

İSTANBUL TEKNİK ÜNİVERSİTESİ ★ LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

**ENDÜSTRİYEL HAVUÇ SUYU ATIKLARINDAN ENZİM VE ULTRASON
DESTEKLİ EKSTRAKSİYON İLE GIDA BİLEŞENİ ÜRETİLMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Yasemin DEMİR

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Gıda Mühendisliği Programı

HAZİRAN 2024

İSTANBUL TEKNİK ÜNİVERSİTESİ ★ LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

**ENDÜSTRİYEL HAVUÇ SUYU ATIKLARINDAN ENZİM VE ULTRASON
DESTEKLİ EKSTRAKSİYON İLE GIDA BİLEŞENİ ÜRETİLMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**Yasemin DEMİR
(506201523)**

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Gıda Mühendisliği Programı

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Derya KAHVECİ KARINCAOĞLU

HAZİRAN 2024

ISTANBUL TECHNICAL UNIVERSITY ★ GRADUATE SCHOOL

**PRODUCTION OF FOOD INGREDIENTS FROM INDUSTRIAL CARROT
JUICE WASTE USING ENZYME AND ULTRASOUND ASSISTED
EXTRACTION**

M.Sc. THESIS

**Yasemin DEMİR
(506201523)**

Department of Food Engineering

Food Engineering Programme

Thesis Advisor: Assoc. Prof. Dr. Derya KAHVECİ KARINCAOĞLU

JUNE 2024

İTÜ, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü'nün 506201523 numaralı Yüksek Lisans Öğrencisi Yasemin DEMİR, ilgili yönetmeliklerin belirlediği gerekli tüm şartları yerine getirdikten sonra hazırladığı “ENDÜSTRİYEL HAVUÇ SUYU ATIKLARINDAN ENZİM VE ULTRASON DESTEKLİ EKSTRAKSİYON İLE GIDA BİLEŞENİ ÜRETİLMESİ” başlıklı tezini aşağıda imzaları olan jüri önünde başarı ile sunmuştur.

Tez Danışmanı : **Doç. Dr. Derya KAHVECİ KARINCAOĞLU**
İstanbul Teknik Üniversitesi

Jüri Üyeleri : **Prof. Dr. H. Funda KARBANCIOĞLU GÜLER**
İstanbul Teknik Üniversitesi

Dr. Öğr. Üyesi Banu BAYRAM
Sağlık Bilimleri Üniversitesi

Teslim Tarihi : 22 Mayıs 2024
Savunma Tarihi : 28 Haziran 2024





Sevgili Aileme,



ÖNSÖZ

Bu tez, dünya genelinde giderek artan bir endişe kaynağı haline gelen gıda israfı ve sürdürülebilirlik konularına odaklanmaktadır. Gıda israfı, sadece kaynakların gereksiz tüketilmesine neden olmakla kalmaz, aynı zamanda ekonomik, çevresel ve sosyal açılardan da ciddi sonuçlara yol açar. Sürdürülebilirlik ise, mevcut ve gelecek nesillerin ihtiyaçlarını karşılamak için kaynakların dengeli bir şekilde kullanılması anlamına gelir.

Bu çalışmanın amacı, dünyada çok fazla kullanım kaynağı olan havucun atılan kısımlarından değerli bileşenleri yeşil ekstraksiyon yöntemleri ile geri kazanmayı sağlamaktır. Bu bağlamda, tezde kullanılan yöntemler ve veri kaynakları ayrıntılı olarak açıklanmıştır. Ayrıca, gıda israfının azaltılması ve sürdürülebilirlik konularında daha fazla araştırma yapılmasına olan gereklilik vurgulanmıştır.

Öncelikle benden desteğini hiç esirgemeyen değerli hocam Doç. Dr. Derya KAHVECİ KARINCAOĞLU'na bu çalışmanın oluşumunda bana rehberlik ettiği ve her zaman yanımda olduğu için teşekkür ediyorum. Sadece laboratuvar çalışmalarım süresince değil her zaman bir hocadan daha çok bir arkadaş gibi yanımda olan bütün bilgi birikimini ve tecrübelerini paylaşan, moral desteğini, fikirlerini ve yardımlarını esirgemeyen Ar. Gör. Dilara Nur DİKMETAŞ'a ve Ar. Gör. Emine Gizem ACAR'a çok teşekkür ederim. Ayrıca lisans eğitimim süresince hiçbir konuda desteklerini esirgemeyen her ne olursa olsun gülen yüzü ile bizim sorunlarımızı dinleyip yardımcı olan sevgili hocam Ar. Gör. Yasemin Tuğba ÖĞÜNÇ'e çok teşekkür ederim.

İş ile yüksek lisans eğitimimi birlikte yürütebilmek konusunda hiçbir zaman desteklerini esirgemeyen sevgili yöneticim Seçil ALTINEL'e ve çok değerli çalışma arkadaşım Gökçe DEMİRARSLAN AKDENİZ'e teşekkür ederim.

Lisans eğitimimizden beri aramızda kilometre açısından mesafeler olsa da her zaman desteklerini yanımda hissettiğim, her konuda fikir danışabildiğim ve moralimi yüksek tutabildikleri için Aleyna YILMAZ ve Büşra AYDIN'a çok teşekkür ederim.

Bana okumayı, öğrenmeyi ve araştırma yapmayı sevdiren ve beni çalışkan, azimli bir öğrenci haline getiren saygı değer ilkokul öğretmenim İsmail KAYA'ya teşekkür ederim.

Ayrıca, bu tezi tamamlamamda bana destek olan sevgili babam Cebail DEMİR'e, annem Emine DEMİR'e ve kardeşim Merve DEMİR'e ve tüm arkadaşlarıma minnettarım.

En önemlisi de eğitim hayatım boyunca, “Hayatta en hakiki mürşit ilimdir, fendir.” sözünü ilke edinerek çıktığım bu yolda, bir kız çocuğu olarak bu ülkede eğitim görebilmemin, bir kadın olarak meslek sahibi olabilmemin önünü açan, bugün sahip olduğum her ne var ise onun sayesinde olan Türkiye Cumhuriyeti'nin kurucusu Mustafa Kemal Atatürk'e teşekkür ederim. Saygı, sevgi ve minnetle kendisini anıyor ve O'nun izinde gitmekten gurur duyuyorum.

Son olarak, umarım bu çalışma, gıda israfının azaltılması ve sürdürülebilirlik ilkelerinin benimsenmesi konularında farkındalığı artırır ve ilgili alanda yeni araştırmalara ilham verir.

MYLB-2023-44617 kodlu bu çalışma İstanbul Teknik Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir.

Mayıs 2024

Yasemin DEMİR



İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖNSÖZ.....	ix
İÇİNDEKİLER	xi
KISALTMALAR	xiii
SEMBOLLER	xv
ÇİZELGE LİSTESİ.....	xvii
ŞEKİL LİSTESİ.....	xix
ÖZET.....	xxi
SUMMARY	xxiii
1. GİRİŞ	1
1.1 Tezin Amacı	1
1.2 Literatür Taraması	1
1.2.1 Gıda atıklarının değerlendirilmesi	1
1.2.1.1 Gıda atıklarının biyoaktif bileşikler bakımından değerlendirilmesi ..	4
1.2.2 Fenolik madde	6
1.2.3 Beta karoten	8
1.2.4 Likopen	12
1.2.5 Enzim destekli ekstraksiyon	13
1.2.6 Ultrason destekli ekstraksiyon	15
1.2.7 Gıda atıklarından bileşen eldesinde enzim ve ultrason destekli ekstraksiyon uygulamaları.....	16
1.2.8 Havuç endüstrisi atıkları ve değerlendirilme yöntemleri.....	21
1.3 Hipotez	22
2. MATERYAL VE METOD.....	23
2.1 Materyal.....	23
2.2 Metot	23
2.2.1 Geleneksel ekstraksiyon	24
2.2.2 Enzim destekli ekstraksiyon	25
2.2.3 Ultrason destekli ekstraksiyon	26
2.2.4 Ekstraktın karakterizasyonu.....	26
2.2.4.1 Beta-karoten ve likopen konsantrasyonunun belirlenmesi	26
2.2.4.2 Toplam fenolik madde konsantrasyonunun belirlenmesi	27
2.2.4.3 Toplam flavonoid madde konsantrasyonunun belirlenmesi	28
2.2.4.4 Antioksidan aktivitenin belirlenmesi	29
2.2.4.5 Antimikrobiyal aktivitenin belirlenmesi	29
2.3 İstatistiksel Analiz	30
3. BULGULAR VE TARTIŞMA	31
3.1 Geleneksel Ekstraksiyon	31
3.2 Enzim Destekli Ekstraksiyon	33
3.3 Ultrason Destekli Ekstraksiyon	35
3.4 Ekstraktın Karakterizasyonu	36
3.4.1 Beta-karoten ve likopen konsantrasyonu.....	36

3.4.2 Toplam fenolik madde konsantrasyonu	38
3.4.3 Toplam flavonoid madde konsantrasyonu	39
3.4.4 Antioksidan aktivite	40
3.4.5 Antimikrobiyal aktivite	41
4. SONUÇ VE ÖNERİLER	43
KAYNAKLAR	45
ÖZGEÇMİŞ	59



KISALTMALAR

atm	: Atmosfer Basıncı
BHT	: Bütillendirilmiş hidroksi toluen
dk	: Dakika
DPPH	: 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil
FAO	: Gıda ve Tarım Örgütü
g	: Gram
GAE	: Gallik Asit Eşdeğeri
kg	: Kilogram
kHz	: Kilohertz
MBK	: Minimum Bakterisidal Konsantrasyonu
mg	: Miligram
MHA	: Mueller Hinton Agar
MHB	: Mueller Hinton Broth
MİK	: Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu
mL	: Mililitre
nm	: nanometre
rpm	: devir/dakika
UNEP	: Birleşmiş Milletler Çevre programı
µg	: Mikrogram
µL	: Mikrolitre



SEMBOLLER

°C	: Santigrat
%	: Yüzde
CO₂	: Karbondioksit
SC-CO₂	: Süper Kritik - Karbondioksit
Na₂CO₃	: Sodyum Karbonat
NaNO₂	: Sodyum Nitrat
AlCl₃	: Alüminyum Klorür
NaOH	: Sodyum Hidroksit



ÇİZELGE LİSTESİ

Sayfa

Çizelge 1.1 : Gıda atıklarından karoten ve fenolik madde eldesinde kullanılan kaynaklar, elde edilen bileşenler ve metotlar.	18
Çizelge 2.1 : Optimum katı sıvı oranı ve solvent türünü belirlemek için kullanılacak olan deneme deseni.	25
Çizelge 2.2 : Optimum enzim miktarı, enzim türü ve enzimatik ön işlem süresini belirlemek için kullanılacak olan deneme deseni.	25
Çizelge 3.1 : Havuç posasına geleneksel ekstraksiyon işlemi uygulanması sonrası optimum katı sıvı oranı ve solvent türü sonuçları.	31
Çizelge 3.2 : Havuç posasına enzim ekstraksiyon ön işlemi uygulanması sonrası optimum enzim türü sonuçları.	33
Çizelge 3.3 : Havuç posasına enzim ekstraksiyon ön işlemi uygulanması sonrası optimum enzim miktarı ve ekstraksiyon süresi sonuçları.	33
Çizelge 3.4 : Havuç posasına enzim ekstraksiyon ön işlemi uygulanması sonrası optimum ekstraksiyon süresi sonuçları.	35
Çizelge 3.5 : Havuç posasına farklı ekstraksiyon işlemleri uygulanması sonrası elde edilen ekstraktın analiz sonuçları.	36
Çizelge 3.6 : Havuç posasına farklı ekstraksiyon işlemleri uygulanması sonrası MİK ve MBK (mg/mL) sonuçları.	41



ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 1.1 : Amerika Birleşik Devletleri Çevreyi Koruma Ajansı - Gıda Atık Ölçeği.	3
Şekil 1.2 : Fenolik asitlerin ve flavonoidlerin temel yapıları.	6
Şekil 1.3 : Karotenler. a) alfa karoten, b) beta karoten.	9
Şekil 1.4 : Meyve ve sebzelerde beta karoten içeriği.	10
Şekil 1.5 : Likopenin kimyasal yapısı.	13
Şekil 2.1 : Optimizasyon akışı ve elde edilen sonuçlar.	24
Şekil 2.2 : Farklı konsantrasyonlardaki beta-karoten solüsyonlarının 450 nm'deki absorbens değerleri ve standart eğrisi.	27
Şekil 2.3 : Farklı konsantrasyonlardaki likopen solüsyonlarının 503 nm'deki absorbens değerleri ve standart eğrisi.	27
Şekil 2.4 : Farklı konsantrasyonlardaki Gallik Asit solüsyonlarının 765 nm'deki absorbens değerleri ve standart eğrisi.	28
Şekil 2.5 : Farklı konsantrasyonlardaki rutin solüsyonlarının 510 nm'deki absorbens değerleri ve standart eğrisi.	29
Şekil 3.1 : Katı sıvı oranı ve solvent türünün seçimi için uygulanan Yanıt İyileştirici testinin sonuçları.	32
Şekil 3.2 : Enzim türü, enzim miktarı ve enzimatik ön işlem süresinin seçimi için uygulanan Yanıt İyileştirici testinin sonuçları.	34



ENDÜSTRİYEL HAVUÇ SUYU ATIKLARINDAN ENZİM VE ULTRASON DESTEKLİ EKSTRAKSİYON İLE GIDA BİLEŞENİ ÜRETİLMESİ

ÖZET

Küresel olarak, insan tüketimi için üretilen gıdaların yaklaşık üçte birinin kaybolması veya israf edilmesi en önemli gıda sistemi sorunlarından biridir. Nüfus ve tüketim sürekli artarken, gıda talebinin en azından bir sonraki 40 yıl boyunca artması beklenmektedir, bu da doğal kaynaklar olan toprak, su ve enerji üzerinde baskı oluşturmaktadır. Gıda israfının önlenmesi bir önceliktir, ancak bazen bu ekonomik veya teknolojik olarak mümkün olmamaktadır. Bu nedenle, gıda atıklarının yem ve enerji üretimi gibi çeşitli süreçler için kaynak olarak kullanılması için çaba gösterilmektedir. Tarım ve gıda sektörlerinden gelen atıklar besin maddeleri bakımından zengin olmasına rağmen, bunların bertarafı çevresel ve sağlık sorunlarına yol açabilmektedir. Araştırmacılar, bu sorunları en aza indirmek ve değerli biyoaktif bileşikleri çıkarmak için ultrasonik ve enzimatik destekli ekstraksiyon gibi çevre dostu teknolojileri araştırmaktadır. Çevre dostu metotlar arasında yer alan enzim ve ultrason destekli ekstraksiyon; çözgen kullanımını azaltarak, daha az enerji sarfıyatı sağlayarak ve verimi artırarak fayda sağlamayı amaçlamaktadır. Havuç sebzesi meyve suyu fabrikalarında işlendikten sonra genellikle endüstriyel atık olarak atılır veya hayvan yemi olarak kullanılırken, ortaya çıkan bu yan ürün karotenoidler ve fenolik bileşikler gibi yüksek oranda yararlı bileşikler içermektedir. Dolayısıyla bu yan ürünün farklı endüstrilerde (gıda, sağlık, kozmetik vb.) kullanılmasının hem katma değerli ürün elde edilmesinde hem de çevresel konularda faydalı olabileceği düşünülmektedir. Bu çalışmanın amacı, endüstriyel havuç suyu atıklarına çevre dostu ön işlemler (enzimatik ve ultrasonik destekli ekstraksiyon) uygulanarak gıda endüstrisinde önemli kullanım alanı olan bileşenlerin elde edilmesi için Sürdürülebilir Kalkınma Hedefleri'ne uygun bir yaklaşım geliştirilmesi amaçlanmakla birlikte çalışmada bahsedilen yöntemler üzerinde optimizasyon koşullarının belirlenmesidir.

Öncelikle, geleneksel, enzimatik ve ultrasonik yöntemlerin her biri için solvent türü, katı-sıvı oranı, enzim türü, enzim miktarı, enzimatik ve ultrasonik destekli ön işlem süresi parametreleri beta karoten, likopen, toplam fenolik madde konsantrasyonlarına ve DPPH % inhibisyonuna göre optimize edilmiştir. Analizler spektrofotometre ile belirlenen dalga boylarında ölçümlenmiştir. Yapılan çalışmalar sonucunda solvent türü ve katı-sıvı oranı sırası ile etanol ve 1:40 (w/v) olmuştur. Enzimatik ön işlem parametreleri ise enzim türü için Pectinex® XXL, enzim miktarı için 300 µL ve ekstraksiyon süresi için 120 dk optimum koşulları vermiştir. Ultrasonik ön işlemin süresi 20 dk olarak belirlenmiştir. Sonuçlara göre, belirlenen bu optimum koşulların geleneksel, enzimatik ve ultrasonik ön işlem destekli ekstraksiyon yöntemlerine uygulanması ile istatistiksel olarak enzim ve ultrason ile ön işlem uygulamasının bu gıda bileşenlerinin geri kazanımını artırabileceğini göstermiştir ($p<0.05$).

Optimum koşullar belirlendikten sonra havuç posaları geleneksel, enzimatik destekli, ultrasonik destekli, enzimatik-ultrasonik destekli ve ultrasonik-enzimatik destekli 5

farklı ekstraksiyon yöntemi ve kombinasyonu ile ekstrakte edilmiştir. Elde edilen bütün sıvı ekstraktların önce dönel buharlaştırıcı ile içerdiği etanol uçurulmuş daha sonra ise dondurarak kurutulmuştur. Bütün analizler katı madde üzerine uygulanmıştır. Ekstraksiyon yöntemlerine göre elde edilen bileşenlerin konsantrasyon sonuçlarına baktığımızda enzimatik destekli ekstraksiyonun sonuçları diğer yöntemlere göre daha etkili bulunmuştur. Enzim destekli ekstraksiyonun sonuçları şu şekildedir: $26,37 \pm 0,26$ mg/g beta-karoten konsantrasyonu, $20,93 \pm 0,005$ mg/g likopen konsantrasyonu, $9,97 \pm 1,38$ mg GAE/g toplam fenolik madde konsantrasyonu, $209,44 \pm 7,98$ mg rutin/g toplam flavonoid madde konsantrasyonu ve $25,57 \pm 4,15$ DPPH % inhibisyonudur. Ayrıca hem *E.coli* hem de *Salmonella* Typhimurium için en etkili antimikrobiyal aktivite gösteren yöntemin enzim destekli ekstraksiyon yöntemi olduğu gözlemlenmiştir. Bulgulara bakıldığında enzim uygulamasının hücre duvarını parçalaması özelliğinden dolayı hedef bileşenlerin salınımını büyük ölçüde etkilediği söylenebilmektedir. Ek olarak Enzim - Ultrason Destekli Ekstraksiyon uygulamasının ise ikinci etkili yöntem olduğu tespit edilmiştir. Bu uygulamada ise ek olarak ultrason kullanımının kavitasyon etkisi ile hücre duvarını parçalayarak verimi artırmada etkili rol oynadığı gözlemlenmiştir.

PRODUCTION OF FOOD INGREDIENTS FROM INDUSTRIAL CARROT JUICE WASTE USING ENZYME AND ULTRASOUND ASSISTED EXTRACTION

SUMMARY

It is estimated that globally, one-third of the edible parts of food produced for human consumption is lost or wasted. Wasted food is a major component of the world's food system problems. The global population is rapidly increasing, urbanizing and becoming richer; This is leading to diversification of dietary patterns and increased demand for land, resources and greenhouse gas-intensive foods such as meat and dairy. It is estimated that continuing population and consumption growth worldwide will lead to an increase in global food demand for at least another 40 years, which will lead to an intensified use of natural resources, especially land, water and energy. These challenges are further exacerbated by the world's changing environmental conditions, which cause food production to become unpredictable and increasingly difficult globally. Although preventing/reducing food waste is considered a top priority, it is sometimes not economically or technologically possible. In this sense, food waste should be evaluated as much as possible because it can be used as a resource for many other processes such as feed and energy production. Wastes from the agricultural and food sectors are often rich in proteins, carbohydrates and lipids, which serve as breeding grounds for numerous microorganisms. The presence of nutrients and high moisture content in food waste is the main cause of dioxin formation during the incineration of food waste, leading to various health and environmental problems. With the concept of sustainable development, researchers strive to transform waste into high-value products. Sustainable development of the circular bioeconomy concept is only possible by adopting potential advanced technologies for the utilization of food waste. Advanced technologies such as ultrasound-assisted extraction, microwave-assisted extraction, bioreactors, enzyme immobilization-assisted extraction and their combination can minimize the global concern arising from mismanagement of food waste. Although artificial bioactive compounds have been approved for food applications in many countries, their use is not well received by consumers. Therefore, there is increasing interest in replacing artificial bioactive compounds with natural bioactive compounds. These natural compounds can be used as food additives to maintain food quality, food safety and appearance, and as food supplements or nutraceuticals to correct nutritional deficiencies, maintain appropriate nutrient intake or support physiological functions, respectively. Recent research reveals that a large number of food wastes, especially fruit and vegetable by-products, are a good source of bioactive compounds that can be extracted and reintroduced into the food chain as natural food additives or in food matrices to obtain nutraceuticals and functional foods. Utilizing such food waste not only reduces the burden of bio-waste on industries and the ecosystem, but also positively affects the profitability of the industry by ensuring the production of high value-added products.

Enzyme and ultrasound-assisted extraction, which are among the environmentally friendly methods; It aims to provide benefits by reducing solvent use, providing less energy consumption and increasing efficiency. Food waste contains different types of valuable substances depending on their type. Carotenoids and phenolic compounds are two important compounds that can be obtained from food waste through these environmentally friendly methods. Since the majority of food waste consists of fruits and vegetables, there are many studies on recycling. Citrus peel, apple peel, carrot pulp, grape peel, and pomegranate peel are common examples used in many studies. While the carrot vegetable is usually discarded as industrial waste or used as animal feed after being processed in juice factories, this resulting by-product contains highly beneficial compounds such as carotenoids and phenolic compounds. Therefore, it is thought that the use of this by-product in different industries (food, health, cosmetics, etc.) can be beneficial both in obtaining value-added products and in environmental issues. The aim of this study is to develop an approach in line with the Sustainable Development Goals to obtain components that have important uses in the food industry by applying environmentally friendly pre-treatments (enzymatic and ultrasonic assisted extraction) to industrial carrot juice waste, and to determine optimization conditions on the methods mentioned in the study. When we look at the literature, there is no study in which combinations of different environmentally friendly methods are used to extract all of these components.

