51 arasında, titre

edilebilir asitliğin sitrik asit cinsinden %5.48-%7.14 arasında olduğu belirlenmiştir (Gonzalez ve ark., 2008a). Örneklerin pH değerleri ile titrasyon asitliği değerleri değerlendirildiğinde; asidik karakterli ekstrakt kullanımı nedeniyle ekstrakt oranında artışla beraber limonata örneklerinin pH değerlerinde bir azalma meydana geldiği tespit edilirken titrasyon asitliği değerlerinde belirgin bir değişim meydana getirmemiştir. Konu ile ilgili yapılan çalışmalarla kıyaslandığında pH değerleri için benzer sonuçlar elde edildiği ancak farklı çalışmalarda elde edilen titrasyon asitliği değerlerine kıyasla ekstrakt ilaveli limonata örneklerinde daha düşük değerlere sahip olduğu belirlenmiştir.

Limonata örneklerinin SÇKM (%) içeriklerinin verildiği Şekil 4.12 incelendiğinde; en düşük SÇKM içeriği 5.85 ± 0.08 ile %0.1 ekstrakt ilaveli limonata örneğinde, en yüksek ise 6.46 ± 0.00 ile %0.2 ekstrakt ilaveli limonata örneğinde belirlenmiştir. Ekstrakt ilaveli limonatalara ait SÇKM (%) içeriklerinde yapılan istatistiki değerlendirmede farklı gruplar içerisinde yer alan örnekler arasında suda çözünür kuru madde değerlerindeki farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p \leq 0.05$).

Şeftali posası ekstraktlarının ilavesi ile üretilen limonata örneklerinin toplam fenolik madde içeriklerinin verildiği Çizelge 4.12 incelendiğinde, en düşük toplam fenolik madde içeriği 62.273 ± 2.12 mg/L ile %0.3 ekstrakt ilaveli limonata örneğinde bulunurken, en yüksek toplam fenolik madde içeriği 68.967 ± 2.40 mg/L ile %0.1 ekstrakt ilaveli limonata örneğinde belirlenmiştir. Isıl işlem ile muamele edilmiş ve ısıl işlem ile muamele edilmemiş limonata örnekleri kıyaslandığında ısıl işlemle beraber toplam fenolik madde konsantrasyonlarında kayıp meydana geldiği belirlenmiştir.

Literatürde limonata ile ilgili yapılan çalışmalardan Guimaraes ve ark., (2010) tarafından üç farklı turunçgil meyvesinde (greyfurt, tatlı portakal ve limon) gerçekleştirilen bir çalışmada en yüksek fenolik madde miktarı portakal suyunda (12.41 ± 0.07 mg GAE/g ekstrakt) tespit edilirken, bu değeri sırasıyla limon suyu (11.17 ± 0.05 mg GAE/g ekstrakt) ve greyfurt suyu (9.46 ± 0.17 mg GAE/g ekstrakt) izlemiştir. Yapılan diğer bir çalışmada ise Gonzalez Molina ve ark. (2009), farklı oranlarda (%25, %50, %75 ve %100) limon suyu ve nar suları karıştırılarak fonksiyonel içecekler üretmiştir. İçeceklerde toplam fenolik madde değerinin %100 nar suyunda en yüksek (243.89 mg Gallik asit/100 mL), %100 limon suyunda ise en düşük (72.41 mg

Gallik asit/100mL) olduğu bulunmuştur. Nar suyu ve limon suyu karışımıyla elde edilen örneklerde, içeceklerin içermiş oldukları nar suyu oranına paralel olarak fenolik madde miktarlarının da yüksek bulunduğu bildirilmiştir. Bu çalışmalar dikkate alındığında tez kapsamında üretilen ekstrakt ilaveli limonata örneklerinin toplam fenolik madde miktarının yüksek değerlerde olduğu sonucuna varılmıştır. İlave edilen ekstraktların limonatayı fenolik maddeler açısından zenginleştirmek için de kullanılabileceği düşünülmektedir. Ancak depolama aşamasında ortaya çıkabilecek turuncgil sularında görülen gecikmiş acılaştırmanın duysal açıdan sorun yaratıp yaratmayacağını ise raf ömrü çalışmaları kapsamında incelenmesi zorunluluğu vardır.

Antioksidan aktivite tayin metotları çalışılan sistemdeki örnek, reaksiyon koşulları, konsantrasyonlar ve analiz edilecek örneğin yapısı gibi çeşitli parametrelere bağlı olduğundan, bir örneğin antioksidan aktivitesini tayin etmek için standart bir metot bulunmamaktadır. Bu yüzden antioksidan kapasitenin sağlıklı olarak değerlendirilebilmesi amacıyla, farklı metotlar kullanılmıştır. Troloks eşdeğeri antioksidan kapasitesi, FRAP yöntemiyle yapılan antioksidan kapasite analiz sonuçları incelendiğinde; en düşük antioksidan kapasite 25.276 ± 0.09 $\mu\text{mol/L}$ ile %0.3 ekstrakt ilaveli limonata örneğinde bulunurken, en yüksek antioksidan kapasite 27.407 ± 0.31 $\mu\text{mol/L}$ ile %0.4 ekstrakt ilaveli limonata örneğinde saptanmıştır. Ekstrakt ilaveli limonata örneklerinde FRAP yöntemi ile yapılan analizlerin antioksidan aktivite değerine ilişkin sonuçlara göre gruplar arasındaki farklılıklar önemli bulunmuştur ($p \leq 0.05$). ABTS yöntemi ile yapılan analizler incelendiğinde; en düşük antioksidan kapasite 203.718 ± 3.47 mg/L ile %0.1 ekstrakt ilaveli limonata örneğinde bulunurken, en yüksek antioksidan kapasite 209.872 ± 3.20 mg/L ile %0.4 ekstrakt ilaveli limonata örneğinde saptanmıştır. Bu durum arzu edilen bir sonuçtur. Şeftali posası ekstraktlarının yapısındaki bileşenlerin limonataya geçmesiyle örneklerin toplam antioksidan madde içeriğinde artış sağlanmıştır.

Barreca ve ark. (2011), yaptıkları bir çalışmada taze Akdeniz limonlarından elle sıkılarak elde edilen ham limon sularında antioksidan aktivite tayinleri DPPH, FRAP ve ABTS yöntemleri kullanılarak gerçekleştirilmiştir. ABTS yöntemiyle gerçekleştirilen antioksidan aktivite değeri yüksek (1443 ± 30 mM Troloks) bulunurken, DPPH ve FRAP yöntemleri ile elde edilen sonuçlar daha düşük (DPPH: 261 ± 9 mM Troloks, FRAP: 318 ± 8

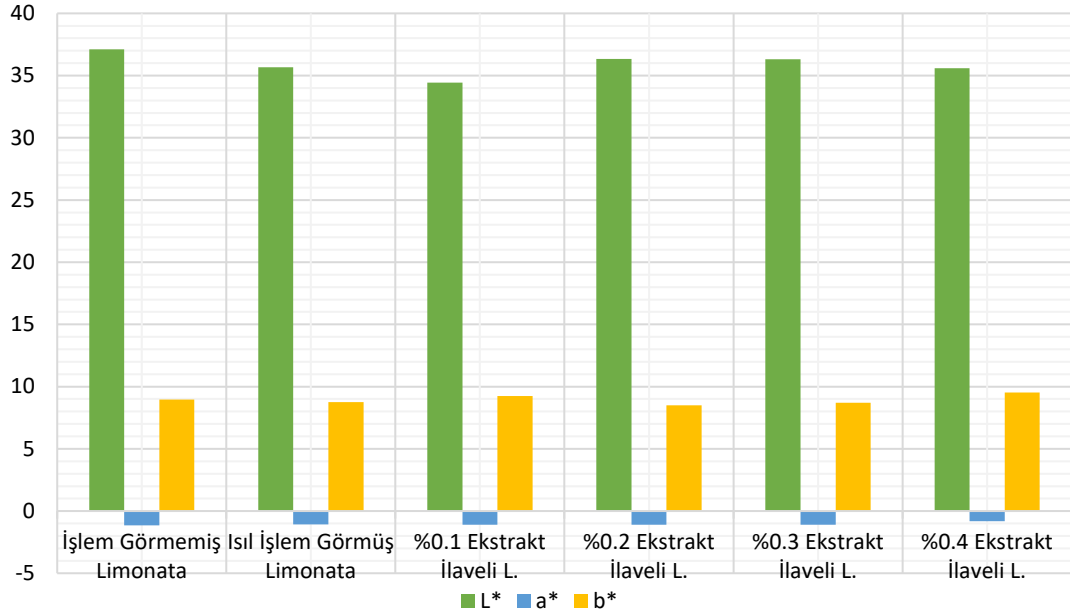
mM Troloks) bulunmuştur. Örnekler antioksidan kapasite yöntemleri açısından incelendiğinde, FRAP yönteminden ziyade ABTS yöntemi ile daha iyi sonuç verdiği kanaatine varılmıştır. Toplam fenolik madde ve antioksidan kapasite değerleri birlikte değerlendirildiğinde analiz hatası nedeniyle oluşmuş olabileceği düşünülen istisnai durumlar hariç tutulmak üzere limonata örneklerinde en yüksek toplam fenolik madde ve antioksidan kapasite analiz değerlerine %0.4 oranında ekstrakt ilavesi ile ulaşıldığı tespit edilmiştir.

Belirlenen optimum noktada, ultrasonik ekstraksiyon yöntemleriyle elde edilen ekstrakt ilaveli limonata içeceği için renk değerlerine (L^* , a^* , b^* , Croma değeri, Hue açısı, ΔE , ΔC ,) ait sonuçlar Çizelge 4.13 ve Şekil 4.13’de verilmiştir.

Çizelge 4.13. Ekstrakt ilaveli limonata örneklerine ait renk değerleri

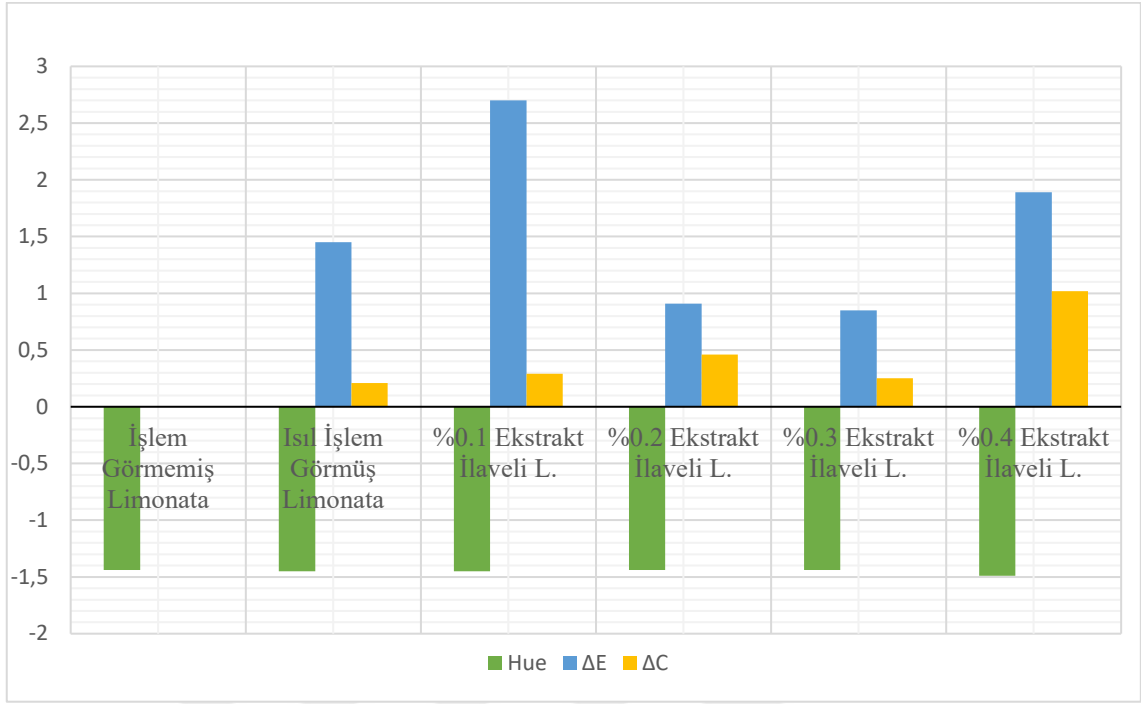
	L^*	a^*	b^*
İşlem Görmemiş L.	37.11 (± 0.03) ^a	-1.15 (± 0.09) ^a	8.95 (± 0.03) ^{bc}
Isıl İşlem Görmüş L.	35.68 (± 0.05) ^c	-1.07 (± 0.06) ^a	8.76 (± 0.07) ^{bc}
%0.1 Ekstrakt İlaveli L.	34.43 (± 0.08) ^d	-1.11(± 0.04) ^a	9.24 (± 0.06) ^{ab}
%0.2 Ekstrakt İlaveli L.	36.33 (± 0.02) ^b	-1.10(± 0.06) ^a	8.50 (± 0.03) ^c
%0.3 Ekstrakt İlaveli L.	36.30 (± 0.05) ^b	-1.10 (± 0.04) ^a	8.71 (± 0.01) ^{bc}
%0.4 Ekstrakt İlaveli L.	35.59 (± 0.72) ^c	-0.81 (± 0.63) ^a	9.53 (± 0.80) ^a