First of all, carrot pulps, which were frozen at -40°C for traditional extraction, were thawed at room temperature. Then, 5 g of carrot pulp was weighed and 100 mL of ethanol was added. The samples were kept in a shaking water bath at 150 rpm for 60 minutes. At the end of 60 minutes, the liquid and solid phases were separated from the samples. While the liquid phases were taken into separate falcons, 100 mL of ethanol was added to the solid phases and kept in a shaking water bath under the same conditions for another 60 minutes. At the end of 60 minutes, the liquid and solid phases were separated again and added to the liquid phase taken at the end of the first hour. Finally, the obtained liquid part was subjected to phenolic substance amount, flavonoid substance amount, beta carotene and lycopene amount and DPPH % inhibition analysis. To select the most effective solvent and solid-liquid ratio for extraction, 3 different solvents (ethanol, hexane and 1:1 ethanol-hexane mixture) and 3 different ratios (1:20, 1:30 and 1:40) were tried. Then, before enzyme-assisted extraction, 5 g of carrot pulp was weighed and 50 mL of pure water was added. The pH of the samples was adjusted to 5 and 300 μL of Pectinex® XXL was added. It was kept in a shaking water bath previously heated to 50°C for 120 minutes. Then, the samples were taken into falcons and centrifuged at 25°C and 8000 rpm for 10 minutes to separate water and pulp. The shaking water bath was brought back to room temperature and the traditional extraction method was applied to the carrot pulps in the same way. Celluclast® 1.5L, Pectinex® XXL and Celluclast® 1.5L - Pectinex® XXL (1:1 v/v) Mixture enzymes were used to decide the enzyme type. To determine the amount of enzyme and pretreatment time required for enzymatic pretreatments, 3 different enzyme amounts (200, 300 and 500 μL) and 3 different times (30, 60 and 120 min) were used. In the ultrasound-assisted extraction method, 100 mL of ethanol was added to 5 g of carrot pulp and subjected to 35 kHz frequency for 20 minutes in an ultrasonic water bath. Then, the traditional extraction method was applied to the samples in the same way. Pretreatment times of 10, 20 and 30 min were used to determine the ultrasound pretreatment time. Additionally, in order to see the effect of sequential combinations of methods, enzymatic-ultrasonic sequential pretreatment and ultrasonic-enzymatic sequential pretreatment were applied according to the selected

optimum conditions. The ethanol contained in all the liquid extracts obtained was first evaporated using a rotary evaporator and then freeze-dried. All analyzes were performed on solid matter. As a result of the studies, the solvent type and solid-liquid ratio were ethanol and 1:40 (w/v), respectively. Enzymatic pretreatment parameters gave the optimum conditions as Pectinex® XXL for enzyme type, 300 µL for enzyme amount and 120 min for extraction time. The duration of ultrasonic pretreatment was determined as 20 min. According to the results, the application of these optimum conditions to traditional, enzymatic and ultrasonic pretreatment assisted extraction methods statistically showed that enzyme and ultrasound pretreatment can increase the recovery of these food components ($p < 0.05$). Total beta carotene, lycopene, phenolic substance amount, flavonoid substance amount and antioxidant activity of the extract obtained under the selected optimum conditions were determined using spectrophotometric methods. Antimicrobial activity analyzes were performed by the double-layer serial dilution method. When we look at the concentration results of the components obtained according to the extraction methods, the results of enzymatic assisted extraction were found to be more effective than other methods. The results of enzyme-assisted extraction are as follows: 26.37 ± 0.26 mg/g beta-carotene concentration, 20.93 ± 0.005 mg/g lycopene concentration, 9.97 ± 1.38 mg GAE/g total phenolic substance concentration, 209.44 ± 7.98 mg rutin/g total flavonoid substance concentration and 25.57 ± 4.15 DPPH % inhibition. Additionally, it was observed that the method showing the most effective antimicrobial activity for both *E.coli* and *Salmonella* Typhimurium was the enzyme-assisted extraction method. Considering the findings, it can be said that enzyme application greatly affects the release of target components due to its ability to break down the cell wall. Additionally, Enzyme - Ultrasound Assisted Extraction has been found to be the second effective method. In this application, it has been observed that the use of ultrasound also plays an effective role in increasing the efficiency by breaking down the cell wall with the cavitation effect.

This system, which has been tested at laboratory scale, needs to be produced in industry-used sizes and its applicability tested. However, the sensitivity of the components to be recovered may make this application difficult on a large scale and may create an additional cost. On the other hand, due to increasing demand, sustainability and environmental concerns, the importance of recycling with environmentally friendly methods will increase even more. Based on the findings obtained in this study, studies can be carried out to obtain components with higher efficiency or more advanced quality properties.



1. GİRİŞ

1.1 Tezin Amacı

Havuç posası, havucun ağırlıkça önemli ve değerli bileşenler (fenolik madde, pektin ve karotenler gibi) içeren bölümünü oluşturmaktadır. Bu çalışmada, üretim koşullarının ve uygulanan farklı ön işlemlerin, elde edilen gıda bileşenlerinin verimine ve kalitesine olan etkileri araştırılacaktır. Böylece endüstriyel havuç suyu atıklarına çevre dostu işlemler (enzim ve ultrason destekli ekstraksiyon) uygulanarak gıda endüstrisinde önemli kullanım alanı olan gıda bileşenleri elde edilmesi için Sürdürülebilir Kalkınma Hedefleri'ne uygun bir yaklaşım geliştirilmesi amaçlanmakla birlikte çalışmada bahsedilen yöntemler üzerinde optimizasyon çalışması da yapılacaktır.

1.2 Literatür Taraması

1.2.1 Gıda atıklarının değerlendirilmesi

Gıda kayıpları ve atıkları, yetiştirme, aşırı hasat, işleme, depolama ve dağıtımdan özel haneler ve gıda hizmeti sektörü tarafından nihai tüketime kadar gıda zinciri boyunca oluşmaktadır (Goossens ve diğ., 2019).

Gıda atıklarının tanımları evrensel olarak kabul edilmemektedir (Lebersorger ve Schneider, 2011), bu da gıda atıklarının araştırılmasını ve ölçülmesini zorlaştırmaktadır (Buzby ve Hyman, 2012). Hangi malzemelerin dahil edildiğine, üretim araçlarına ve yönetim yaklaşımlarına bağlı olarak farklı sınıflandırmalar oluşturulmaktadır (Gjerris ve Gaiani, 2013). Gıda kaybı, gıda atığı, biyolojik atık ve mutfak atığı gibi birçok terim birbirinin yerine kullanılmaktadır (Schneider, 2013). Thyberg ve Tonjes'e göre gıda kaybı, tedarik zincirinin özellikle insan tüketimine yönelik yenilebilir gıdalara yol açan kısmı boyunca yenilebilir gıda kütlelerinde azalma iken; gıda atığı, başlangıçta insan tüketimi için üretilen ancak daha sonra atılan veya insanlar tarafından tüketilmeyen yiyecekler, atılmadan önce bozulan ve atıldığında hâlâ yenilebilir olan yiyecekleri ifade etmektedir (Thyberg ve Tonjes, 2016). Burada

odak noktası gıda kaybından ziyade gıda israfıdır çünkü gelişmiş dünyada gıda atığı, gıda kaybından daha yüksek miktarlarda üretilmektedir. Bu nedenle, en büyük azaltma potansiyeli, kayıptan (üretim ve işleme sektörleri) ziyade gıda israfını yaratanlarda (perakende ve tüketici sektörleri) yatmaktadır (Papargyropoulou ve diğ., 2014; Parfitt ve diğ., 2010).

Küresel olarak, insan tüketimi için üretilen gıdaların yenilebilir kısımlarının üçte birinin kaybolduğu veya israf edildiği tahmin edilmektedir (Gustavsson ve diğ., 2011). İsraf edilen gıda, dünyadaki gıda sistemi sorunlarının önemli bir bileşenidir. Küresel nüfus hızla artmakta, kentleşmekte ve zenginleşmektedir; bu da beslenme kalıplarının çeşitlenmesine ve araziye, kaynaklara ve et ve süt ürünleri gibi sera gazı yoğun gıdalara olan talebin artmasına yol açmaktadır. Dünya çapında devam eden nüfus ve tüketim artışının, küresel gıda talebinde en az 40 yıl daha artışa yol açacağı, bunun da başta toprak, su ve enerji olmak üzere doğal kaynakların kullanımının yoğunlaşmasına yol açacağı tahmin edilmektedir (Godfray ve diğ., 2010). Bu zorluklar, gıda üretiminin tahmin edilemez olmasına ve küresel olarak giderek zorlaşmasına neden olan dünyanın değişen çevre koşullarıyla daha da kötüleşmektedir (Garnett, 2014).

FAO verilerine göre, 2022 yılında dünyada ortalama 735 milyon kişi açlıkla karşı karşıya kalmıştır (FAO, 2023). UNEP verilerine göre ise, 2019 yılında yaklaşık 931 milyon ton gıda atığının üretildiği tahmin edilmekte; bunların yüzde 61'i hanelerden, yüzde 26'sı gıda hizmetlerinden ve yüzde 13'ü perakende satışlardan gelmektedir. Bu, toplam küresel gıda üretiminin yüzde 17'sinin (yüzde 11'i hanelerde, yüzde 5'i gıda hizmetinde ve yüzde 2'si perakende satışta) israf edilebileceğini göstermektedir. Gıda İsrafi Endeksi'ndeki küresel tahminler, küresel tüketici gıda atıklarının önceki tahminlerin yaklaşık iki katı olabileceğini öne sürmektedir. Bu, dünya çapında tüketici gıda atıklarına karşı harekete geçilmesi gerektiğini göstermektedir. Sürdürülebilir Kalkınma Hedefi 12.3'te 2030 yılına kadar perakende ve tüketici düzeyinde kişi başına düşen küresel gıda atıklarının yarıya indirilmesi ve hasat sonrası kayıplar da dahil olmak üzere üretim ve tedarik zincirlerindeki gıda kayıplarının azaltılmasını sağlamak amacıyla ulusal gıda atığı stratejileri ve politikaları planlanmaktadır (UNEP, 2021).

Gıda atıklarının yönetimi, 3R konseptini temel alan belirli politikaları takip etmelidir; bu politikalar azaltma, yeniden kullanma ve geri dönüştürmedir. Avrupa'da ise gıda atıkları yönetimi Atık Çerçeve Direktifi 2008/98/EC'ne göre önleme, yeniden

kullanıma hazırlama, geri dönüşüm, geri kazanım ve yok etme hiyerarşisini önermektedir (Vandermeersch ve diğ., 2014). Gıda israfının önlenmesi/azaltılması en yüksek öncelik olarak görülse de bazen ekonomik olarak veya teknolojik olarak mümkün olmamaktadır. Bu anlamda gıda atıklarının, yem ve enerji üretimi gibi birçok başka proses için kaynak olarak kullanılabilmesi nedeniyle mümkün olduğu kadar değerlendirilmesi gerekmektedir (Contreras ve diğ., 2009). Amerika Birleşik Devletleri Çevreyi Koruma Ajansı'nın (EPA) Ekim 2023'de bildirmiş olduğu Gıda Atık Ölçeğinde ise israf edilen gıdaların imha edilmesini önleyen ve uzaklaştıran eylemlere öncelik vermektedir (EPA, 2023). Ölçeğin katmanları, gıda israfını önlemek veya yönetmek için sol üstte en çok tercih edilenden sağ üstte en az tercih edilene doğru sıralanmış farklı yolları vurgulamaktadır (Şekil 1.1). Gıda atıklarının değerlendirilmesi teknolojileri (örn. anaerobik sindirim, kompostlaştırma, atık depolama sahasına atma, yakma ve aynı zamanda yem üretimi için hammadde olarak kullanılması) birbirinden oldukça farklı olabilmektedir (Vandermeersch ve diğ., 2014).



Şekil 1.1 : Amerika Birleşik Devletleri Çevreyi Koruma Ajansı - Gıda Atık Ölçeği.

Tarım ve gıda sektörlerinden kaynaklanan atıklar çoğunlukla çok sayıda mikroorganizma için üreme alanı görevi gören protein, karbonhidrat ve lipid bakımından zengindir. Gıda atıklarında besin maddesinin ve yüksek nem içeriğinin varlığı, gıda atıklarının yakılması sırasında dioksin oluşumunun ana nedeni olmaktadır ve çeşitli sağlık ve çevre sorunlarına yol açmaktadır (Sharma ve diğ.,

2020). Sürdürülebilir kalkınma kavramı ile birlikte araştırmacılar, atıkların yüksek değere sahip ürünlere dönüştürülmesi için çaba göstermektedir (Bilal ve Iqbal, 2019 , Ong ve diğ., 2018, Sindhu ve diğ., 2020). Döngüsel biyoekonomi kavramının sürdürülebilir gelişimi ancak gıda atıklarının değerlendirilmesine yönelik potansiyel ileri teknolojilerin benimsenmesiyle mümkün olmaktadır. Ultrason destekli ekstraksiyon, mikrodalga destekli ekstraksiyon, biyoreaktörler, enzim immobilizasyonu destekli ekstraksiyon ve bunların kombinasyonu gibi ileri teknolojiler, gıda atıklarının yanlış yönetilmesinden kaynaklanan küresel endişeyi en aza indirebilmektedir. Gıda atıklarının ileri teknikler kullanılarak sıfırın altındaki seviyeye ayrıştırılması, gıda atıklarının biyoaktif bileşikleri (antioksidanlar, pigmentler, polisakkaritler, polifenoller vb.) biyo bazlı ürünlere (biyodizel, biyometan, biyohidrojen ve biyoplastik) dönüştürülebilmektedir (Sharma ve diğ., 2021).

Literatürde farklı gıda atığı yönetimi seçeneklerinin çevresel performansını değerlendiren çeşitli çalışmalar bulunmaktadır. Cherubini ve diğ. (2009), gıda atıklarının organik kısmının anaerobik sindirim için, inorganik kısmının ise yakma için kullanılması, çöp sahasına atılmasından daha iyi sonuçlar vermektedir. Güney Kore'de gerçekleştirilen çalışmalarda, gıda atıklarının yem üretimi ve kompostlama için kullanılması, çöp depolama alanlarına göre daha düşük küresel ısınma potansiyeli ve daha yüksek kaynak geri kazanımı ortaya koyarken, daha yüksek ötrofikasyon, asitleşme ve tatlı su ekotoksiste potansiyelleri ortaya koymaktadır (Kim ve Kim, 2010, Lee ve diğ., 2007).

1.2.1.1 Gıda atıklarının biyoaktif bileşikler bakımından değerlendirilmesi

Günümüzde yapay biyoaktif bileşikler birçok ülkede gıda uygulamaları için onaylanmış olsa da tüketiciler açısından kullanımı çok olumlu karşılanmamaktadır. Bu nedenle, yapay biyoaktif bileşiklerin doğal biyoaktif bileşiklerle değiştirilmesine olan ilgi giderek artmaktadır. Bu doğal bileşikler, gıda kalitesini, gıda güvenliğini ve görünümünü korumak için gıda katkı maddeleri olarak ve sırasıyla beslenme eksikliklerini düzeltmek, uygun besin alımını sürdürmek veya fizyolojik fonksiyonları desteklemek için gıda takviyeleri veya nutrasötikler olarak kullanılabilir. Yapılan son araştırmalara göre, çok sayıda gıda atığının, özellikle de meyve ve sebze yan ürünlerinin, doğal gıda katkı maddeleri olarak veya nutrasötikler ve fonksiyonel gıdalar elde etmek için gıda matrislerinde ekstrakte edilebilecek ve gıda zincirine

yeniden eklenebilecek iyi bir biyoaktif bileşik kaynağı olduğunu ortaya koymaktadır (Vilas-Boas ve diğ., 2021).

Biyoaktif bileşikler, farklı metabolik veya fizyolojik etkiler gösteren besleyici ve besleyici olmayan maddeleri içermektedir. Biyoaktif bileşiklere doğada yaygın olarak bulunan ve çeşitli meyve, yaprak ve çiçeklerde bulunan, sağlığa fayda sağlayan ve insan vücudunu farklı kronik hastalıklara (obezite, diyabet, dislipidemi, karaciğer hastalıkları gibi) karşı koruyan karotenoidler, fenolik bileşikler, antosiyaninler, askorbik asit ve tokoferoller örnek gösterilebilmektedir (da Fonseca Antunes ve diğ., 2024).

Tüketicinin "temiz etiket" tercihleri, yapay olanların yerine doğal bileşiklerin kullanımını belirlemekte, bilim insanlarını yeni doğal alternatif kaynakları aramaya ve dikkatlerini tarımsal gıda yan ürünlerinin kullanımına yönlendirmektedir. En çok bildirilen potansiyellerden biri ise gıda tedarik zincirinde yüksek miktarda kalıntı ürettiği ve farklı amaçlar için kullanılabilecek farklı bileşik türleri açısından zengin olduğu için meyve ve sebze atıklarıdır (Vilas-Boas ve diğ., 2021).

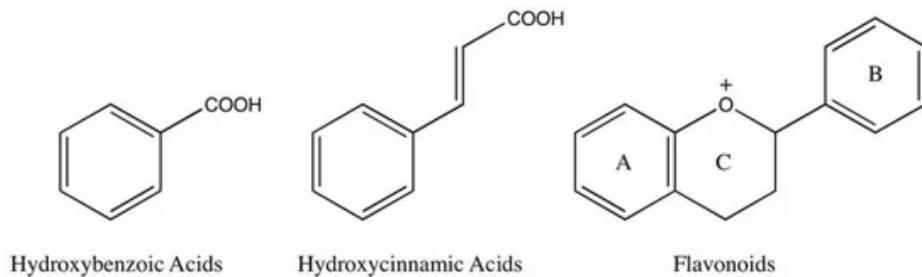
Literatüre bakıldığında biyoaktif bileşiklerin ekstraksiyonu için yeni teknolojilerin kullanımını içeren birçok araştırma mevcuttur. Bu araştırmalardan bazıları şunlardır;

Ultrason destekli ekstraksiyonunun mango kabuğundan fenolik bileşiklerin ve pektinin ekstraksiyonunda etkili olduğu bulunmuştur. Ultrason yönteminin, galakturonik asit içeriğini ve esterleşme derecesini etkilemeden pektin ekstraksiyon verimini %50'den fazla artırdığı ve böylece ekstrakte edilen pektinin kalitesini bozulmadan koruduğu belirtilmiştir (Guandalini ve diğ., 2019). Mikrodalga destekli ekstraksiyon kullanılarak portakal kabuğu ve kabak posasından pektin ekstraksiyonunun sırasıyla 181,3 mg/g ve 113 mg/g gibi daha yüksek verim ürettiği gösterilmiştir (Müller-Maatsch ve diğ., 2016). Uçucu yağ asidi üretimi için petrol bazlı kimyasal öncüllerin (alkenler ve aldehitler) gıda atıkları ile değiştirilmesi, gıda atıkları değerlemesinin sürdürülebilir bir yaklaşımı olarak ekonomik büyümeye ve daha yeşil çevre gelişimine önemli ölçüde katkıda bulunmaktadır. Gıda atıklarının besleyici profili, gelişmiş uçucu yağ asitleri geri kazanımı ve Polihidroksialkonatlar üretimi gibi yeterli miktarda katma değerli ürün üretimini desteklemektedir. Küresel olarak, meyve suyu ve gıda işleme sırasında önemli miktarda gıda işleme atığı (kabuklar ve lifler gibi) üretilmektedir. Bu gıda

atıklarının, yararlı biyomoleküller elde etmek için uyumlu, temiz teknolojiler kullanılarak değerlendirilmesi gerekmektedir (Giroto ve diğ., 2015; Mirabella ve diğ., 2014; Santana-Méridas ve diğ., 2012). Çeşitli çalışmalar meyve kabuklarının flavonoidler , fenolik asitler vb. gibi doğal antioksidanlar dahil biyolojik olarak aktif bileşikler açısından zengin olduğunu göstermektedir (El-ghfar ve diğ., 2016). Örneğin, bir çalışmada atık meyve kabuklarından antioksidan ekstraksiyonu için pektinaz ve selüloz enzimleri kullanılmıştır (Sharma ve diğ., 2021). Bu tür gıda atıklarının değerlendirilmesi, yalnızca biyo-atıkların endüstriler ve ekosistem üzerindeki yükünü azaltmakla kalmamakta, aynı zamanda yüksek katma değerli ürünlerin üretilmesini sağlayarak endüstrinin kârlılığını da olumlu yönde etkilemektedir (Lin ve diğ., 2013).

1.2.2 Fenolik madde

Bitkisel gıdalar, antioksidan görevi görebilen fenolik maddelerce zengin kaynaklardır. Meyve, sebze ve baklagiller gibi bitkisel ürünlerin tüketiminin sağladığı koruma çoğunlukla fenolik maddelerin varlığıyla ilişkilidir. Fenolik maddeler bitkilerde kısmen patojen ve böcek saldırısı, UV radyasyonu ve yaralanma gibi ekolojik ve fizyolojik baskılara yanıt olarak sentezlenmektedir. Fenolik maddelerin yapısı bir veya daha fazla hidroksil grubu taşıyan aromatik bir halkadır. Fenolik asitlerin ve flavonoidlerin temel yapıları Şekil 1.2'deki gibidir (Khoddami ve diğ., 2013). Gallik asit, kafeik asit, kateşin ve resveratrol fenolik maddelere örnek verilebilir. Bitki fenolik bileşikler, moleküldeki fenol birimlerinin sayısına bağlı olarak basit fenoller veya polifenoller olarak sınıflandırılmaktadır. Dolayısıyla bitki fenolikleri basit fenoller, kumarinler, ligninler, lignanlar, yoğunlaştırılmış ve hidrolize edilebilir tanenler, fenolik asitler ve flavonoidler alt sınıflarını içermektedir (Soto-Vaca ve diğ., 2012).