± Verilere ait standart sapma; ^{a- b} Farklı harflere sahip ortalama değerler istatistiksel olarak birbirinden farklıdır (p<0.05)



Şekil 4.13. Limonata örneklerine ait L*, a*, b* değerleri

Limonata örneklerine uygulanan renk analizi sonucunda sahip oldukları renkleri sayısal olarak belirlenmiştir. Parlaklıktan koyuluğa gidişi ifade eden L* değeri sonuçları incelendiğinde 36.33 ± 0.02 ile en yüksek L* değerine sahip olan %0.2 ekstrakt ilaveli örneği en parlak örnek olarak bulunurken, 34.43 ± 0.08 ile en düşük L* değerine %0.1 ekstrakt ilaveli örneğin ise parlaklığın daha düşük olduğu ve daha mat bir renge sahip olduğu sonucuna varılmıştır. Bütün örnekler için ortalama L* değeri 35.66 olarak belirlenmiştir. Örneklerin L* değeri arasındaki farklılıklar istatistik olarak önemli bulunmuştur ($p \leq 0.05$). Pozitifken kırmızılığı, negatifken yeşilliği ifade eden a* değerlerine ait sonuçlar incelendiğinde, en düşük a* değeri -0.81 ± 0.63 ile %0.4 ekstrakt ilaveli örnekte ölçülmüştür, en yüksek -1.11 ± 0.04 ile %0.1 ekstrakt ilaveli örneğinde bulunmuştur. Bütün örnekler için ortalama a* değeri -1.03 olarak belirlenmiştir. Pozitifken sarılığı negatifken maviliği gösteren b* değeri için, en yüksek değer 9.53 ± 0.80 ile %0.4 ekstrakt ilaveli örnekte, en düşük 8.50 ± 0.03 ile %0.2 ekstrakt ilaveli örnekte bulunmuştur. Bütün örnekler için ortalama +b* değeri 8.99 olarak belirlenmiştir. Örneklerin b* değeri arasındaki farklılıklar istatistik olarak önemli bulunmuştur ($p \leq 0.05$). Sonuçlar incelendiğinde ekstrakt oranındaki artışla limonata örneklerinin sarı renk tonlarının ve bir miktarda parlaklıklarının arttığı tespit edilmiştir.



Şekil 4.14. Limonata örneklerine ait Hue açısı, ΔE ve ΔC değerleri

Çizelge 4.14. Ekstraktların Hue açısı, ΔE ve ΔC değerleri

	Hue	ΔE	ΔC
Isıl İşlem Görmüş L.	-1.45 (±0.01) ^a	1.45 (±0.04) ^c	0.21 (±0.09) ^c
%0.1 Ekstrakt İlaveli L.	-1.45 (±0.00) ^a	2.70 (±0.08) ^a	0.29 (±0.05) ^c
%0.2 Ekstrakt İlaveli L.	-1.44 (±0.01) ^a	0.91 (±0.02) ^d	0.46 (±0.05) ^b
%0.3 Ekstrakt İlaveli L.	-1.44 (±0.00) ^a	0.85 (±0.04) ^d	0.25 (±0.00) ^c
%0.4 Ekstrakt İlaveli L.	-1.49 (±0.01) ^a	1.89 (±0.5) ^b	1.02 (±0.07) ^a

± Verilere ait standart sapma; ^{a- b} Farklı harflere sahip ortalama değerler istatistiksel olarak birbirinden farklıdır (p<0.05)

ΔE (toplam renk farkı) için en yüksek değer 2.7±0.08 ile %0.1 ekstrakt ilaveli örnek, en düşük değer 0.85±0.04 ile %0.3 ekstrakt ilaveli örnekte bulunmuştur. ΔC (doygunluk) için, en fazla değer 1.02±0.07 ile %0.4 ekstrakt ilaveli, en düşük değer 0.25±0.00 ile %0.3 ekstrakt ilaveli örnekte bulunmuştur. Örneklerin ΔE ve ΔC değeri arasındaki farklılıklar istatistiki olarak önemli bulunmuştur (p≤0.05). Hue açısı değeri ise ekstrakt ilaveli tüm limonata gruplarında birbirine yakındır ve aralarındaki farklılık istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur (p>0.05). Isıl işlem görmemiş limonata

örneklerinde yapılan analizler karşılaştırıldığında ısıt işlemin etkisi ile L* ve a* değerlerine ait renk kayıpları gözlemlenirken b* değerine ait kayıp görünmemektedir. Ekstrakt ilavesi ile gruplar arasında b* değerlerinde farklılıklar istatistiki olarak önemli bulunmuştur ($p \leq 0.05$). Konsantrasyon miktarının artırılması ile b* değerini de artırdığı ve renk kayıplarını engellemede %0.4 ekstrakt ilavesinin başarılı olabileceği ön görülmektedir.



5. SONUÇ

Endüstriyel atıkların katma değeri yüksek ürünlere dönüştürülerek geri kazanımı günümüzün en önemli araştırma konuları arasında yer almaktadır. Şeftalinin çeşitli ürünlere işlenmesi sırasında atık olarak açığa çıkan posanın çeşitli fonksiyonel ürünlere dönüşümünü amaçlayan bu tez çalışmasında çevre dostu yöntemlerden yararlanılmıştır. Bu anlamda tez kapsamında geleneksel ve ultrasonik ekstraksiyon yöntemi ile cevap yüzey yöntemi kullanılarak optimum üretim koşulları belirlenerek şeftali posasından karotenoid ekstraksiyonu ile doğal renk maddesi üretimi gerçekleştirilmiştir. Cevap yüzey yönteminde örnek miktarı, enzim oranı, ekstraksiyon sıcaklığı ve süre bağımsız değişkenler olarak seçilirken; toplam karotenoid ve renk b^* değerleri yanıt olarak seçilerek optimum noktalar belirlenmiştir. Yapılan çalışmada en yüksek karotenoid içeriği kazanımında ultrasonik yöntemin geleneksel yöntemle göre daha etkili olduğu ve ultrason uygulanan örneklerin uygulanmayan örneklere göre karotenoid içeriklerinin belirgin şekilde arttığı ve %100'ün üzerinde bir gerçekleşme oranı ile en iyi sonuçları verdiği bulunmuştur. Ekstraksiyon işlemi için uygulanan yöntemlerin renk b^* değerine etkisi incelendiğinde ultrason uygulamasının şeftali posasında sarı tonu ifade eden b^* değeri üzerine etkili olduğu saptanmıştır. Optimum koşullarda elde edilen ekstraktlar gerçekleştirilen fizikokimyasal analizlerin ardından laboratuvar koşullarında belirlenen reçeteye uygun olarak üretilen limonata örneklerine farklı oranlarda ilave edilerek renklendirici olarak kullanım olanakları araştırılmıştır.

Belirlenen çalışma koşullarında geleneksel ve ultrasonik ekstraksiyon yöntemleriyle elde edilen ekstraktların toplam fenolik madde, antioksidan kapasite (ABTS ve FRAP), pH, toplam asitlik, suda çözünür kuru madde, renk değerleri ve karotenoid dağılımı belirlenmiştir. Gerçekleştirilen analizler sonucunda; toplam fenolik madde ve antioksidan aktivite değerlerinin kullanılan ekstraksiyon yöntemine bağlı olarak değiştiği tespit edilmiştir. En yüksek toplam fenolik madde ve toplam antioksidan aktivite değerlerine ultrasonik yöntem ile elde edilen ekstraktlarda ulaşılmıştır. pH ve titrasyon asitliği değerleri bazında incelendiğinde kontrol grubunun pH değeri ile ultrasonik ve geleneksel yöntemle elde edilen ekstrakt örneklerinin pH değeri arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunurken, ultrason ve geleneksel yöntem kendi içerisinde değerlendirildiğinde bir fark tespit edilememiştir ($p>0.5$). Ekstraktların

titrasyon asitliği değerlerinin pH değerleri ile uyumlu olduğu ve benzer istatistiksel sonuçlar elde edilmiştir. Ekstraktların suda çözünür kuru madde miktarları değerlendirildiğinde 4.13-11.0 briks değeri arasında değişmektedir. Optimum noktalarda gerçekleştirilen işlemler sonucunda elde edilen veriler incelendiğinde ultrasonik ekstraksiyonla elde edilen ekstrakt örneklerinin suda çözünür kuru madde değerlerinin, geleneksel yöntem ile elde edilen örneklerle kıyasla daha düşük olduğu görülmektedir.

Literatür taraması sonucunda limon suyu konsantresine pek çok bitki ekstraktı ilave edilerek analizler gerçekleştirilmiş olmasına rağmen şeftali posasından üretilen ekstrakt ilavesine ait herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Çalışmanın özgünlüğü açısından değerlendirildiğinde, limonatada gerek ürün kalitesinde gerek ise tüketici tercihinde önemli rol oynayan renkte ısıtma işlemi ile beraber renk kayıpları gerçekleşmektedir. Bu anlamda renk kayıplarını minimize etmede şeftali posasından doğal dostu yöntemler ile elde edilen doğal yapıda ekstrakt kullanımının ürüne etkisi araştırılmıştır. Şeftali posası karotenoid ekstraktlarının hem renklendirici hem de doğal koruyucu özellikleri yanında asidik karakterleri nedeniyle de limonatada kullanılabilecekleri düşünülerek limonata örneklerine farklı oranlarda ilave edilmiştir. Limonata örneklerinin pH değerleri ile titrasyon asitliği değerleri değerlendirildiğinde; asidik karakterli ekstrakt kullanımı nedeniyle ekstrakt oranında artışla beraber limonata örneklerinin pH değerlerinde bir azalma meydana geldiği tespit edilirken titrasyon asitliği değerlerinde belirgin bir değişim meydana getirmemiştir. SÇKM (%) içerikleri incelendiğinde; en düşük SÇKM içeriği 5.85 ± 0.08 ile 0.1 ekstrakt ilaveli limonata örneğinde, en yüksek ise 6.46 ± 0.00 ile 0.2 ekstrakt ilaveli limonata örneğinde tespit edilmiştir. Tez kapsamında üretilen ekstrakt ilaveli limonata örneklerinin toplam fenolik madde ve antioksidan kapasite değerlerinin ekstrakt oranının artışı ile beraber arttığı belirlenmiştir. Renk analiz sonuçları incelendiğinde ise ekstrakt oranındaki artışla limonata örneklerinin sarı renk tonlarının ve bir miktarda parlaklıklarının arttığı tespit edilmiştir. Böylece elde edilen ekstraktların gıda ürünlerinde kullanımına yönelik olarak endüstriyel limonata üretiminde uygulanan ısıtma işlemi sonrasında ortaya çıkan renk kayıplarının engellenmesi amacıyla kullanımı ve ürünün fonksiyonel özelliklerine katkısı değerlendirilmiştir. Ancak depolama koşullarından kaynaklanan değişimler ve duyu değerlendirmelerle de ilgili olarak kapsamlı çalışmaların yapılması gerekmektedir.

Bu çalışma, şeftali posasının ultrasonik ekstraksiyon koşullarının optimizasyonu ile meyve sebze endüstrisine sağlayacağı katkı açısından önemlidir. Ayrıca çalışma boyunca, şeftali posasının ekstraksiyonunda geleneksel ve ultrasonik yöntemlerin karşılaştırılması yapılmış olup elde edilen veriler meyve sebze işleme sanayine uygun ekstraksiyon yöntem ve koşullarının oluşturulması açısından önemlidir. Bulgular ve literatürdeki veriler doğrultusunda, ultrasonik işlem uygulanarak elde edilen ekstraktların; ekstraksiyon kapasitelerinin belirgin şekilde yüksek, toplam fenolik içerik ve antioksidan kapasite açısından daha yüksek olması gibi avantajları söz konusudur. Geleneksel ve ultrason uygulaması ile üretilen ekstraktların renk değerlerinde belirgin bir şekilde ayırım gözlenmemesi dezavantaj olarak gösterilirken b^* değeri açısından ekstrakt ilavesinin başarısı söz konusudur. Ayrıca elde edilen verilerin ultrason uygulamasının endüstriyel olarak yaygınlaşması amacıyla endüstriyel ölçekteki ekipmanlarla doğrulanmasının faydalı olacağı düşünülmektedir.