Şekil 1.2 : Fenolik asitlerin ve flavonoidlerin temel yapıları.

Flavonoidler en yaygın fenoliklerden bazılarıdır, bitki dokularında yaygın olarak bulunurlar ve genellikle karotenoidler ve klorofillerle birlikte mavi, mor, sarı, turuncu

ve kırmızı renklerinden sorumludurlar. Flavonoid ailesi flavonları, flavonoller, izo-flavonoller, antosiyaninler, antosiyanidinler, proantosiyanidinler ve kateşinler içerir. Tüm flavonoidler aromatik amino asitler olan fenilalanin ve tirozinden türetilir ve üç halkalı yapıya sahiptirler (Stalika, 2007).

Fenolik maddeler esas olarak meyvelerde, baklagillerde, sebzelerde, çayda, şarapta, kahvede bulunmaktadır. Son zamanlarda, fenolik maddeler beslenme ve sağlık açısından olumlu etkilerinden dolayı pek çok araştırmacının odak noktası olmaktadır. Araştırmacıların ve gıda üreticilerinin en büyük ilgi odağı, polifenollerin güçlü antioksidan özellikleri ve bunların oksidatif stresle ilişkili çeşitli durumlardaki önleyici rolleridir (Alara ve diğ., 2021). Farklı çalışmalar, polifenollerin kardiyovasküler ve nörodejeneratif durumların yanı sıra diğer hastalıklar ve kanserde önleyici rolünü hem in vitro hem de in vivo deneylerde kanıtlamıştır (Cory ve diğ., 2018 ; Forni ve diğ., 2019 ; Poti vd, 2019; Vauzour ve diğ., 2010). Fenolik maddelerin sağlık üzerindeki bu olumlu etkilerinden dolayı çok sayıda biyosektörün (farmakolojik, gıda işleme ve muhafaza, kozmetik vb.) yüksek değerli zincirlerinde nutrasötikler ve/veya takviye katkı maddeleri olarak fenolik maddelere olan ilgi artmaktadır (Albuquerque ve diğ., 2021; Yan ve diğ., 2021). Antioksidan aktivitelerine ek olarak fenolik maddelerin anti-inflamatuar, antimikrobiyal ve anti-proliferatif aktiviteleri bu moleküllerin nutrasötik ürünlerin formülasyonunda kullanılmasına ilgi uyandırmaktadır (Albuquerque ve diğ., 2021).

Yapay gıda katkı maddelerinin kullanımına ilişkin kısıtlamalardan dolayı, gıda endüstrisi doğal alternatiflerinin geliştirilmesi üzerinde çalışmaktadır. Fenolik maddelerin antioksidan ve antimikrobiyal aktivitelerinden dolayı birçok gıda maddesinin raf ömrü artırılmıştır. Örneğin fermente ve fermente edilmemiş içeceklerle eklenen antosiyaninlerin rengin iyileştirilmesinde ve makarnaya eklenen hidroksisitrik asitin antioksidan aktivite ve duyu kalitenin iyileştirilmesinde önemli rolleri bulunmaktadır (Albuquerque ve diğ., 2021).

Fenolik maddeler bitkilerin metabolik aktiviteleri sonucu üretildikleri için, elde edilmesi için bulundukları bitkilerden ekstrakte edilmeleri gerekmektedir. Geleneksel ekstraksiyon, enzim destekli ekstraksiyon, ultrason destekli ekstraksiyon, mikrodalga destekli ekstraksiyon ve bunların kombinasyonları farklı ekstraksiyon yöntemlerinden bazılarıdır. Bitkilerden fenolik madde ekstraksiyonunda hala geleneksel ekstraksiyon yöntemleri kullanılsa da bu yöntemlerin fenolik maddelerin sınırlı geri kazanımı, daha

yüksek miktarda solvent tüketimi, daha uzun ekstraksiyon süresi ve çok fazla kalıntı birikimi gibi dezavantajlarından dolayı enzim destekli ekstraksiyon, ultrason destekli ekstraksiyon, mikrodalga destekli ekstraksiyon ve bunların kombinasyonları, süper kritik CO₂ ekstraksiyonu ve basınçlı sıvı ekstraksiyonu gibi ileri teknoloji ekstraksiyon yöntemleri tercih edilmektedir (Alara ve diğ., 2021).

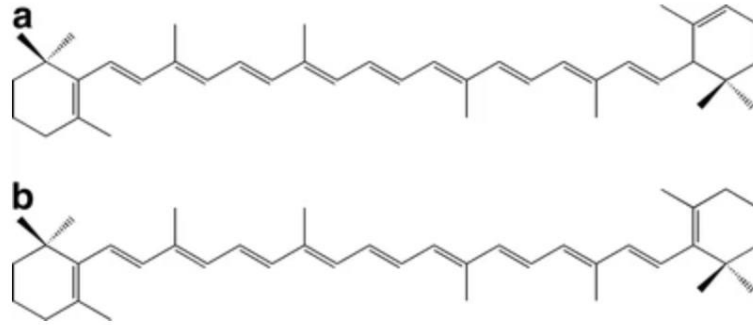
Literatüre bakıldığında, Carrera ve diğ. (2012), tarafından yapılan bir araştırmada, üzümlerden fenolik bileşiklerin ekstraksiyonu için optimum koşullar ultrason destekli ekstraksiyon ve geleneksel ekstraksiyon teknikleri ile karşılaştırılmıştır. Sonuç olarak, ultrason destekli ekstraksiyonun fenolik bileşikleri daha yüksek verimle ve çok daha kısa ekstraksiyon süresiyle (60 dakika yerine 6 dakika) ekstrakte edebildiğini göstermiştir. Maksimum ekstraksiyon verimi için en iyi yöntemi değerlendirmek amacıyla taze mor patlıcan parçalarından (kabuklar ve posalar) antosiyaninlerin ve diğer fenolik bileşiklerin ekstraksiyonunu optimize etmek için üç farklı yöntemin (geleneksel ekstraksiyon, öğütme işlemi ve ultrason destekli ekstraksiyon) kullanıldığı bu çalışmada, hem öğütme hem de geleneksel ekstraksiyon yöntemlerinin kullanımına kıyasla, ultrason destekli ekstraksiyonunun patlıcan kabuğu yan ürünlerinden antosiyaninlerin ekstraksiyonunu daha az zaman ve kirlilikle ekstrakte etme potansiyelinin daha iyi olduğu bulunmuştur (Ferarsa ve diğ., 2018). Saifullah ve diğ. (2020) yaptığı bir çalışmada, optimal koşullar altında, geleneksel ekstraksiyon yöntemi ile ultrason destekli ekstraksiyon yöntemi karşılaştırılmıştır. Ultrason destekli ekstraksiyonun limon kokulu çay ağacı yapraklarındaki toplam fenolikler, flavonoidler, proantosiyanidinler ve antioksidanların geri kazanılmasında daha etkili olduğu gösterilmiştir.

1.2.3 Beta karoten

Karoten ilk olarak 1831 yılında Wackenroder tarafından havuçtan (*Daucus carota*) yakut kırmızısı kristal formunda ekstrakte edilmiştir. 1907'de karotenlerin moleküler formülü Willstöder tarafından kesin olarak tanımlanmıştır (Şekil 1.3). (Ribeiro ve diğ., 2011).

Beta-Karoten, bitkiler tarafından sentezlenen ikincil bir metabolittir ve karotenoidlerin oksitlenmemiş bileşik grubuna aittir. Asiklik yapıdan türetilen bir polien bileşiği olan C₄₀H₅₆ uzun bir konjuge çift bağ zincirine sahiptir. Yüksek sıcaklık, çift bağların

izomerizasyonunu teşvik eder, bu da ortaya çıkan rengin parlaklaşmasına neden olmaktadır (Fratianni ve diğ., 2010 ; Meléndez-Martínez ve diğ., 2010).

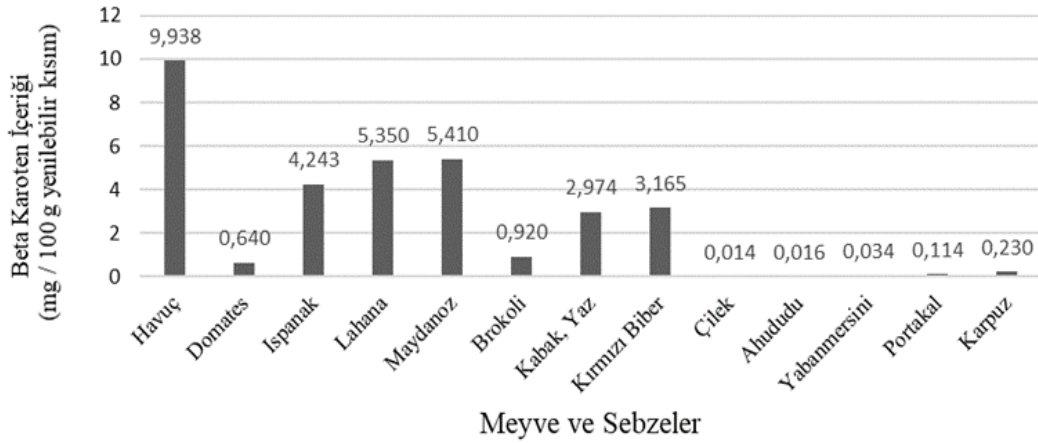


Şekil 1.3 : Karotenler. a) alfa karoten, b) beta karoten.

Beta karoten, antiinflamatuvar, antioksidan, bağışıklık sistemi düzenlemesi ve anti-tümör etkileri gibi iyi işlevlere sahip doğal bir fitokimyasaldır. A vitamininin öncüsü olarak görmenin korunmasında önemli bir rol oynamaktadır. Ancak insan vücudu beta karoteni sentezleyemez ve onu diyet yoluyla almak zorundadır (Zhou ve diğ., 2024).

Beta karoteni değerli bir gıda katkı maddesi haline getiren sadece biyoaktivite değildir, aynı zamanda endüstriyel önemi de renklendirme özelliklerinden kaynaklanmaktadır. Gıda endüstrisinde, beta karoten, ısıl işlem görmemiş tropik meyveler tadında alkolsüz içecekler, yenilebilir yağlar, peynir, hamur işleri ve dondurma dahil olmak üzere birçok üründe turuncu-kırmızı bir pigment olarak kullanılmaktadır. İlaç endüstrisinde tabletler için renklendirici madde olarak görev yapar ve kozmetik endüstrisinde cilt lezyonlarını oksidasyona ve UV radyasyonuna maruz kalmaya karşı koruyan kremlerin biyoaktif bileşeni olarak kullanılmaktadır. Beta karotenin yüksek biyoaktivitesi ve yaygın uygulaması, üretim yöntemlerinin gelişimini etkilemektedir (Bogacz-Radomska ve Harasym, 2018).

Karotenoid elde etmenin en eski yolu, fizikokimyasal işlemlere dayalı olarak bitki materyalinden ekstraksiyon yapmaktır. Karotenoidler bitkilerin, çiçeklerin, meyvelerin, tohumların, köklerin ve yumruların yeşil kısımlarından ekstrakte edilmektedir (Dasgupta ve Klein, 2014). Havuç, kabak, ıspanak, domates gibi sebzelerde ve karpuz ve ahududu gibi meyvelerde bulunmaktadırlar (Şekil 1.4). (Bogacz-Radomska ve Harasym, 2018).



Şekil 1.4 : Meyve ve sebzelerde beta karoten içeriği.

Beta karoten için en popüler kaynak turuncu havuçtur. Bitki materyalinden karotenoid üretiminin ana dezavantajı yüksek maliyet, coğrafi belirleyiciler ve hammaddenin mevsimselliğidir. Birkaç gram karotenoid elde etmek için onlarca kilogram bitki materyalinin işlenmesi gerekmektedir. Yaklaşık 50 kg havuçtan sadece 2 g alfa ve beta karoten formülasyonu kristal formda elde edilmektedir. Bu nedenle bazı bitkilerde genetik modifikasyonlara dayalı olarak karotenoid biyosentezinin verimliliğinin artırılması için büyük çaba sarf edilmektedir (Beyer ve diğ., 2002 ; Szterk ve diğ., 2008).

Gıda matrisinde mevcut olan çeşitli fiziksel ve kimyasal bariyerler, ekstraksiyon sırasında karotenoidlerin kütle transferini engellemekte ve bundan dolayı karmaşık gıda matrislerinden geri kazanım düşük kalmaktadır. Çeşitli seviyelerde polariteye sahip çeşitli karotenoid setlerinin varlığı, bunların eş zamanlı ekstraksiyonunu da zorlaştırmaktadır. Ek olarak karotenoidlerin oksidatif özelliği aşırı ısıya, ışığa, asitlere ve uzun ekstraksiyon sürelerine maruz kalmayı sınırlamaktadır. Hidrofobik doğaları nedeniyle karotenoidler geleneksel olarak organik çözücüler kullanılarak ekstrakte edilmektedir. Polar olmayan karotenlerin veya esterlenmiş ksantofillerin ekstraksiyonu için genellikle heksan, petrol eteri veya tetrahidrofuran (THF) gibi polar olmayan solventler kullanılırken, polar karotenlerin ekstraksiyonu için ise aseton, etanol ve etil asetat gibi polar solventler daha uygundur (Saini ve Keum, 2018). Doğal kaynaklardan karotenoidlerin ekstraksiyonu için kullanılan farklı yöntemler beş ana kategoriye ayrılabilir: i) Soxhlet ile atmosferik sıvı ekstraksiyonu, maserasyon, mikrodalga destekli ekstraksiyon veya ultrason destekli ekstraksiyon; ii) basınçlı sıvı ekstraksiyonu olarak da bilinen hızlandırılmış solvent ekstraksiyonu; iii) darbeli elektrik alanı destekli ekstraksiyon; iv) genellikle etanol gibi organik ortak çözücünün

minimum düzeyde kullanıldığı, solvent olarak süperkritik CO₂'nin (SC-CO₂) kullanımına dayanan süperkritik akışkan ekstraksiyonu ve v) enzim destekli ekstraksiyon. Karotenoidlerin ekstraksiyonunda sinerjistik bir etki sağlayan çok çeşitli solvent kombinasyonları da kullanılmaktadır. Uygun solvent veya solvent kombinasyonunun seçimi, karotenoidlerin verimli ekstraksiyonu için en kritik faktörlerden biridir. Genellikle, sırasıyla polar ve polar olmayan karotenoidlerin ekstraksiyonu için sıklıkla aseton ve heksan seçilmektedir. Diğer yandan, polar ve polar olmayan karotenoidlerin eş zamanlı ekstraksiyonu için en sık aseton/etanol/heksan karışımı uygulanmaktadır. Suyla karışabilme özelliğinden dolayı aseton ve etanol, karotenoidlerin yüksek miktarda nem içeren bitki materyalinden verimli bir şekilde ekstraksiyonu için tercih edilmektedir. Amorim-Carrilho ve diğ. (2014), karotenoid ekstraksiyon yöntemleri üzerine yapmış olduğu çalışmada, heksan, aseton ve etanol/heksanın (4:3) bitkiden elde edilen karotenler için en yaygın olarak kullanılan çözücüler olduğu sonucunu elde etmişlerdir. Yan ve diğ. (2015), kolza tohumu küspesinden karotenoidlerin ultrason destekli solvent ekstraksiyonunu yanıt yüzey metodolojisi ile araştırdığı çalışmada, beş farklı solvent sistemi kullanarak karotenoidlerin verimlerini karşılaştırmışlardır ve en yüksek verimin petrol eteri/aseton (v/v = 1/1) altında elde edilebileceğini bulmuşlardır. Soxhlet ekstraksiyonu, karotenoidlerin en yüksek geri kazanımını sağlayan geleneksel bir ekstraksiyon tekniği olmasına rağmen zaman alıcı bir işlem olması ve aynı zamanda önemli miktarda çözücü kullanılmasından dolayı ekstraksiyon maliyetini arttırmaktadır (Saini ve Keum, 2018). Lucini ve diğ. (2012), domatesteki en iyi ekstraksiyon koşullarını araştırmış ve beta karoten için en iyi ekstraksiyon solventinin etil asetat olduğunu, diğer karotenoidlerin ekstraksiyonunda ise diklorometanın en etkili solvent olduğunu gözlemlemiştir. Diklorometandan daha az toksik olmaları nedeniyle ekstraksiyon solventleri olarak etil asetat ve sikloheksan/etil asetat (1:1, v/v) seçilmiştir. Davarnejad ve diğ. (2008), hurma yağından beta karoten ekstraksiyonu için süperkritik CO₂ yöntemini kullanarak , sırasıyla 75 bar, 120°C ve 1 saatlik basınç, sıcaklık ve ekstraksiyon süresini kullanarak 174,1 ppm beta karoten elde etmiştir. Bununla birlikte, 60 °C'nin üzerindeki sıcaklıklar beta karotenin bozunmasına neden olmaktadır. Bu sıcaklık muhtemelen çalışmanın sonuçlarını etkilemiştir.

Zengin bir karotenoid kaynağı olan havuç posasından karotenoid elde etmek için ultrason destekli ekstraksiyon yönteminin kullanıldığı çalışmada, diğer ekstraksiyon

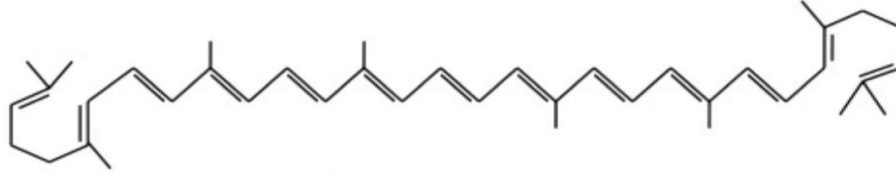
yöntemleriyle karşılaştırıldığında ekstraksiyon süresini büyük ölçüde azaltabildiği için karotenoidlerin ekstraksiyonunda verimli bir yöntem olabileceği bildirilmiştir (Umair ve diğ., 2021).

1.2.4 Likopen

Giderek daha fazla tüketicinin günlük beslenme konusunda endişe duyması nedeniyle doğal pigment pazarı önemli ölçüde büyümektedir. Bu biyoaktif pigmentler, sağlık açısından çok sayıda faydaya sahip olduklarından hem gıda endüstrileri hem de tüketiciler için oldukça kazançlıdır. Bitkiler ve mikroorganizmalar bu doğal pigmentlerin ana kaynaklarıdır. Bahsedilen doğal pigmentlerden biri de kırmızı renkli bir karotenoid olan likopendir (Al Fahad ve diğ., 2024).

Domates ve domatesin işlenmiş gıda ürünleri en önemli likopen kaynağıdır. Ayrıca karpuz, kayısı, çarkıfelek meyvesi, greyfurt, havuç, biber ve kırmızı meyveler (örneğin kızılcık) gibi gıdalarda da farklı oranlarda bulunmaktadır. Hem kaynağa hem de olgunluk derecesine bağlı olan likopenin konsantrasyonu taze domatesta 8,8-42,0 mg / kg'dır (Roldán-Gutiérrez ve Dolores Luque de Castro, 2017).

Likopen, Kuzey Amerikalıların ve Avrupalıların beslenmesindeki başlıca karotenoidlerden biridir ve büyük talep gören nitelikli bir nutrasötiktir. Likopenin benzersiz kimyasal özellikleri yapısından kaynaklanmaktadır, 11 konjuge ve 2 konjuge olmayan çift bağa sahip, açık, doğrusal, çoklu doymamış bir alifatik hidrokarbon zinciridir. (Şekil 1.5). (Al Fahad ve diğ., 2024). Bu özelliği onu son derece hidrofobik yapmakta ve bu nedenle benzen, kloroform ve metilen gibi organik çözücülerde çözünmektedir. Likopen doğal olarak trans formunda bulunur ve esas olarak ısıtma ve aydınlatma sırasında meydana gelen cis izomerinin oluşumu biyolojik aktivitede bir azalmaya veya bir artışa yol açmaktadır. Likopenin günümüzdeki önemi esas olarak bu pigmentin insan sağlığındaki yararlı özelliklerinden, kardiyovasküler hastalıklar, farklı kanser türleri (örneğin sindirim sistemi, rahim ağzı, meme, deri, mesane ve prostat) gibi kronik hastalıkların önlenmesindeki yararlı özelliklerinden kaynaklanmaktadır. Likopenin koruyucu etkileri kısmen antioksidan ve/veya singlet-oksijen söndürücü olarak görev yapma yeteneğine atfedilmektedir. Likopen, insan organizmasını bir dizi hastalıktan sorumlu patojenik ajanların saldırısından korumaktadır (Roldán-Gutiérrez ve Dolores Luque de Castro, 2017).



Şekil 1.5 : Likopenin kimyasal yapısı.

Likopenin birçok kaynaktan ekstraksiyonuna yönelik geleneksel yöntemlerde organik çözücüler kullanılmaktadır. Saf ekstraktanlar (örneğin, diklorometan, farklı oranlarda polar veya polar-polar olmayan ekstraktantların karışımları (örneğin, 1:2 aseton-kloroform, 50:25:25 heksan-aseton-etanol), etilen asetat, benzen, etil eter ve petrolyum eter likopen ekstraksiyonu için kullanılmaktadır (Roldán-Gutiérrez ve Dolores Luque de Castro, 2017). Domates üzerinde yapılan çok yeni bir çalışmada Ranveer ve diğ. (2013) heksan, aseton ve etanolden oluşan üçlü karışımın (50:25:25, h/h/v), ayrı ayrı test edilen tüm solventler arasında en yüksek likopen geri kazanımını sağladığını gözlemlemiştir. Farklı domates örneklerindeki likopen içeriğinin antioksidan kapasitesi üzerindeki etkisinin araştırıldığı bu çalışmada, likopen içeriği en yüksek olan kiraz domates örneğinde antioksidan aktivitenin daha yüksek olduğu bulunmuştur (Zanfini ve diğ., 2010).