Elde edilen ekstraktların asidik karakterde olduğu düşünüldüğünde, bu ekstraktların asidik yapıları ile uyumlu gıda formülasyonlarında kullanılmaları durumunda ürün korunumuna ve renk kayıplarının minimize edilmesi noktasında ürüne katkı sağlayacağı düşünülmektedir. Bu nedenle elde edilen ekstraktların ısıl stabiliteleri başta olmak üzere ışık dayanımları ve depolama süresince gıdada oluşabilecek değişimlerin de belirlenmesi gerekmektedir. Ek olarak enzim destekli ultrasonik ekstraksiyon yolu ile üretilen ekstraktların konsantre edilerek ya da liyofilize edilerek gıdalarda doğa dostu yöntemlerle üretilmiş doğal bir renklendirici olarak kullanılması halinde daha başarılı sonuçların elde edileceği açıktır.

Gıda atıklarının değerlendirilmesi ekonomik açıdan önem arz etmesinin yanı sıra gıdaların zenginleştirilmesi ve içeriğinde bulunan değerli bileşenlerin insan metabolizmasına dahil edilmesi nedeniyle beslenme ve sağlık açısından da ilave bir fayda sağlamaktadır. Ayrıca, bu biyoaktif moleküller, çeşitli gıda maddelerine değer katmak ve beslenme fonksiyonlarını iyileştirmek için, ayrıca kullanılan konsantrasyona bağlı olarak renklendirici olarak da uygulanmaktadırlar. Ayrıca, pratik ve ekonomik bir yöntem olan ultrasonik yöntem kullanılarak meyve ve sebze endüstrisi atıklarının değerlendirilmesi mümkün görülmektedir.

6. KAYNAKLAR

- Adadi, P., Barakova, N. V., Krivoschapkina, E. F., 2018. Selected methods of extracting carotenoids, characterization, and health concerns: A review. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 66(24), 5925–5947. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.8b01407>.
- Adil, I.H., Çetin, H.I., Yener, M.E., Bayındırlı, A., 2007. “Subcritical (Carbon Dioxide + Ethanol) Extraction of Polyphenols from Apple and Peach Pomaces, and Determination of The Antioxidant Activities of The Extracts”, *The Journal of Supercritical Fluids*, 43(1), 55–63.
- Aflakı N., 2012. Optimization of carotenoid extraction in peel and flesh of cantaloupe (Cucumis melo l.) with ethanol solvent. Laval University, Quebec.
- Akyıl, S., 2017. Mikroalglerden Elde Edilen Doğal Renk Maddesi Fukoksantin Farklı Yöntemler ile Ekstraksiyonu, Enkapsülasyonu, Model Gıda Sistemleri İçinde Kullanımı ve Stabilitésinin Belirlenmesi. Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, İzmir.
- Albuquerque, B. R., Pinela, J., Barros, L., 2020. Anthocyanin-rich extract of jaboticaba epicarp as a natural colorant: Optimization of heat- and ultrasound-assisted extractions and application in a bakery product. *Food Chem*, 316, Article 126364. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.126364>.
- Alfonsi, K., Colberg, J., Dunn, P.J., Fevig, T., Jennings, S., Johnson, T.A., Stefaniak, M., 2008. Green chemistry tools to influence a medicinal chemistry and research chemistry-based organisation. *Green chemistry*, 10 (1), pp. 31-36, 10.1039/B711717E.
- Al Jitan, S., Alkhoori, S.A., Yousef, L.F., 2018. Chapter 13-phenolic acids from plants: extraction and application to human health. In *Studies in Natural Products Chemistry*. Edited by Atta ur R. Elsevier; 2018:389-417.
- Alos, E., Roca, M., Iglesias, D.J., Mmguez Mosquera, M.I., Damasceno, C.M.B., Thannhauser, T.W., Rose, J.K.C., Talon, M., Cercos, M., 2008. An evaluation of the basis and consequences of a stay-green mutation in the navel orange citrus mutant using transcriptomic and proteomic profiling and metabolite analysis. *Plant Physiol*. 147, 1300–1315.
- Altan, A., Fenercioğlu, H., 1989. Limon Suyunun Ev Koşullarında Pastörize Edilerek Dayandırılması Olanağı Üzerine Bir Araştırma. *Gıda*, 141(5): 321-328.
- Altay, K., 2016. Iğdır Ekolojik Koşullarında Yetiştirilen Bazı Şeftali Genotiplerinin Fenolojik, Pomolojik ve Kimyasal Özelliklerinin Tespiti. Iğdır Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Iğdır.
- Altemimi, A., Watson, D.G., Choudhary, R., Dasari, M.R., Lightfoot, D.A., 2016. “Ultrasound Assisted Extraction of Phenolic Compounds from Peaches and Pumpkins”, *Plosone*, 11(2), 1-20.
- Amado, I. R., Franco, D., Sanchez, M., Zapata, C., & Vazquez, J. A., 2014. Optimization of antioxidant extraction from Solanum tuberosum potato peel waste by surface response methodology. *Food Chemistry*, 165, 290–299.
- Ameer, K., Shahbaz, H.M. and Kwon, J.H., 2017. Green extraction methods for polyphenols from plant matrices and their byproducts: a review, *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 16(2):295-315pp.

- Amorim Carrilho, K. T., Cepeda, A., Fente, C., Regal, P., 2014. Review of methods for analysis of carotenoids. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 56, 49–73.
- Anonim, 1991. Minolta CR-300 Chromameter Operator'S Instruction Manual. Minolta-Crop., Ramsey, NJ.
- Anonim, AOAC., 1995. Official Methods Of Analysis Of AOAC International, 16th Ed.
- Anonim, 2018. Meyve Suyu Endüstrisi Derneği (MEYED) Türkiye Meyve Suyu vb. Ürünler Sanayi Raporu 2011. www.meyed.org.tr (Erişim tarihi: 11.04.2018).
- Anonim, 2020. <https://data.tuik.gov.tr/Kategori/GetKategori?p=tarim-111&dil=1> (30.03.2020).
- Arabacıoğlu, R., 2017. Ceviz Kabuğunun Boya Yapımında Kullanılabilirliği: Atık Değerlendirme Çalışması. T.C. Niğde Ömer Halis Demir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Çevre Mühendisliği Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Niğde.
- Argun, H., Dao, S., 2017. Bio-hydrogen production from waste peach pulp by dark fermentation: effect of inoculum addition. *Int. J. Hydrogen Energy* 42, 2569–2574.
- Asami, D.K., Hong, Y.J., Barrett, D.M. and Mitchell, A.E., 2003. Processing-induced changes in total phenolics and procyanidins in clingstone peaches. *J. of the Science of Food and Agric.*, 83, 56-63.
- Ashokkumar, M., 2015. Applications of ultrasound in food and bioprocessing, *Ultrasonics sonochemistry*, 25:17-23pp.
- Ayala-Zavala, J. F., Vega-Vega, V., Rosas-Domínguez, C., Palafox-Carlos, H., Villa Rodriguez, J. A., Siddiqui, M. W., Gonzalez-Aguilar, G. A., 2011. Agro industrial potential of exotic fruit byproducts as a source of food additives. *Food Research International*, 44(7), 1866-1874. <http://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.02.021>.
- Azmir, J., Zaidul, I.S.M., Rahman, M.M., Sharif, K.M., Mohamed, A., Sahena, F., Jahurul, M.H.A., Ghafoor, K., Norulaini, N.A.N., Omar, A.K.M., 2013. Techniques for Extraction of Bioactive Compounds from Plant Materials: A Review. *J. Food Eng.*, 117 (4): 426-436.
- Awad, T. S., Moharram, H. A., Shaltout, O. E., Asker, D., & Youssef, M. M., 2012. Applications of ultrasound in analysis, processing and quality control of food: A review. *Food Research International*, 48(2), 410–427. <https://doi.org/10.1016/j.foods.2012.05.004>.
- Baker, K. G., Robertson, V. J., Duck, F. A., 2001. A review of therapeutic ultrasound: Biophysical effects. *Physical Therapy*, 81(7), 1351–1358. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11444998>.
- Baltacıoğlu, H., Şahin, E.M., Karadağ, E.D., 2019. Şeftali Posasından Ultrason ve Mikrodalga Destekli Ekstraksiyon Yöntemleriyle Fenolik Bileşiklerin Eldesi. *Ömer Halisdemir Üniversitesi Mühendislik Bilimleri Dergisi*, Cilt 8, Sayı 2, 875-881.
- Barreca, D., Bellocco, E., Caristi, C., Leuzzi, U. and Gattuso, G., 2011, Kumquat (*Fortunella japonica* Swingle) juice: Flavonoid distribution and antioxidant properties, *Food Research International*, 44, 2190–2197.
- Barreira, J. C. M., Arraibi, A. A., & Ferreira, I. C. F. R., 2019. Trends in Food Science & Technology Bioactive and functional compounds in apple pomace from juice and cider manufacturing: Potential use in dermal formulations. *Trends in Food Science & Technology*, 90, 76–87. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.05.014>.

- Barry, C.S., 2009. The stay-green revolution: recent progress in deciphering the mechanism of chlorophyll degradation in higher plants. *Plant Sci.* 176, 325–333.
- Bartley, G. E., Scolnik, P., 1995. Plant carotenoids: pigments for photoprotection, visual attraction, and human health. *The Plant Cell.* 7(7), 1027-1038.
- Bayazit S., İmrak B. ve Küden A., 2012. Erkenci Şeftali ve Nektarin Çeşitlerinde Uç Alma Uygulamalarının Verim ve Meyve Kalitesine Etkileri, M.K.Ü. Ziraat Fakültesi Dergisi (ISSN 1300-9362), 17(1): 23-31.
- Bechtold, T., Mussak, R., 2009. Colours in Civilizations of the World and Natural Colorants: History under Tension. *Handbook of Natural Colorants*. Editor: Stevens, C.V., United Kingdom: A John Wiley and Sons, Ltd., Publication.
- Belitz, H. D., Grosch, W., Schieberle, P., 2009. *Food chemistry*, Springer Berlin Heidelberg, (1-1070).
- Benmoussa, H., Farhat, A., Romdhane, M., Bouajila, J., 2019. Enhanced solvent-free microwave extraction of *Foeniculum vulgare* Mill. essential oil seeds using double walled reactor. *Arab J Chem* 2019, 12:3863-3870.
- Bentoa, C., Alvesa, G., Silvaa, B., Silvaa. B., 2018. Assessing the phenolic profile, antioxidant, antidiabetic and protective effects against oxidative damage in human erythrocytes of peaches from Fundao. *Journal of Functional Foods* 43 (2018) 224233.
- Benzie, I. F. F. and Strain, J. J., 1996. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: The FRAP assay. *Analytical Biochemistry*, 239, 70–76.
- Berland, H., Albert, N. W., Stavland, A., Jordheim, M., McGhie, T. K., Zhou, Y., Jordan, B. R., 2019. 1289 Auronidins are a previously unreported class of flavonoid pigments that challenges when 1290 anthocyanin biosynthesis evolved in plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 116(40), 20232-20239.
- Bermudez Aguirre, D., 2017. *Ultrasound: Advances in food processing and preservation* (1st ed.). Cambridge: Academic Press.
- Bhushan, S., Kalia, K., Sharma, M., Singh, B., Ahuja, P. S., 2008. Processing of Apple Pomace for Bioactive Molecules. *Critical Reviews in Biotechnology*, 28(4), 285–296. <https://doi.org/10.1080/07388550802368895>.
- Bigliardi, B., Galati, F., 2013. Innovation trends in the food industry: The case of functional foods. *Trends in Food Science and Technology*, 31(2), 118-129. <http://doi.org/10.1016/j.tifs.2013.03.006>.
- Blanco, P., Sieiro, C., Villa, T. G., 1999. Production of pectic enzymes in yeasts. *FEMS Microbiology Letters*, 175, 1-9.
- Bohn, T., 2018. Metabolic fate of bioaccessible and nonbioaccessible carotenoids. In *Non-extractable Polyphenols and Carotenoids: Importance in Human Nutrition and Health*. Edited by Saura-Calixto F, Perez-Jimenez J. The Royal Society of Chemistry; 165-200.
- Borovsky, Y., Paran, I., 2008. Chlorophyll breakdown during pepper fruit ripening in the chlorophyll retainer mutation is impaired at the homolog of the senescence-inducible stay-green gene. *Theory App. Genet.* 117, 235–240.
- Britton, G., 1995. Structure and properties of carotenoids in relation to function. *Faseb J*, 9:1551-1558, (1995).
- Calvo, C., Salvador, A., 2000. Use of Natural Colorants in Food Gels. Influence of Composition of Gels on Their Colour and Study of Their Stability During Storage, *Food Hydrocolloids*, 14(5), 439-443.

- Canalisa M.S., Baronia M.V., Leona A.E., Ribottaa P.D., 2020. Effect of peach puree incorporation on cookie quality and on simulated digestion of polyphenols and antioxidant properties. *Food Chemistry* Volume 333, 15 December 2020, 127464.
- Cao, S., Liang, M., Shi, L., Shao, J., Song, C., Bian, K., Chen, W., Yang, Z., 2017. Accumulation of carotenoids and expression of carotenogenic genes in peach fruit. *Food Chemistry*, Pages 137-146. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.07.085>.
- Capello, C., Fischer, U., Hungerbühler K., 2007. What is a green solvent? A comprehensive framework for the environmental assessment of solvents. *Green Chemistry*, 9 (9), pp. 927-934, 10.1039/B617536H.
- Carcel J.A, García-Pérez J.V., Benedito J., Mulet A., 2012. Food process innovation through new technologies: Use of ultrasound, *Journal of Food Engineering*, 110, 200p.
- Cardenas Toro, F.P., Alcazar Alay, S.C., Coutinho, J.P., Godoy, H.T., Forster-Carneiro, T., Meireles, M.A.A., 2015. Pressurized liquid extraction and low-pressure solvent extraction of carotenoids from pressed palm fiber: Experimental and economical evaluation. *Food and Bioprocess Processing*, 94, 90–100. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fbp.2015.01.006>.
- Carocho, M., Barreiro, M. F., Morales, P., & Ferreira, I. C. F. R., 2014. Adding molecules to food, pros and cons: A review on synthetic and natural food additives. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 13(4), 377-399. <http://doi.org/10.1111/1541-4337.12065>.
- Carocho, M., Morales, P., Ferreira, I. C., 2015. Natural food additives: Quo vadis? *Trends in Food Science & Technology*, 45(2), 284–295.
- Carvalho LMJ, Borchetta R, Silva EMM, Carvalho CWP, Miranda RM, Silva CAB. 2006. Effect of enzymatic hydrolysis on particle size reduction in lemon juice (*Citrus limon*, L.), cv. Tahiti. *Braz J Food Technol*, 9(4), 277-282.
- Cevallos Casals, B.A., Byrne, D., William, R.O. and Cisneros-Zevallos, L., 2006. Selecting new peach and plum genotypes rich in phenolic compounds and enhanced functional properties. *Food Chem.*, 96, 273-280.
- Chang, S., Tan, C., Frankel, E.N. and Barrett, D.N., 2000. Low-density lipoprotein antioxidant activity of phenolic compounds and polyphenol oxidase activity in selected clingstone peach cultivars. *J. Agric. Food Chem.*, 48, 147-151.
- Chemat, F., Zill-e-Huma, Khan, M.K., 2011. Applications of Ultrasound in Food Technology: Processing, Preservation and Extraction. *Ultrasonics Sonochemistry*, 18 (4): 813-835.
- Chemat, F., Rombaut, N., Meullemiestre, A., Turk, M., Perino, S., Fabiano Tixier, A.S., Abert Vian, M., 2017. Review of Green Food Processing techniques. Preservation, transformation, and extraction. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 41, 357–377. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2017.04.016>.
- Chemat, F., Rombaut, N., Sicaire, A. G., Meullemiestre, A., Fabiano Tixier, A. S., Abert Vian, M., 2017. Ultrasound assisted extraction of food and natural products. Mechanisms, techniques, combinations, protocols and applications. A review. *Ultrasonics Sonochemistry*, 34, 540–560. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2016.06.035>.

- Chen, L., Chen, J., Ren, J., Zhao, M., 2011. Effects of ultrasound pretreatment on the enzymatic hydrolysis of soy protein isolates and on the emulsifying properties of hydrolysates. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 59(6), 2600.
- Chua, L. S., 2013. A review on plant-based rutin extraction methods and its pharmacological activities. *Journal of Ethnopharmacology*, 150(3), 805–817.
- Corrales, M., Toepfl, S., Butz, P., Knorr, D. and Tauscher, B., 2008, Extraction of anthocyanins from grape by-products assisted by ultrasonics, high hydrostatic pressure or pulsed electric fields: a comparison. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 9(1):85-91pp.
- Costa, R., 2016. The chemistry of mushrooms: a survey of novel extraction techniques targeted to chromatographic and spectroscopic screening. In *Studies in Natural Products Chemistry*. Edited by Atta ur R. Elsevier; 2016:279-306.
- Cravotto, G., Binello, A., 2016. Low-Frequency, High-Power Ultrasound Assisted Food Component Extraction, *Innovative Food Processing Technologies*, 3-29pp.
- Cui, Q., Liu, J.Z., Wang, L.T., Kang, Y.F., Meng, Y., Jiao, J., Fu, Y.J., 2018. Sustainable deep eutectic solvents preparation and their efficiency in extraction and enrichment of main bioactive flavonoids from sea buckthorn leaves. *Journal of Cleaner Production*, 184, 826–835. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2018.02.295>.
- Cvjetko Bubalo, M., Vidovic, S., Radojic Redovnikovic, I., Jokic, S., 2018. New perspective in extraction of plant biologically active compounds by green solvents. *Food Bioprod Process* 2018, 109:52-73.
- Çetinkaya, B.D., 2020. Şeftali Konsantresinin Endüstriyel Üretim Aşamalarında Pestisit Miktarındaki Değişimin Belirlenmesi. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Adana.
- Çinar, I., 2005. Effects of cellulase and pectinase concentrations on the color yield of enzyme extracted plant carotenoids. *Process Biochemistry*, 40(2), 945-949.
- Da Porto, C., Decorti, D., Natolino, A., 2014. Water and ethanol as cosolvent in supercritical fluid extraction of pro anthocyanidins from grape marc: a comparison and a proposal. *J Supercrit Fluids* 2014, 87:1-8.
- Dahiya, S., Kumar, A. N., Shanthi Sravan, J., Chatterjee, S., Sarkar, O., Mohan, S. V., 2018. Food waste biorefinery: Sustainable strategy for circular bioeconomy. *Bioresource Technology*, 248, 2–12. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.07.176>.
- Daugan, E. M. A., Abdullah, A., Sani, H. A., 2011. Natural antioxidants, lipid profile, lipid peroxidation, antioxidant enzymes of different vegetable oils. *Advance Journal of Food Science and Technology*, 3, 308–316.
- Deming, D.M., Erdman, J.W., 1999. Mammalian carotenoid absorption and metabolism. *Pure and Applied Chemistry*, 71, 2213–2223.
- Demir, E, Serdar, G., Sökmen, M., 2015. Comparison of Some Extraction Methods for Isolation of Catechins and Caffeine from Turkish Green Tea. *International Journal of Secondary Metabolite*, 2 (2): 16-25.
- Dereli, T., Baykasoğlu, A., 2002. Atıklar ve çevreye etkileri: Mühendislik cephesinden çevre sorunlarına bakış, *Endüstri Mühendisliği Dergisi* 13(1), 11-14, 2002.
- Dikshit, R., Tallapragada, P., 2018. In *Comparative study of natural and artificial flavoring agents and dyes* (pp. 83–111).
- Doğruyol, H., 2006. Gıdalardaki Katkı Maddeleri ve Zararları; Çocukluk Hiperaktivitesi. *Güncel Pediatri*, 2: 42-48.

- Ekezie, F. G.C., Sun, D. W., Cheng, J. H., 2017. Acceleration of microwave assisted extraction processes of food components by integrating technologies and applying emerging solvents: a review of latest developments. *Trends Food Sci Technol* 2017, 67:160-172.
- El Akabawy, G., El Sherif, N.M., 2019. Zeaxanthin exerts protective effects on acetic acid-induced colitis in rats via modulation of pro-inflammatory cytokines and oxidative stress. *Biomed Pharmacother*, 111:841-851.
- El Darra, N., Rajha, H.N., Debs, E., Saleh, F., El-Ghazzawi, I., Louka, N., Maroun, R.G., 2018. Comparative study between ethanolic and β -cyclodextrin assisted extraction of polyphenols from peach pomace. *Int. J. Food Sci.* 1–9.
- Elik, A., Yanık, D.K., Gögüş, F., 2020. Microwave assisted extraction of carotenoids from carrot juice processing waste using flaxseed oil as a solvent. *LWT* 2020, 123:109100.
- EPA, 2017. http://www.epa.gov/greenchemistry/pubs/about_gc.html. (Erişim Tarihi: 21 Aralık 2017).
- Eren, İ., 2004. Patateslerin Osmotik Dehidrasyonunun “Response Surface” Metodu Kullanılarak Optimizasyonu, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü (Yüksek Lisans Tezi), İzmir, 142 S.
- Ermiş, E., Özkan, M., Coşar, N., 2019. Çeşitli İşlemlerle Elde Edilmiş Şeker Pancarı Ekstraktlarının Limonata Ürünüde Kullanılabilirliğinin Araştırılması. *İstanbul Sabahattin Zaim Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*. <http://dergipark.gov.tr/izufbed>.
- Espinosa Pardo, F. A., Nakajima, V.M., Macedo, G.A., Macedo, J.A., Martinez J., 2017. Extraction of phenolic compounds from dry and fermented orange pomace using supercritical CO₂ and cosolvents. *Food Bioprod Process* 2017, 101:1-10.
- FAOSTAT | FAO Statistics Division., 2020. <http://www.fao.org/turkey/en/> (01.04.2020).
- Faravash, R.S., Ashtiani, F.Z., 2008. The influence of acid volume, ethanol to extract ratio and acid washing time on the yield of pectic substances extraction from peach pomace. *Food Hydrocolloids*: <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd>.
- Farre, G., 2010. Travel advice on the road to carotenoids in plants. *Plant Science*. 179(1-2), 28-48.
- Fernandez Garcia, E., Carvajal Lerida, I., Perez Galvez, A., 2016. Carotenoids exclusively synthesized in red pepper (capsanthin and capsorubin) protect human dermal fibroblasts against UVB induced DNA damage. *Photochemical & Photobiological Sciences*, 15, 1204e1211. <http://doi.org/10.1039/C6PP00134C>.
- Ferrentino, G., Asaduzzaman, M., Scampicchio, M. M., 2016. Current technologies and new insights for the recovery of high valuable compounds from fruits by-products. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 58, 386–404.
- Fiedor, J., Burda, K., 2014. Potential role of carotenoids as antioxidants in human health and disease. *Nutrients*, 6(2), 466–488. <https://doi.org/10.3390/nu6020466>.
- Fiedor, J., Burda, K., 2014. Potential role of carotenoids as antioxidants in human health and disease. *Nutrients*, 6(2), 466–488. <https://doi.org/10.3390/nu6020466>.
- Franke, S.I.R., Chless, K., Silveria, J.D., Robensam, G., 2004. Study of a antioxidant and mutagenic activity of different orange juices, *Food Chemistry*, 88, 45–55.
- Fraser, P.D., Bramley, P.M., 2004. The biosynthesis and nutritional uses of carotenoids, *Progress in lipid research*, 43(3):228-265pp.
- Fu, X., Belwal, T., Cravotto, G., Luo, Z., 2020. Sono-physical and sono-chemical effects of ultrasound: Primary applications in extraction and freezing operations and