1.2.5 Enzim destekli ekstraksiyon

Enzim destekli ekstraksiyon, geleneksel yöntemlerin sınırlamalarının üstesinden gelmek için günümüzde gittikçe önem kazanmaktadır. Enzim destekli ekstraksiyon yöntemleri, geleneksel yöntemlere kıyasla daha düşük enerji tüketimi, daha hızlı ekstraksiyon hızı, daha yüksek ekstraksiyon verimi ve daha az solvent kullanımıyla daha basit geri kazanım göstermektedir (Puri ve diğ., 2012). Yeşil ve çevre dostu bir yaklaşımdır. Enzim destekli ekstraksiyonun temel prensibi, hücre duvarının, hücre içi bileşenleri serbest bırakmak için optimum deney koşulları altında katalizör olarak enzim kullanılarak hidrolize edilerek parçalanmasıdır. Hücre duvarı enzimin aktif bölgesine bağlanır. Bu, enzimin şeklini değiştirmesine, böylece substratın aktif bölgesine yerleşmesine neden olur ve böylece ikisi arasında maksimum etkileşime neden olmaktadır. Enzimin şeklindeki değişiklik, hücre duvarındaki bağların kopmasına yol açarak aktif bileşenlerin dışarı çıkmasını sağlamaktadır (Sheldon ve van Pelt, 2013). Bu yeşil ekstraksiyon yöntemi, yalnızca tehlikeli solventlere olan gereksinimi azaltmakla kalmaz, aynı zamanda ekstraksiyon süresini kısaltmaktadır. Selüloz, hemiselüloz, pektinaz, α -amilaz, ksilanaz gibi enzimler genellikle hücre

duvarını parçalamak için kullanılırken ve proteaz proteinleri parçalayarak serbest aminoasit verimini artırmaktadır (Alexandre ve diğ., 2019; Jeong ve diğ., 2014; Yuliarti ve diğ., 2015). Enzimlerin ana kaynakları bakteri ve mantarlardan elde edilse de hayvan organlarından ve/veya sebze/meyve ekstraktlarından da elde edilebilmektedir. Enzim destekli ekstraksiyon prosesinde reaksiyonun sıcaklığı, sistemin pH'ı, enzim konsantrasyonu, substratın parçacık boyutu ve ekstraksiyon süresi gibi çalışma koşulları prosesin verimini etkilemektedir (Marathe ve diğ., 2017).

Ancak geleneksel ekstraksiyon yöntemlerine iyi bir alternatif oldukları kanıtlanmış olsa da, bazı dezavantajlar büyük ölçekli endüstriyel uygulamalara doğru ilerlemelerini durdurmuştur. Bu dezavantajlar arasında i) proses ekonomisini arttıran ve yalnızca yüksek değerli ürünlerin ekstraksiyonunda kullanımlarını sınırlayan enzimlerin yüksek maliyeti, ii) hücresel matrisi tamamen parçalayamamaları, dolayısıyla ürünleri ayırmak ve saflaştırmak için daha fazla işlem gerektirmesi, iii) belirli işleme koşulları altında enzimin bozulması, iv) zayıf geri dönüştürülebilirlik ve yeniden kullanılabilirlik ve v) birkaç kez kullanıldıktan sonra katalitik aktivite kaybı yer almaktadır. Böylece kümülatif dezavantajlar nedeniyle ekstraksiyon işleminin genel maliyeti artmaktadır (Das ve diğ., 2021).

Enzim destekli ekstraksiyon çeşitli gıdalardan fenolik madde, yağ, pektin, protein ve diğer biyoaktif maddelerin elde edilmesinde oldukça yaygın olarak kullanılan bir ekstraksiyon yöntemidir. Literatüre bakıldığında, Chandini ve diğ. (2011) siyah örnekleri için pektinazın hücresel duvarın tamamen bozulmasını sağladığını ve tanazın basit polifenolik bileşik (esas olarak gallik asit) içeriğinin geri kazanımının artmasını sağladığını kaydetmiştir. Renouard ve diğ. (2010) keten kabuklarından sekoizolarisiresinol ekstraksiyonunda selülazın en etkili enzim olduğunu kanıtlamıştır. Kivi posasında yapılan selülaz destekli pektin ekstraksiyonunda asidik çözelti ve su ile yapılan ekstraksiyona göre daha yüksek verim elde edildiği görülmüştür (Yuliarti ve diğ., 2015). Çarkıfelek meyvesi kabuklarından pektin ekstraksiyonu için asidik ve enzimatik ekstraksiyon yöntemlerin karşılaştırıldığı bir çalışmada enzimatik ekstraksiyon yönteminde pektin veriminin daha yüksek olduğu belirtilmiştir (Liew ve diğ., 2016). Bu çalışmaların aksine, elma posasından çeşitli enzimler ve asidik çözeltide yapılan pektin ekstraksiyonu sonrası asit ile daha yüksek verimler elde edildiği görülmüştür (Wikiera ve diğ., 2015). Kullanılan hammadde, enzim ve proses koşullarına göre elde edilen verim de değişkenlik gösterebilmektedir.

1.2.6 Ultrason destekli ekstraksiyon

Ultrason destekli ekstraksiyon, yüksek değerli bileşikler elde etmek için ilginç bir yöntemdir ve doğal bileşik kaynağı olarak kullanıldığında bazı gıda yan ürünlerinin değerinin artmasına katkıda bulunabilmektedir (Esclapez ve diğ., 2011). Ultrason destekli ekstraksiyon, geleneksel ekstraksiyon yöntemleriyle karşılaştırıldığında ekstraksiyon oranını, ekstraksiyon verimliliğini artırabilmekte, ekstraksiyon sıcaklığını ve süresini azaltabilmektedir. Ultrason cihazının kullanımı basit olmasının yanı sıra, mikrodalga destekli ve süperkritik sıvı ekstraksiyonu gibi diğer ekstraksiyon yöntemleriyle karşılaştırıldığında ekonomik olarak da maliyeti daha düşüktür (Umair ve diğ., 2021). Ultrason destekli ekstraksiyon, yüksek yoğunluklu ses dalgalarını kullanarak meyve ve sebze atıklarından ve yan ürünlerden biyoaktif bileşikler elde edilmektedir. Ultrason dalgaları, akustik kavitasyon sırasında geliştirilen fiziksel kuvvetler yoluyla bitki dokusunda bozulmaya neden olur ve kütle taşınımını artırarak solvent içindeki ekstrakte edilebilir bileşenlerin çok daha kısa sürede salınmasına yardımcı olmaktadır (Ashokkumar, 2015). Ultrason destekli ekstraksiyon işleminde verimi etkileyen faktörler katı sıvı oranı, sıcaklık, süre ve frekans olarak sıralanabilmektedir.

Ultrason, insanın işitebileceği frekans aralığından (20 Hz ila 20 kHz) daha yüksek frekansa (>20 kHz) sahip mekanik dalgalardır. Bu dalgalar, katı, sıvı veya gaz ortamda yayılabilen ve moleküllerin orijinal konumlarından yer değiştirmesine ve yerinden çıkmasına neden olan bir dizi sıkıştırma ve seyrelme döngüsünden oluşmaktadır. Yüksek yoğunluklu ses dalgasında, seyrelme sırasındaki negatif basınç, molekülleri bir araya getirerek onları birbirinden ayıran ve kavitasyon kabarcıkları oluşturmaktadır. Bu kabarcıklar birleşme yoluyla büyür ve daha sonra sıkıştırma aşamasında çökerek sıcak nokta ve aşırı yerel koşullar yaratmaktadır. Sonikasyon sırasında ekstraksiyon veriminin artmasına yol açan ana faktör ultrasonik kavitasyonlardır. Sıcaklık 5000 K'e kadar çıkabilir ve basınç artışı 1000 atm'ye kadar çıkabilir. Bu sıcak noktalar, çevresindeki biyokimyasal reaksiyonları hızlandırmaktadır (Kumar ve diğ., 2021). Ultrason işlemi ultrasonik su banyosunda veya ultrasonik bir prob yardımı ile gerçekleştirilmektedir. Ultrasonik banyo daha ekonomiktir ve kullanımı kolaydır, ancak tekrarlanabilirliğinin düşük olması ekstraksiyon işleminde kullanımını kısıtlamaktadır. Ultrasonik prob, bir dönüştürücüye bağlı bir prob veya boynuzdan oluşmaktadır. Prob ekstraksiyon kabına

daldırılır ve minimum enerji kaybıyla ortamda ultrason sağlamaktadır. Prob bazlı sistemler, daha yüksek ultrasonik yoğunluk (probun ucu) nedeniyle banyo sistemine kıyasla yaygın olarak tercih edilmekte ve biyoaktif bileşiklerin ekstraksiyonu için güçlü bir araç olarak kullanılmaktadır (Chemat ve diğ., 2017).

Daha yüksek verim elde edilmesi ve yöntemin kolaylığı sebebi ile ultrason destekli ekstraksiyon yöntemi yaygın olarak tercih edilmektedir. Nar kabuğu, üzüm posası, domates atığı, greyfurt kabuğu, portakal kabuğu ve patlıcan kabuğundan ultrasonik destekli ekstraksiyon ile %25'in üzerinde pektin verimi elde edildiği belirtilmiştir (Kumar ve diğ., 2021). Wang ve diğ. (2016) greyfurt kabuğundan pektinin ultrason destekli ekstraksiyon ile kimyasal ekstraksiyonunu karşılaştırmış ve ultrason destekli ekstraksiyon kullanılarak daha yüksek verim (%16.34) ve ekstraksiyon süresinde %37,78 oranında azalma olduğunu rapor etmişlerdir. Mango kabuğundan ultrason destekli ekstraksiyon ile pektin üretiminin yapıldığı çalışmada pektin veriminde %50 artış gözlemlenmiştir (Guandalini ve diğ., 2019). Domates atıklarından geleneksel ve ultrasonik ekstraksiyon yöntemleri ile elde edilen pektinin kalitesinin ve veriminin karşılaştırıldığı bu çalışmada, geleneksel ekstraksiyon yoluyla 60°C'de ekstrakte edilen pektinin en yüksek verimi verdiğini ancak 15 dakikalık ultrasonik ekstraksiyon yoluyla elde edilen pektinin kalitesinin daha iyi olduğunu kaydetmişlerdir (Grassino ve diğ., 2016). Alıç meyvesinden mikrodalga ve ultrason destekli ekstraksiyon yöntemleri ile fenolik madde ekstrakte edilen çalışmada mikrodalga destekli ekstraksiyonun daha uygun yöntem olduğu bildirilmiştir (Yılmaz ve diğ., 2021). Elde edilen sonuçların proses koşullarına göre değişiklik gösterebileceği ve kullanılacak hammaddeye göre optimizasyon çalışması yapılması gerektiği görülmektedir.