- influence on food components. *Ultrasonics Sonochemistry*, 60, Article 104726. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.104726>.
- Gailing, M.F., Guibert, A., Combes, D., 2000. Fractional factorial designs applied to enzymatic sugar beet pulps pressing improvement. *Bioprocess Engineering*, 22, 69-74.
- Gammone, M. A., Riccioni, G., D'Orazio, N., 2015. Carotenoids: Potential allies of cardiovascular health? *Food & Function*, 59, 1-11.
- Garcia-Chavarria, M., Lara Flores, M., 2013. The use of carotenoid in aquaculture. *Research Journal of Fisheries and Hydrobiology*, 8, 38-49.
- Gateau, H., Solymosi, K., Marchand, J., Schoefs, B., 2016. Carotenoids of microalgae used in food industry and medicine. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*, 16(999), 1.
- Gill, M. I., Tomás Barberán, F. A., Hess-Pierce, B., Kader, A. A., 2002. Antioxidant capacities, phenolic compounds, carotenoids, and vitamin C contents of nectarine, peach, and plum cultivars from California. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 4976-4982.
- Goldsmitha, C. D., Vuong, Q. V., Stathopoulosb, C.E., Roach, P. D., Scarlett, C. J., 2018. Ultrasound increases the aqueous extraction of phenolic compounds with high antioxidant activity from olive pomace. *LWT, Food Science and Technology*, 89, 284-290p. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.10.065>.
- Gonzalez Molina, E., Moreno, D.A., Garcia-Viguera, C., 2008a. Genotype and Harvest Time Influence the Phytochemical Quality of Fino Lemon Juice (*Citrus lemon* L. Burm. f.) for Industrial Use. *J. Agric. Food Chemistry*, 56: 1669-1675.
- Gonzalez Molina, E., Moreno, D.A., Garcia-Viguera, C., 2009. A New Drink Rich in Healthy Bioactives Combining Lemon and Pomegranate Juices. *Food Chemistry*, 115: 1364-1372.
- Grudpan, K., Sritharathikhun, P. ve Jakmunee, J., 1998. Flow Injection Condumetric or Spectrophotometric Analysis for Acidity in Fruit Juice, *Analytica Chimica Acta*, 363: 199-202.
- Gu, Y., Jerome, F., 2010. Glycerol as a sustainable solvent for green chemistry, *Green Chemistry*, 12(7):1127-1138pp.
- Guimaraes, R., Barros, L., Barreira, J.C.M., Sousa, M.J., Carvalho, A.M. 2010. Targeting Excessive Free Radicals with Peels and Juices of Citrus Fruits: Grapefruit, Lemon, Lime and Orange. *Food and Chemical Toxicology*, 48: 99-106.
- Güngör, N., 2019. Iğdır Ağ şeftali ve Zeferan Şeftalisinin (*Prunus Persica* L.) Antioksidan ve Radikal Giderme Aktivitelerinin Belirlenmesi, Iğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Iğdır.
- Gür, İ., 2008. Eğirdir Ekolojik Şartlarında Yetiştirilen Bazı Şeftali Çeşitlerinin Fenolojik ve Pomolojik Özelliklerinin Tespiti. Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Konya.
- Gür, İ., Pırlak, L., 2011. Eğirdir Ekolojik Şartlarında Yetiştirilen Bazı Şeftali Çeşitlerinin Fenolojik ve Pomolojik Özelliklerinin Tespiti, *Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü Derim Dergisi*, 2011, 28 (2):27-41.
- Güven K., Gür İ., Akgül H., Atasay A., Sarısu H.C. ve Gencer G., 2007. Isparta ve Geçit İklimine Uygun Şeftali Çeşitlerinin Seçimi, Türkiye V. Ulusal Bahçe Bitkileri Kongresi, 42 – 47, Erzurum.

- Hamid, A. A., Aiyelaagbe, O. O., Usman, L. A., Ameen, O. M., Lawal, A., 2010. Antioxidants: Its medicinal and pharmacological applications. *African Journal of Pure and Applied Chemistry*, 4, 142–151.
- Handa, S.S, Khanuja, S.P.S., Longo, G., Rakesh, D.D., 2008. Extraction Technologies for Medicinal and Aromatic Plants. United Nations Industrial Development Organization and The International Centre for Science and High Technology. Icsunido Is Supported by the Italian Ministry of Foreign Affairs, 35-51.
- Hasbay Adil, I., Çetin, H.İ., Yener, M.E., Bayındırlı, A., 2007. Subcritical (carbon dioxide+ethanol) extraction of polyphenols from apple and peach pomaces, and determination of the antioxidant activities of the extracts. *J. of Supercritical Fluids* 43 (2007) 55–63.
- Heinonen, M.I., Ollilainen, V., Linkola, E.K., Varo, P.T. and Koivistoinen, P.E. 1989. Carotenoids in Finnish foods: vegetables, fruits, and berries. *J. Agric. Food Chem.*, 37; 655-659.
- Hiranvarachat, B., Devahastin, S., 2014. Enhancement of microwave-assisted extraction via intermittent radiation: Extraction of carotenoids from carrot peels. *Journal of Food Engineering*, 126, 17–26. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2013.10.024>.
- Hirschberg, J., 2001. Carotenoid biosynthesis in flowering plants. *Current Opinion in Plant Biology*, 4, 210–218. [https://doi.org/10.1016/S1369-5266\(00\)00163-1](https://doi.org/10.1016/S1369-5266(00)00163-1).
- Ho, K. K. H. Y., Ferruzzi, M. G., Liceaga, A. M., San Martín-González, M. F., 2015. Microwave-assisted extraction of lycopene in tomato peels: Effect of extraction conditions on all-trans and cis-isomer yields. *LWT -Food Science and Technology*, 62(1, Part 1), 160–168. <http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2014.12.061>.
- Huang, H., Cheng, Z., Wang, Y., 2008. History of Cultivation and Trends in China, In *Botany, Production and Uses*, DR Layne and D. CAB International, 615, Wallingford, UK.
- Irwandi, J., 2011. Carotenoids: Sources, medicinal properties and their application in food and nutraceutical industry. *Journal of Medicinal Plants Research*, 5(33).
- İçier F., Baysal T., 2012. Gıda Mühendisliğinde Isıl Olmayan Teknolojiler, Nobel Yayıncılık, Yayın no:428.
- İkinci, A., İ., Polat., 2018. Yield and Quality Performance of Some Peach Varieties Grown Under Sanliurfa Ecological Conditions. *African Journal of Agricultural Research*, 13(2), 47-53.
- İlbay, Z., 2016. Turunçgil Meyve ve Yapraklarının Farklı Ekstraksiyon Yöntemleriyle Ekstraksiyonu ve Matematik Modellemesi. İstanbul Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı, Temel İşlemler ve Termodinamik Bilim Dalı. Doktora Tezi, 168s.
- Johnson, E.J., 2014. Role of lutein and zeaxanthin in visual and cognitive function throughout the lifespan. *Nut Rev*, 72:605-612.
- Kaçan, A., 2013. Çanakkale Yöresinde Yetiştirilen Bazı Şeftali ve Nektarin Çeşitlerinde Aromatik Maddelerin Belirlenmesi (yüksek lisans tezi, basılmamış) Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Kammerer, D. R., Kammerer, J., Valet, R., Carle, R., 2014. Recovery of polyphenols from the by-products of plant food processing and application as valuable food ingredients. *Food Research International*, 65, 2e12. <http://doi.org/10.1016/j.foodres.2014.06.012>.
- Kan, J., Chen, C., Huo, T., Xie, W., Hui, Y., Liu, J., Jin, J., 2020. Polyphenolic-enriched peach peels extract regulates lipid metabolism and improves the gut microbiota

- composition in high fat diet-fed mice. College of Food Science and Engineering, Yangzhou University, Yangzhou 225127, Jiangsu, China.
- Kettawan, A., Sungpuag, P., Sirichakwal, P. and Chavasit, V., 2002. Chicken bone calcium extraction and its application as a food fortificant. *Journal of the National Research Council of Thailand* (Thailand).
- Khaw, K.Y., Parat, M.O., Shaw, P.N., Falconer JR., 2017. Solvent supercritical fluid technologies to extract bioactive compounds from natural sources: a review. *Molecules* 2017, 22:1186.
- Konings, E., J. M., Roomans H., H. S. 1997. Evaluation and validation of an LC method for the analysis of carotenoids in vegetables and fruit. *Food Chemistry*, Vol.59, No, 4 pp. 599-603.
- Kopec, R.E., Failla M.L., 2018. Recent advances in the bio accessibility and bioavailability of carotenoids and effects of other dietary lipophiles. *J Food Comp Anal* 68:16-30.
- Layne, D.R., Bassi, D., 2008. *The Peach: Botany, Production and Uses*. CABI, ProQuest Ebook Central, Created from uludag-ebooks on 2017-01-26.
- Lee, H. S., Castle, W.S., 2001. Seasonal Chnages Of Carotenoid Pigments And Color Dn Hamlin, Earlygold And Bundd Blood Orange Juices, *J. Agrig. Food. Chem.* 49: 877-882.
- Leonelli, C., Mason, T., J., 2010. Microwave and ultrasonic processing: now a realistic option for industry, *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification*, 49(9):885-900pp.
- Leong S.Y., Oey I., 2012. Effects of processing on anthocyanins, carotenoids and vitamin C in summer fruits and vegetables, *Food Chemistry*, 133, 1577p.
- Li, Y., Fabiano Tixier, A. S., Tomao, V., Cravotto, G. and Chemat, F., 2013. Green ultrasound-assisted extraction of carotenoids based on the biorefinery concept using sunflower oil as an alternative solvent, *Ultrasonics sonochemistry*, 20(1):12-18pp.
- Liu, D., Ding, L., Sun, J., Boussetta, N., Vorobiev, E., 2016. Yeast cell disruption strategies for recovery of intracellular bio-active compounds-A review. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 36, 181–192.
- Liu, H., Cao, J., Jiang, W., 2015. “Evaluation and Comparison of Vitamin C, Phenolic Compounds, Antioxidant Properties and Metal Chelating Activity of Pulp and Peel from Selected Peach Cultivars”, *LWT-Food Science And Technology*, 63(2),1042-1048.
- Liu, T., Song, S., Yuan, Y.B., Wu, D.J., Chen, M.J., Sun, Q., Zhang, B., Xu, C.J., Chen, K.S., 2015. Improved peach peel color development by fruit bagging. Enhanced expression of anthocyanin biosynthetic and regulatory genes using white non-woven polypropylene as replacement for yellow paper. *Sci. Hortic.* 184, 142–148.
- Lobo, M. G., Dorta, E., 2019. *Utilization and Management of Horticultural Waste. Postharvest Technology of Perishable Horticultural Commodities*. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-813276-0.00019-5>.
- Lopez, C. J., Caleja, C., Prieto, M., Barreiro, M. F., Barros, L., Ferreira, I. C., 2018. Optimization and comparison of heat and ultrasound assisted extraction techniques to obtain anthocyanin compounds from *Arbutus unedo* L. fruits. *Food Chemistry*, 264, 81–91.
- Lorente, B., Martinez Garcia, J.F., Stange, C., Rodriguez Concepcion, M., 2017. Illuminating colors: Regulation of carotenoid biosynthesis and accumulation by

- light. *Current Opinion in Plant Biology*, 37, 49–55. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2017.03.011>.
- Louie, KB., Kosina, SM., Hu, Y., Otani, H., de Raad, M., Kuftin, AN., Mouncey, NJ., Bowen, BP., Northen, TR., 2020. 6.12- mass spectrometry for natural product discovery. In *Comprehensive Natural Products* 263-306. III. Edited by Liu H-W, Begley TP. Oxford: Elsevier; 2020.
- Luengo, E., Martínez, J. M., Coustets, M., Álvarez, I., Teissié, J., Rols, M. P., Raso, J., 2015. A Comparative Study on the Effects of Millisecond- and Microsecond-Pulsed Electric Field Treatments on the Permeabilization and Extraction of Pigments from *Chlorella vulgaris*. *The Journal of Membrane Biology*, 248(5), 883–891. <http://dx.doi.org/10.1007/s00232-015-9796-7>.
- Machado, M. T. C., Ec, K. S., Vieira, G. S., Menegalli, F. C., Martínez, J., Hubinger, M.D., 2015. Prebiotic oligosaccharides from artichoke industrial waste: evaluation of different extraction methods, 76(15):141–148pp.
- Macias Sanchez, M.D., Fernandez-Sevilla, J.M., Fernández, F.G.A., García, M. C.C., Grima, E.M., 2010. Supercritical fluid extraction of carotenoids from *Scenedesmus almeriensis*. *Food Chemistry*, 123(3), 928–935. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.04.076>.
- Manzoor, M., F. Anwar, N. Saari, M. Ashraf, 2012. Variations of Antioxidant Characteristics and Mineral Contents in Pulp and Peel of Different Apple (*Malus domestica* Borkh.) Cultivars From Pakistan. *Molecules* 17 (1): 390– 407.
- Mao, X., Guo, N., Sun, J., Xue, C., 2017. Comprehensive utilization of shrimp waste based on biotechnological methods: A review. *Journal of Cleaner Production*, 143(Suppl. C), 814–823. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jclepro.2016.12.042>.
- Maric, M., Grassino, AN., Zhu, Z., Barba, FJ., Brncic, M., Rimac Brncic, S., 2018. An overview of the traditional and innovative approaches for pectin extraction from plant food wastes and by-products: ultrasound-, microwaves-, and enzyme-assisted extraction. *Trends Food Sci Technol* 2018, 76:28-37.
- Marin, F.R., Martinez, M., Uribealago, T., Castillo, S., Frutos, M.J., 2002. Changes in nutraceutical composition of lemon juices according to different industrial extraction systems. *Food Chemistry*, 78: 319-324.
- Marina I. Heinonen, Velimatti Ollilainen, Eeva K. Linkola, Pertti T. Varo, Pekka E. Koivistoinen, J. Agric. 1989. Carotenoids in Finnish foods: vegetables, fruits, and berries *Food Chem.*, 37 (3), pp 655–659.
- Martinez, JM., Delso, CA, Ivarez, I., Raso, J., 2020. Pulsed electric fieldassisted extraction of valuable compounds from microorganisms. *Compr Rev Food Sci Food Saf* 2020, 19:530- 552.
- Martins, N., Roriz, C. L., Morales, P., Barros, L., Ferreira, I. C. F. R., 2016. Food colorants: Challenges, opportunities and current desires of agro-industries to ensure consumer expectations and regulatory practices. *Trends in Food Science & Technology*, 52, 1e15. <http://doi.org/10.1016/j.tifs.2016.03.009>.
- Martins, N., Ferreira, I. C. F. R., 2017. Wastes and by-products: Upcoming sources of carotenoids for biotechnological purposes and health-related applications. *Trends in Food Science & Technology*, 62(Suppl. C), 33–48. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tifs.2017.01.014>.
- Mason, T.J., Peters, D., 2002. *Practical sonochemistry: Power ultrasound uses and applications*, Woodhead Publishing, India, 147p.

- McClements, D. J., 1995. Advances in the application of ultrasound in food analysis and processing. *Trends in Food Science & Technology*, 6, 293–299. [https://doi.org/10.1016/S0924-2244\(00\)89139-6](https://doi.org/10.1016/S0924-2244(00)89139-6).
- Mehmood, A., Ishaq, M., Zhao, L., Yaqoob, S., Safdar, B., Nadeem, M., Munir, M., Wang, C., 2019. Impact of ultrasound and conventional extraction techniques on bioactive compounds and biological activities of blue butterfly pea flower (*Clitoria ternatea* L.). *Ultrasonics Sonochemistry*, 51, 12–19. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonic.2018.10.013>.
- Melendez Martinez, A. J., Vicario, I. M., Heredia, F. J., 2007. Review: Analysis of carotenoids in orange juice. *Journal of Food Composition and Analysis*, 20, 638–649.
- Melendez Martinez, J., Mapelli-Brahm, A.P., 2021. The undercover colorless carotenoids phytoene and phytofluene: Importance in agro-food and health in the Green Deal era and possibilities for innovation. *Trends in Food Science & Technology* 116(2021) 255-263.
- Mercadante, A. Z., Rodrigues, D. B., Petry, F. C., Mariutti, L. R. B., 2017. Carotenoid esters in foods-A review and practical directions on analysis and occurrence. *Food Research International*, 99, 830–850.
- Michelon, M., Borba, T. M., Rafael, R.S., Burkert, C. A. V., Burkert, J. F. de M., 2012. Extraction of carotenoids from *Phaffia rhodozyma*: A comparison between different techniques of cell disruption. *Food Science and Biotechnology*, 21(1), 1–8. <http://dx.doi.org/10.1007/s10068-012-0001-9>.
- Middelberg, A. P., 1995. Process-scale disruption of microorganisms. *Biotechnology Advances*, 13(3), 491–551.
- Mohamed, M., Eissa, A.A., 2012. “Structure and Function of Food Engineering”, Ayman Amer Eissa (Ed.), *Pulsed Electric Fields for Food Processing Technology* (s. 284, 287), Intech, Rijeka.
- Mokrani, A., Madani, K., 2016. Effect of solvent, time and temperature on the extraction of phenolic compounds and antioxidant capacity of peach (*Prunus persica* L.) fruit. *Separation and Purification Technology*, 162, 68–76.
- Mustafa, A., Turner, C., 2011. Pressurized liquid extraction as a green approach in food and herbal plants extraction: A review, *Analytica chimica acta*, 703(1):8-18pp.
- Muthusamy, S., Udhayabaskar, S., Udayakumar, G. P., Kirthikaa, G., Sivarajasekar, N., 2020. 1478 Properties and Applications of Natural Pigments Produced from Different Biological 1479 Sources. A Concise Review. *Sustainable Development in Energy and Environment*, 105–119.
- Naczki, M., Shahidi, F., 2004. Extraction and analysis of phenolics in food, *Journal of Chromatography A* 1054, 95-111.
- Nirmal, N. P., Benjakul, S., Ahmad, M., Arfat, Y. A., Panichayupakaranant, P., 2015. Undesirable enzymatic browning in crustaceans: Causative effects and its inhibition by phenolic compounds. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 55(14), 1992–2003. <https://doi.org/10.1080/10408398.2012.755148>.
- Nisar, N., Li, L., Lu, S., Khin, N.C., Pogson, B. J., 2015. Carotenoid metabolism in plants. *Molecular Plant*, 8(1), 68–82. <https://doi.org/10.1016/j.molp.2014.12.007>.
- Noratto G., Porter W., Byrne D., Cisneros-Zevallos L., 2009. Identifying peach and plum polyphenols with chemopreventive potential against estrogen-independent breast cancer cells. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57 (2009), pp. 5219-5226, 10.1021/jf900259m.

- Ojha, K. S., Mason, T. J., O'Donnell, C. P., Kerry, J. P., and Tiwari, B. K., 2017. Ultrasound technology for food fermentation applications, *Ultrasonics sonochemistry*, 34:410-417p.
- Orazem, P., Stampar, F., Hudha, M., 2011. Quality analysis of "Red haven" Peach fruit grafted on Rootstocks of Different genetic origin In Re plant soil. *Food Chemistry*, 124, 1691-1698.
- Ordóñez Santos, L. E., Esparza-Estrada, J., Vanegas-Mahecha, P., 2020. Ultrasound-assisted extraction of total carotenoids from mandarin epicarp and application as natural colorant in bakery products. *LWT, Food Science and Technology*, 139, 110598. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110598>.
- Ordóñez Santos, L. E., Pinzón-Zarate, L. X., González-Salcedo, L. O., 2015. Optimization of ultrasonic-assisted extraction of total carotenoids from peach palm fruit (*Bactris gasipaes*) by-products with sunflower oil using response surface methodology. *Ultrasonics Sonochemistry*, 27, 560-566p. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2015.04.010>.
- Oroian, M., Escriche, I., 2015. Antioxidants: Characterization, natural sources, extraction and analysis. *Food Research International*, 74, 10-36. <http://doi.org/10.1016/j.foodres.2015.04.018>.
- Ozuna, C., Paniagua-Martínez, I., Castaño-Tostado, E., Ozimek, L., Amaya-Llano, S. L., 2015. Innovative applications of high-intensity ultrasound in the development of functional food ingredients: Production of protein hydrolysates and bioactive peptides. *Food Research International*, 77, 685–696.
- Öner, M., 2015. Ultrasonik Yöntemle Biber Posasından Yağ İçinde Karotenoid Ekstraksiyonu. Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, İzmir.
- Padma Ishwarya S, Nisha P., 2021. 2.42- headway in supercritical extraction of fragrances and colors. In *Innovative Food Processing Technologies*. Edited by Knoerzer K, Muthukumarappan K. Oxford: Elsevier; 2021:620-639.
- Paini, M., Casazza, A.A., Aliakbarian, B., Perego, P., Binello, A. and Cravotto, G., 2016. Influence of ethanol/water ratio in ultrasound and high- pressure/high-temperature phenolic compound extraction from agri-food waste, *International journal of food science & technology*, 51(2):349-358pp.
- Paiva, S., Russell, R.M., 1999. Beta-carotene and other carotenoids as antioxidants. *Journal of the American College of Nutrition*, 18(5), 426-433.
- Pandey, A., Pain, J., Dziuba, N., Pandey, A.K., Dancis, A., Lindahl, P.A., and Pain, D. 2018. Mitochondria export sulfur species required for cytosolic tRNA thiolation. *Cell Chem. Biol.* 25, this issue, 738–748.
- Pangestuti, R., Kim, S., 2011. Biological activities and health benefit effects of natural pigments derived from marine algae. *Journal of Functional Foods*, 3(4), 255–266.
- Park Y.S., Leontowicz H., Leontowicz M., Namiesnik J., Suhaj M., Cvikrova M., Martincova O., Weisz M., Gorinstein S., 2011. *Journal of Food Composition and Analysis*, 24, p.963-970.
- Parra Campos, A., Ordóñez Santos, L.E., 2019. Natural pigment extraction optimization from coffee exocarp and its use as a natural dye in French meringue. *Food Chemistry*, 285, 59–66.
- Pasquet V, Chéroutvriér JR, Farhat F, Thiéry V, Piot JM, Bérard JB, Kaas R, Serive B, Patrice T, Cadoret JP, Picot L., 2011. Study on the microalgal pigments extraction

- process: Performance of microwave assisted extraction. *Process Biochem.* 46: 59-67. <http://dx.doi.org/10.1016/j.procbio.2010.07.009>.
- Patist, A., Bates, D., 2008. Ultrasonic innovations in the food industry: from the laboratory to commercial production, *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 9, 147p.
- Pechinskii, S. V., Kuregyan, A. G., 2014. Molecular-biological problems of drug design and mechanism of drug action the impact of carotenoids on immunity. *Pharmaceutical Chemistry Journal*, 47(10), 509e513. <http://doi.org/10.1007/s11094-011-0539-5>.
- Pedros Garrido, S., Condon-Abanto, S., Beltran, J. A., Lyng, J. G., Brunton, N. P., Bolton, D., Whyte, P., 2017. Assessment of high intensity ultrasound for surface decontamination of salmon (*S. salar*), mackerel (*S. scombrus*), cod (*G. morhua*) and hake (*M. merluccius*) fillets, and its impact on fish quality. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 41, 64–70. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2017.02.006>.
- Petkowicz, C.L.O., Vriesmann, L.C. and Williams, P.A., 2017. Pectin from food waste: Extraction, characterization and properties of watermelon rind pectin. *Food Hydrocolloids*, 65:57-67pp.
- Philippi, K., Tsamandouras, N., Grigorakis, S., Makris, D. P., 2016. Ultrasound-assisted green extraction of eggplant peel (*Solanum melongena*) polyphenols using aqueous mixtures of glycerol and ethanol: Optimisation and kinetics. *Environmental Processes*, 3(2), 369–386.
- Pinela, J., Prieto, M., Pereira, E., Jabeur, I., Barreiro, M. F., Barros, L., Ferreira, I. C., 2019. Optimization of heat-and ultrasound-assisted extraction of anthocyanins from *Hibiscus sabdariffa* calyces for natural food colorants. *Food Chemistry*, 275, 309–321.
- Piyasena P., Mohareb E., McKellar R.C., 2003. Inactivation of microbes using ultrasound: a review, *International Journal of Food Microbiology*, 87 (3), 207p.
- Plazzotta, S., Ibarz, R., Manzocco, L., Martin Belloso, O., 2021. Modelling the recovery of biocompounds from peach waste assisted by pulsed electric fields or thermal treatment. *Journal of Food Engineering*: <http://www.elsevier.com/locate/jfoodeng>.
- Pokorny, J., Yanishlieva, N., Gordon, M., 2001. Antioxidants in food Practical applications. Cambridge: Woodhead Publishing Limited (Chapter 3).
- Polatcı, H., Taşova, M., Saraçoğlu, O., Taşkın, O., 2018. Şeftali (*Prunus persica* L.) Posasının Farklı Sıcaklıklarda Kuruma Parametrelerinin Belirlenmesi. *Tarım Makinaları Bilimi Dergisi (Journal of Agricultural Machinery Science)*, 14 (3), 149-156.
- Poojary, M. M., Orlie, V., Passamonti, P., Olsen, K., 2017. Enzyme-assisted extraction enhancing the umami taste amino acids recovery from several cultivated mushrooms. *Food Chemistry*, 234, 236–244.
- Puri, M., Sharma, D., Barrow, C.J., 2012. Enzyme-assisted extraction of bioactives from plants. *Trends Biotechnol* 2012, 30:37-44.
- Putnik, P., Bursa'c Kova'cevi'c, D., Re'zek Jambrak, A., Barba, F. J., Cravotto, G., Binello, A., Shpigelman, A., 2017. Innovative “green” and novel strategies for the extraction of bioactive added value compounds from citruswastes. A review. *Molecules*, 22(5), 680–704. <https://doi.org/10.3390/molecules22050680>.

- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., Rice-Evans, C., 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26(9-10), 1231-1237.
- Redondo, D., Arias, E., Oria, R., Venturini, M.E., 2017. Thinned stone fruits are a source of polyphenols and antioxidant compounds. *J. Sci. Food Agric.* 97, 902–910.
- Redondo, D., Venturini, M.E., Luengo, E., Raso, J., Arias, E., 2018. Pulsed electric fields as a green technology for the extraction of bioactive compounds from thinned peach by-products. *Innovat. Food Sci. Emerg. Technol.* 45, 335–343.
- Reis, L. C. R. dos, Oliveira, V. R. de, Hagen, M. E. K., Jablonski, A., Flores, S. H., Rios, A. de O., 2015. Carotenoids, flavonoids, chlorophylls, phenolic compounds and antioxidant activity in fresh and cooked broccoli (*Brassica oleracea* var. Avenger) and cauliflower (*Brassica oleracea* var. Alphina F1). *LWT- Food Science and Technology*, 63(1), 177e183. <http://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.03.089>.
- Robards, K., 2003. Strategies for the determination of bioactive phenols in plants, fruit and vegetables. *Journal of Chromatography A* 1000, 657-691.
- Rodriguez Amaya, D. B., 2016. Natural food pigments and colorants. *Current Opinion in Food Science*, 7, 20-26. <http://doi.org/10.1016/j.cofs.2015.08.004>.
- Rodriguez Concepcion, M., Avalos, J., Bonet, M. L., Boronat, A., Gomez, L., Hornero Mendez, D., 2018. A global perspective on carotenoids: Metabolism, biotechnology, and benefits for nutrition and health. *Progress in Lipid Research*, 70, 62-93. <https://doi.org/10.1016/j.plipres.2018.04.004>.
- Rodriguez, D., 2001. A Guide to Carotenoid Analysis in Foods. *Life Sciences*. <http://www.ilsil.org/publications>.
- Rodrigues, S., Pinto, G.A. and Fernandes, F.A., 2008. Optimization of ultrasound extraction of phenolic compounds from coconut (*Cocos nucifera*) shell powder by response surface methodology, *Ultrasonics Sonochemistry*, 15(1):95-100pp.
- Rojas M.L., Leite T.S., Cristianini M., Dutra Alvim I., Augusto P., 2016. Peach juice processed by the ultrasound technology: Changes in its microstructure improve its physical properties and stability. *Food Research International* 82 (2016) 22–33.
- Rombaut, N., Avignon, N. and Vacluse, P. De., 2014. Green extraction processes of natural products as tools for biorefinery, Biofuels, Bioproducts and Biorefining, 8(4):530–544p.
- Roohinejad, S., Nikmaram, N., Brahim, M., Koubaa, M., Khelfa, A., Greiner, R., 2017. Potential of novel technologies for aqueous extraction of plant bioactives. In *Water Extraction of Bioactive Compounds*. Edited by Dominguez Gonzalez H, Gonzalez Munoz MJ. Elsevier; 2017:399-419.
- Rosello Soto, E., Koubaa, M., Moubarik, A., Lopes, R. P., Saraiva, J. A., Boussetta, N., Barba, F. J., 2015. Emerging opportunities for the effective valorization of wastes and by-products generated during olive oil production process: Nonconventional methods for the recovery of high-added value compounds. *Trends in Food Science and Technology*, 45(2), 296-310. <http://doi.org/10.1016/j.tifs.2015.07.003>.
- Rosello Soto, E., Parniakov, O., Deng, Q., Patras, A., Koubaa, M., Grimi, N., et al., 2016. Application of non-conventional extraction methods: Toward a sustainable and green production of valuable compounds from mushrooms. *Food Engineering Reviews*, 8(2), 214–234.
- Routray, W., Orsat, V., 2012. Microwave-assisted extraction of flavonoids: A review. *Food and Bioprocess Technology*, 5(2), 409–424. <https://doi.org/10.1007/s11947-011-0573-z>.

- Routray, W., Orsat, V., 2014. MAE of phenolic compounds from blueberry leaves and comparison with other extraction methods. *Industrial Crops and Products*, 58, 36–45. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.03.038>.
- Saidani, F., R. Gimenez, C. Aubert, G. Chalot, J.A. Betran, Y. Gogorcena, 2017. Phenolic, Sugar and Acid Profiles and The Antioxidant Composition in The Peel and Pulp of Peach Fruits. *Journal of Food Composition and Analysis*, 62: 126–133.
- Saini, R.K., Keum, Y.S., 2018. Carotenoid extraction methods: A review of recent developments. *Food Chemistry* 240 (2018) 90–103.
- Santos, L.E., Zarate, L.X., Salcedo, L.O., 2015. Optimization of ultrasonic-assisted extraction of total carotenoids from peach palm fruit (*Bactris gasipaes*) by-products with sun flower oil using response surface methodology. *Ultrasonics Sonochemistry* 27, 560–566.
- Santos, P., Aguiar, A.C., Barbero, G.F., Rezende, C.A. and Martínez, J., 2015. Supercritical carbon dioxide extraction of capsaicinoids from malagueta pepper (*Capsicum frutescens* L.) assisted by ultrasound, *Ultrasonics sonochemistry*, 22:78–88pp.
- Senit, J. J., Velasco, D., Manrique, A. G., Sanchez Barba, M., Toledo, J. M., Santos, V. E., Ladero, M., 2019. Industrial Crops & Products Orange peel waste upstream integrated processing to terpenes, phenolics, pectin and monosaccharides: Optimization approaches. *Industrial Crops & Products*, 134, 370–381. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.03.060>.
- Shahidi, F., Zhong, Y., 2015. Measurement of antioxidant activity. *Journal of Functional Foods* ,18, 757–781.
- Shirsatha S.R., Sonawanea S.H., Gogateb P.R., 2012. Intensification of extraction of natural products using ultrasonic irradiations. A review of current status, *Chemical Engineering and Processing*, 53, 10p.
- Simon, J. E., Decker, E. A., Ferruzzi, M. G., Giusti, M. M., Mejia, C. D., Goldschmidt, M., Talcott, S. T., 2017. Establishing standards on colors from natural sources. *Journal of Food Science*, 82(11), 2539–2553.
- Sowbhagya, H. B., Chitra, V. N., 2010. Enzyme-assisted extraction of flavorings and colorants from plant materials. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 50(2), 146–161. <http://dx.doi.org/10.1080/10408390802248775>.
- Sowmya, R., 2015. Rodriguez, A review. *Trends in Food Science & Technology*. 45(1), 105–117.
- Steiner, B. M., McClements, D. J., Davidov-Pardo, G., 2018. Encapsulation systems for lutein: A review. *Trends in Food Science & Technology*, 82, 71–81.
- Strati, I. F., Oreopoulou, V., 2011. Effect of extraction parameters on the carotenoid recovery from tomato waste. *International Journal of Food Science and Technology*, 46(1), 23–29.
- Strati, I. F., Oreopoulou, V., 2014. Recovery of carotenoids from tomato processing by-products- a review. *Food Research International*, 65(PC), 311–321. <http://doi.org/10.1016/j.foodres.2014.09.032>.
- Strati, I. F., Gogou, E., Oreopoulou, V., 2015. Enzyme and high pressure assisted extraction of carotenoids from tomato waste. *Food and Bioprocess Processing*, 94, 668–674. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fbp.2014.09.012>.
- Suktham, K., Daisuk, P., Shotipruk, A., 2021. Microwave assisted extraction of antioxidative anthraquinones from roots of *Morinda citrifolia* L. (Rubiaceae):

- errata and review of technological development and prospects. *Sep Purif Technol* 2021, 256:117844.
- Sun, J., Y.F. Chu, X. Wu, R.H. Liu, 2002. Antioxidant and Antiproliferative Activities of Common Fruits. *J. Agric. Food Chemistry*, 50(25), 7449–7454.
- Şentürk, H. B., Özdeş, D. and Duran C., 2010. “Biosorption of Rhodamine 6G from aqueous solutions onto almond shell (*Prunus dulcis*) as a low cost bio sorbent,” *Desalination* 252, 81-87.
- Tan, B.L., Norhaizan, M.E., 2019. Carotenoids: How effective are they to prevent agerelated diseases? *Molecules*, 24(9), 1801. <https://doi.org/10.3390/molecules24091801>.
- Tao, Y., Sun, D.W., 2015. Enhancement of Food Processes by Ultrasound: A Review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 55(4), 570–594. <https://doi.org/10.1080/10408398.2012.667849>.
- Tekelioğlu, K., 2016. Portakal Kabuğu Karotenoidlerinin Su ile Ekstraksiyonu. İnönü Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Malatya.
- Tenderis, B., 2010. Üzüm Çekirdeğinden Fenolik Madde Ekstraksiyonu. Gebze Yüksek Teknoloji Enstitüsü, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Gebze.
- Tiwari, K. B., 2015. Ultrasound: A clean, green extraction technology, *Trends in Analytical Chemistry*, 71:100–109pp.
- Tosun, İ. Üstün, Ş., 2003. An investigation about antioxidant capacity of fruit nectars. *Pakistan Journal of Nutrition*, 2(3): 167-169.
- Tsao, R., Deng, Z., 2004. Separation procedures for naturally occurring antioxidant phytochemicals. *Journal of Chromatography B* 812, 85-99.
- TÜİK, 2020. İstatistik Veri Portalı. Meyveler, İçecek ve Baharat Bitkileri <https://data.tuik.gov.tr/Kategori/GetKategori?p=tarim-111&dil=1> (30.03.2020).
- Uquiche, E., Antilaf, I., Millao, S., 2016. Enhancement of pigment extraction from *B. braunii* pretreated using CO₂ rapid depressurization. *Brazilian Journal of Microbiology*, 47(2), 497–505. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bjm.2016.01.020>.
- Uwineza, PA., Waskiewicz, A., 2020. Recent advances in supercritical fluid extraction of natural bioactive compounds from natural plant materials. *Molecules* 2020, 25:3847.
- Valachovic, P., Pechova, A., Mason, T. J., 2001. Towards the industrial production of medicinal tincture by ultrasound assisted extraction, *Ultrasonics sonochemistry*, 8(2):111-117pp.
- Valadez Carmona, L., Ortiz Moreno, A., Ceballos Reyes, G., Mendiola, JA., Ibanez, E., 2018. Valorization of cacao pod husk through supercritical fluid extraction of phenolic compounds. *J Supercrit Fluids* 2018, 131:99-105.
- Vera, A., Valenzuela, M. A., Yazdani-Pedram, M., Tapia, C., Abugoch, L., 2019. Conformational and physicochemical properties of quinoa proteins affected by different conditions of high-intensity ultrasound treatments. *Ultrason Sonochem*, 51, 186–196.
- Versari, A., Castellari, M., Parinello, G.P., Riponi, C. ve Galassi, S., 2002. “Characterisation of Peach Juices Obtained from Cultivars Red haven, Suncrest and Maria Marta Grown in Italy”, *Food TS EN Chemistry*, 76: 181-185.
- Vilchez, C., Forján, E., Cuaresma, M., Bédmar, F., Garbayo, I., Vega, J., 2011. Marine carotenoids: Biological functions and commercial applications. *Marine Drugs*, 9(12), 319–333. <https://doi.org/10.3390/md9030319>.

- Vilkhu, K., Mawson, R., Simons, L., Bates, D., 2008. Application and opportunities for ultrasound assisted extraction in the food industry. A review. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 9(2), 161–169.
- Vinatoru M., 2001. An overview of the ultrasonically assisted extraction of bioactive principles from herbs. *Ultrasonics Sonochemistry*, 8, 303p.
- Vinatoru, M., Mason, T.J., Calinescu, I., 2017. Ultrasonically assisted extraction (UAE) and microwave assisted extraction (MAE) of functional compounds from plant materials. *Trends Anal Chem* 2017, 97:159-178.
- Vinholes, J., D.P. Gelain, M. Vizzotto, 2016. Stone Fruits as a Source of Bioactive Compounds. Silva, L.R., Silva, B. (Eds.), *Natural Bioactive Compounds from Fruits and Vegetables*. Bentham Science Publishers, 110–142, Sharjah, UAE.
- Virgen Ortiz, J. J., Morales-Ventura, J. M., Colín-Chavez, C., Esquivel-Chavez, F., Vargas-Arispuro, I., Aispuro-Hernández, E., Martínez-Tellez, M. A., 2020. Postharvest application of pectic-oligosaccharides on quality attributes, activities of defense-related enzymes, and anthocyanin accumulation in strawberry. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 100(5), 1949–1961. <https://doi.org/10.1002/jsfa.10207>.
- Virost, M., Tomao, V., Ginies, C., Visinoni, F. and Chemat, F., 2008. Green procedure with a green solvent for fats and oils determination: microwave-integrated Soxhlet using limonene followed by microwave Clevenger distillation, *Journal of chromatography A*, 1196-1197:147-152pp.
- Vito, F. D., Ferrari, G., Lebovka, N. I., Shynkaryk, N. V., Vorobiev, E., 2008. Pulse duration and efficiency of soft cellular tissue disintegration by pulsed electric fields. *Food and Bioprocess Technology*, 1(4), 307–313. <http://dx.doi.org/10.1007/s11947-007-0017-y>.
- Vizzotto M., Porter W., Byrne D., Cisneros-Zevallos L., 2014. Polyphenols of selected peach and plum genotypes reduce cell viability. *Food Chemistry*, 164 (2014), pp. 363-370, 10.1016/j.foodchem.2014.05.060.
- Von Elbe, J. H., Schwartz, S. J., 1996. Colorants. *Food chemistry*, 3, 651-723.
- Yağcı S., Altan A., Göğüs F., Maskan M., 2006. Gıda atıklarının alternatif kullanım alanları, *Türkiye 9. Gıda Kongresi*, Bolu.
- Yaman, K., 2012. “Bitkisel atıkların değerlendirilmesi ve ekonomik önemi”, *Kastamonu Üniversitesi Orman Fakültesi Dergisi* 12(2), 339-348.
- Yang, R. F., Geng, L. L., Lu, H. Q., Fan, X. D., 2017. Ultrasound-synergized electrostatic field extraction of total flavonoids from *Hemerocallis citrina baroni*. *Ultrasonics Sonochemistry*, 34, 571–579. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2016.06.037>.
- Yang, S. Y., Kim, S. W., Kim, Y., Lee, S. H., Jeon, H., Lee, K. W., 2015. Optimization of Maillard reaction with ribose for enhancing anti-allergy effect of fish protein hydrolysates using response surface methodology. *Food Chemistry*, 176, 420–425.
- Yang, Y., Wang, G., Wang, B., Li, Z., Jia, X., Zhou, Q. and Y. Zhao, 2011. “Biosorption of acid black 172 and congo red from aqueous solution by nonviable *Penicillium* YW 01: Kinetic study, equilibrium isotherm and artificial neural network modelling,” *Bioresource Technology* 102, 828-834.
- Yıkar E., Sahakyan L., Akgün N., 2008. Gıda sektörü atıklarından süperkritik karbondioksit ile yağ eldesi, *Üniversite Öğrencileri III. Çevre Sorunları Kongresi*, Fatih Üniversitesi, İstanbul, 47s.

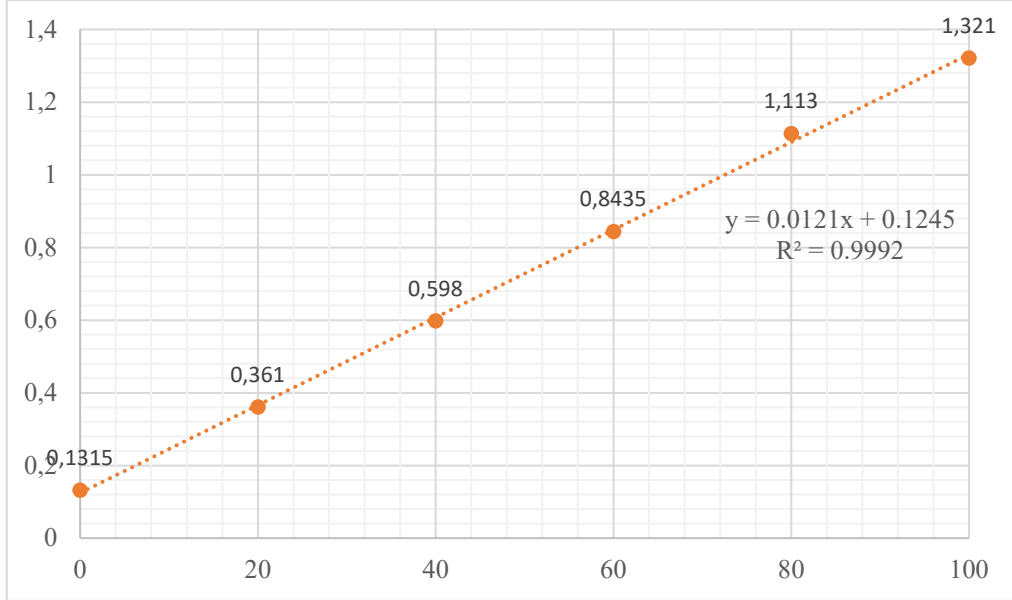
- Yılmaz, C., 2013. Evaluation of the sour cherry seed wastes as a source of food ingredient. Hacettepe Üniversitesi. Gıda Mühendisliği Bölümü, Y. Lisans Tezi, Ankara.
- Yılmaz, T., 2011. Domates İşleme Atıklarından Ultrason Destekli Likopen Ekstraksiyonu İşleminin Optimizasyonu, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 128s.
- Yuan, H., Zhang, J. X., Nageswaran, D., Li, L., 2015. Carotenoid metabolism and regulation in horticultural crops. *Horticulture Research*, 2, 15036. <https://doi.org/10.1038/hortres.2015.36>.
- Yücel, M., Emekçiler, S., 2008. “Çevre dostu ürün kavramına bütünsel yaklaşım; temiz üretim sistemi, eko-etiket, yeşil pazarlama”, *Elektronik Sosyal Bilimler Dergisi* 26 (7), 320-333.
- Zaghdoudi, K., Pontvianne, S., Framboisier, X., Achard, M., Kudaibergenova, R., et. al, 2015. Accelerated solvent extraction of carotenoids from: Tunisian Kaki (*Diospyros kaki* L.), peach (*Prunus persica* L.) and apricot (*Prunus armeniaca* L.). *Food Chemistry* 184 (2015) 131–139.
- Zeb, A., Murkovic, M., 2010a. Characterization of the effects of β -Carotene on the oxidation of triacylglycerols using HPLC-ESI-MS. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 112, 1218–1228.
- Zeb, A., Murkovic, M., 2010b. Analysis of triacylglycerols in refined edible oils by isocratic HPLC-ESI-MS. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 112, 844–851.
- Zhang, X., Zhao, W.-E., Hu, L., Zhao, L., Huang, J., 2011. Carotenoids inhibit proliferation and regulate expression of peroxisome proliferators-activated receptor gamma (PPAR) in K562 cancer cells. *Archives of biochemistry and biophysics*, 512(1), 96–106.
- Zhao, H., Xia, S. and Ma, P., 2005. Use of ionic liquids as green solvents for extractions, *Journal of chemical technology and biotechnology*, 80(10):1089-1096pp.
- Zhao, X., Zhang, W., Yin, X., Su, M., Sun, C., Li, X., Chen, K., 2015. Phenolic composition and antioxidant properties of different peach (*Prunus persica* (L.) Batsch) cultivars in China. *International journal of molecular sciences*, 16(3), 5762-5778.
- Zhi, W. J., Wang, L. F., Hu, X. J., 2017. Recent advances in the effects of microwave radiation on brains. *Military Med Res* 2017, 4:29.
- Zhou, Y., Huang, X., Liu, F., Pan, S., et al., 2016. Effect of high intensity ultrasound on physicochemical and functional properties of soybean glycinin at different ionic strengths. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 34, 205–213.
- Zuin, V. G., Segatto, M. L., Zanotti, K., 2020. Towards a green and sustainable fruit waste valorisation model in Brazil: Optimization of homogenizer-assisted extraction of bioactive compounds from mango waste using a response surface methodology. *Pure and Applied Chemistry*, 92(4), 617–629.
- Wang, L., Weller, C.L., 2006. Recent advances in extraction of nutraceuticals from plants. *Trends in Food Science & Technology*, 17(6):300-312pp.
- Wang, Y., Wang, H., Feng, X., Wang, X. and Huang, J., 2010. Biohydrogen Production from Cornstalk Wastes by Anaerobic Fermentation with Activated Sludge, *International Journal of Hydrogen Energy*., 35(7):3092- 399pp.
- Wen, C., Zhang, J., Zhang, H., Dzah, C.S., Zandile, M., Duan, Y., Ma, H., Luo, X., 2018. Advances in Ultrasound Assisted Extraction of Bioactive Compounds from Cash Crops. *Ultrasonics Sonochemistry*, 48: 538-549.

7. EKLER

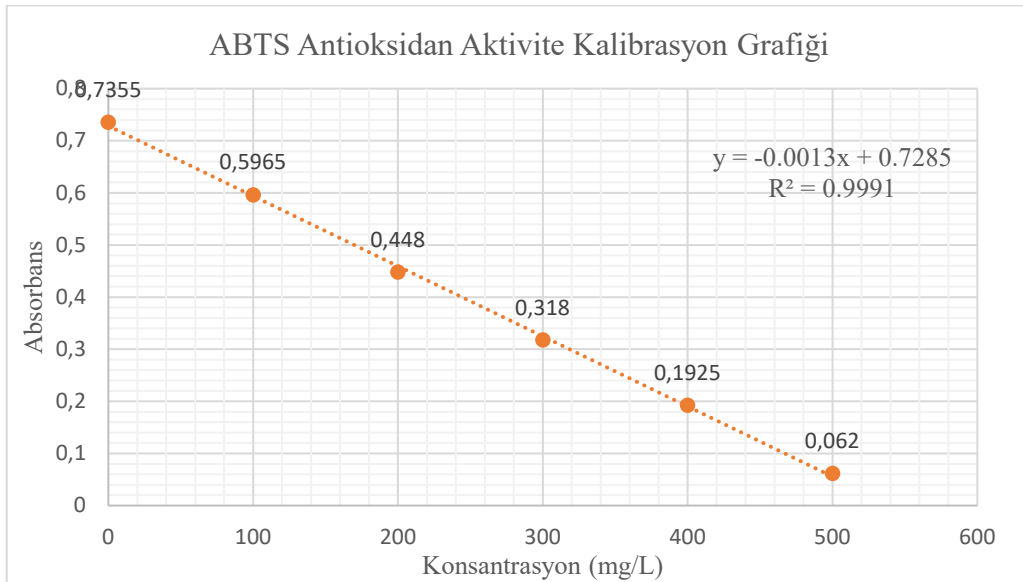


EKLER DİZİNİ

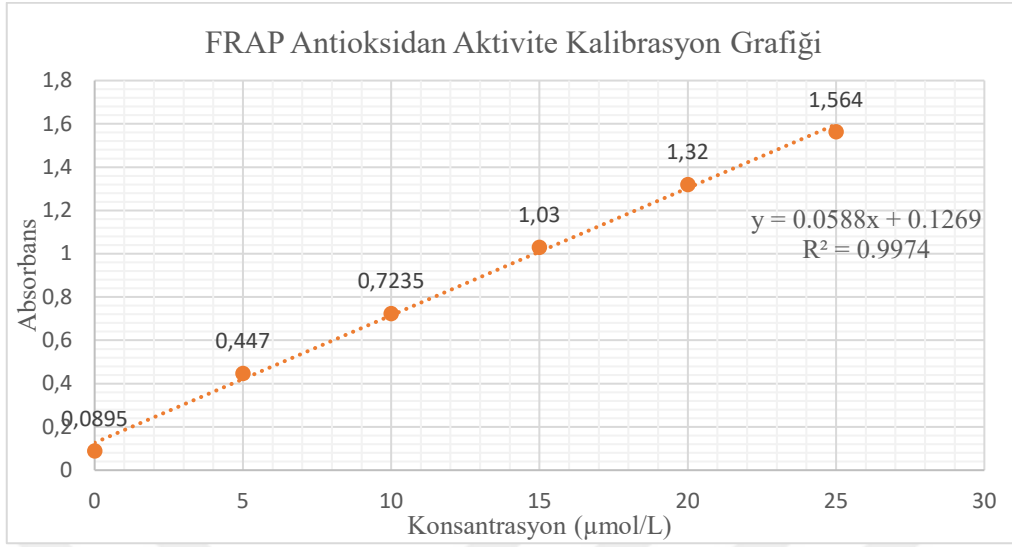
EK. A. Kalibrasyon grafikleri



Şekil A.1 Toplam fenolik madde tayininde kullanılan standart gallik asit kalibrasyon grafiği



Şekil A.2 ABTS metodu ile yapılan antioksidan aktivite tayininde kullanılan troloks kalibrasyon grafiği



Şekil A.3 FRAP metodu ile yapılan antioksidan aktivite tayininde kullanılan troloks kalibrasyon grafiği