1.2.7 Gıda atıklarından bileşen eldesinde enzim ve ultrason destekli ekstraksiyon uygulamaları

Gıda endüstrisi dünyanın en büyük endüstrilerinden biri olarak tüm ulusal ekonomiler için birincil öneme sahiptir. Dünya nüfusundaki artış, önümüzdeki yıllarda gıda üretimi talebinde de keskin bir artışa yol açacaktır. Bu koşullar altında yüksek hacimli gıda endüstrisi atıkları sosyoekonomik, politik ve bilimsel açıdan giderek daha fazla ilgi görmektedir (Despoudi ve diğ., 2021). Gıda işleme endüstrileri, esas olarak işlenmiş ham maddelerin organik kalıntılarından oluşan çok yüksek miktarda atık (hem sıvı hem de katı) üretmektedir. Avrupa mevzuatında “atık” olarak adlandırılan

bu malzemelerin büyük bir kısmı katma değerli ürünler üretmek amacıyla değerlendirilebilecektir. Yan ürünler, üreticisi tarafından doğrudan yararlı bir kaynak olarak sayılmayan, işleme sırasında oluşan ürünleri temsil etmektedir. Yan ürünler, faydalı ürünlere dönüştürülebilecek piyasa değeri olan maddeler içermekte ve gıda atık yönetiminin sürdürülebilirliği (yani çevresel, ekonomik, sosyal açıdan) yaşam döngüsü perspektifinden değerlendirilebilecektir (Chandrasekaran, 2013). Kaynaklar her sektörde önemli ölçüde farklılık gösterdiğinden, bu malzemelerin gıda bileşenleri veya yem olarak geri kazanılma olasılığı süreçten sürece değişiklik göstermektedir. Örneğin bitkisel yan ürünler ve bitki kalıntıları, diyet lifleri, gıda aromaları, gıda takviyeleri, polifenoller, glikozinolatlar, protein konsantreleri, pektin, fitokimyasallar ve bitki enzimleri gibi yenilikçi ürünlerin katma değer sağlayacak şekilde geliştirilerek üretilmesi için kullanılabilirken, et endüstrisi yan ürünleri önemli bir protein ve fonksiyonel hidrolizat kaynağı oluşturabilmektedir (Chandrasekaran, 2013). Meyveler, sebzeler, kökler ve yumrular en yüksek atık seviyesine sahiptir (Murugan ve diğ., 2013). Bahsedilen bu biyoaktif bileşenlerin ekstraksiyonu gıda endüstrisi kadar sağlık ve kozmetik endüstrileri için de önem kazanmaktadır. Biyoaktif bileşiklerin ekstraksiyonu ile doğal antioksidan, koruyucu, renklendirici ve zenginleştirme uygulamaları için hammadde üretimi sağlanabilmektedir (Trigo ve diğ., 2019). Son yıllarda bu uygulamalar için pek çok çalışma yapılmakta ve yöntem geliştirilmektedir.

Geleneksel çözücü destekli ekstraksiyon çalışmalarına ilave olarak, enzim ve ultrason destekli ekstraksiyon uygulamaları atıklardan değerli bileşenlerin eldesinde de yaygın olarak kullanılmaktadır. Karotenoidler ve fenolik madde yaygın olarak elde edilen bileşenler arasındadır. Gıda atıklarından karotenoid ve fenolik madde ekstraksiyonu üzerine yapılmış olan çalışmalar Çizelge 1.1’de özetlenmiştir.

Çizelge 1.1 : Gıda atıklarından karoten ve fenolik madde eldesinde kullanılan kaynaklar, elde edilen bileşenler ve metotlar.

Bileşen Kaynağı	Ekstrakte Edilen Bileşen	Ekstraksiyon Koşulları	Verim	Referans
Üzüm Çekirdeği	Gallik asit, 5-hidroksimetilfurfural, kumarik asit, kateşin, para- hidroksibenzoik asit, protokateşik asit, vanelik asit, şiringik asit	Yüksek sıcaklık ve basınçta ekstraksiyon (Metanol ile, Katı sıvı oranı: 0,2 g / ml /Sıcaklık: 110°C, Süre: 60 dk)	108,3 mg gallik asit eşdeğeri / g	(Casazza ve diğ., 2010)
Alıç Meyvesi	Fenolik madde	Ultrason destekli ekstraksiyon (Katı sıvı oranı: %5 w/v ve %10 w/v /Sıcaklık: 50°C, Sonikasyon Süresi: 1, 10, 20, 30, 50, 70 dk)	5,34 mg gallik asit eşdeğeri / g kuru madde	(Yılmaz ve diğ., 2021)
Havuç Posası	Karotenoid -beta karoten, likopen, lutein	Ultrason destekli ekstraksiyon (Etanol ile, Katı sıvı oranı: 0,02 g / ml /Sıcaklık: 32°C, Ekstraksiyon Süresi: 17 dk)	Toplam karotenoid: 31,82 µg/g beta karoten: 14,89 µg/g likopen: 2,65 µg/g lutein: 5,77 µg/g	(Umair ve diğ., 2021)
Domates İşleme Atığı	Likopen	Enzim destekli ekstraksiyon (Selülaz(1,5%) ve pektinaz(2%) ile/ Sıcaklık: 25°C, Ekstraksiyon Süresi: 4 saat)	Maksimum likopen geri kazanımı, 4 saatlik inkübasyon periyodunda sırasıyla %1,5 selülaz ve %2 pektinazda elde edildi.	(Ranveer ve diğ., 2013)

Çizelge 1.1 (devam): Gıda atıklarından karoten ve fenolik madde eldesinde kullanılan kaynaklar, elde edilen bileşenler ve metotlar.

Bileşen Kaynağı	Ekstrakte Edilen Bileşen	Ekstraksiyon Koşulları	Verim	Referans
Domates Salçası İşleme Atığı	Likopen	Ultrason destekli ekstraksiyon (BHT %0,05 (a/h) ilaveli heksan:aseton:etanol (2:1:1) ile, Katı sıvı oranı: 35:1 (v/w) / Sıcaklık: 5°C, Ekstraksiyon Süresi: 30 dk) Geleneksel çözücü ekstraksiyon (BHT %0,05 (a/h) ilaveli heksan:aseton:etanol (2:1:1) ile, Katı sıvı oranı: 50:1 (v/w) / Sıcaklık: 60°C, Ekstraksiyon Süresi: 40 dk)	Ultrason destekli ekstraksiyonu geleneksel çözücü ekstraksiyona göre daha verimli	(Kumcuoglu ve diğ., 2014)
Kırmızı Biber	Karotenoid	Enzim destekli ekstraksiyon (Viscozyme L®, pektinaz ve sellüloz ile/ Sıcaklık: 60°C, Ekstraksiyon Süresi: 1 saat)	Karotenoid içeriği: 41,72–279,83 mg/100 g Ekstrakt verimini ve toplam çözünür katıları 2,5 ila 3 kat arasında önemli ölçüde artırdı.	(Nath ve diğ., 2016)

Çizelge 1.1 (devam): Gıda atıklarından karoten ve fenolik madde eldesinde kullanılan kaynaklar, elde edilen bileşenler ve metotlar.

Bileşen Kaynağı	Ekstrakte Edilen Bileşen	Ekstraksiyon Koşulları	Verim	Referans
Pirinç Kepeği	Fenolik Asit	Enzim destekli ekstraksiyon (Pentopan® ile/ Sıcaklık: 50°C, Ekstraksiyon Süresi: 12 saat)	%72,7 fenolik asit elde edildi. Ekstrakte edilebilir fenolik asitlerin miktarını 2,5-3,0 kat arttırdı.	(Kim ve Lin, 2016)
Yeşil Çay	Polifenoller, amino asitler ve kafein	Ultrason destekli ekstraksiyon (Su ile, Katı sıvı oranı: 0,01 g / ml /Sıcaklık: 60°C, Ekstraksiyon Süresi: 40 dk) Geleneksel çözücü ekstraksiyon (Su ile, Katı sıvı oranı: 0,01 g / ml /Sıcaklık: 85°C, Ekstraksiyon Süresi: 15 dk)	85 °C'ye kıyasla 60 °C'de daha yüksek verim	(Xia ve diğ., 2006)
Nar Kabuğu	Punikalin izomeri, kuinik asit, punikalajin izomeri, elajik asit	Saf su içerisinde yüksek basınç altında (300 MPa, Süre: 15 dk)	Toplam fenolik madde: 219 ± 2,6 mg gallik asit eşdeğeri / 100 g)	(Alexandre ve diğ., 2019)
Kırmızı Soğan Zarı	Fenolik Madde	Geleneksel çözücü ekstraksiyonu (%80 etanol ile 165 dk.)	757,38 mg gallik asit eşdeğeri / 100 g	(Viera ve diğ., 2017)

1.2.8 Havuç endüstrisi atıkları ve değeriendirilme yöntemleri

Havuç (*Daucus carota* L.), dünya gıda üretiminde temel öneme sahip kök sebzelerden biridir. Ekonomik önemi, hem çok yönlü kullanımından hem de karbonhidrat içeriğı, diyet lifi (pektin gibi), çok sayıda vitamin (B, C, E ve K), mineral (P, Ca, Mg ve Fe) ve antioksidan görevi gören bitki pigmentleri tarafından belirlenen besin değeriinden kaynaklanmaktadır (Rosa ve diğ., 2023). Dünya geneline bakıldığında turuncu havuç yaygın olmakla birlikte kırmızı, mor, pembe, siyah, sarı ve beyaz renkli havuç türleri de mevcuttur (Evlice ve diğ., 2020). FAO verilerine göre, 2021 yılında dünya havuç üretimi 41,67 milyon ton olarak gerçekleşmiştir (FAO Kodu: 0426-havuç ve şalgam). En büyük üreticisi Çin'i (18,09 milyon ton) sırasıyla Özbekistan (3,16 milyon ton) ve ABD (1,43 milyon ton) takip etmektedir. Avrupa Birliğı'nde ise en büyük üreticiler Almanya (0,96 milyon ton) ve Polonya'dır (0,69 milyon ton) (Rosa ve diğ., 2023). 2022 yılı itibariyle Türkiye'de 788.578 ton havuç üretilmiştir. Türkiye geneline bakıldığında en fazla havuç üretimi gerçekleştiren ilimiz 552.128 ton ile Konya'dır. Konya'yı sırası ile Ankara (156.025 ton) ve Hatay (55.136 ton) illeri takip etmektedir (Anonim, 2022).

Havuç (*Daucus carota* L.), fenolik maddelerce zengin bir kaynaktır (Chantaro ve diğ., 2008). Taze havucun %11'ini oluşturan havuç kabukları %54,1 oranında fenolik madde içermektedir. İçerdiği fenolik maddeler, havucun antioksidan özellikler açısından önemli bir role sahip olmasına neden olmaktadır (Zhang ve Hamauzu, 2004). Havuç esas olarak hidroksisinamik asitler ve klorojenik asit, kafeik asit, 3-kafeoilkinik asit, 4-*p*-kumaroilkinik asit, 3,4-dikaffeoilkinik asit ve 3,5-dikaffeoilkinik asit gibi türevleri içermektedir (Şeregelj vd. 2020). Zhang ve Hamauzu, havuçların esas olarak hidroksisinamik asit türevleri içerdiğini, bunların arasında klorojenik asidin toplam fenoliklerin %42,2 - 61,8'ine karşılık geldiğini belirtmişlerdir (Leja ve diğ., 2013). Kayda değeri düzeyde çeşitli farklı bileşiklerin mevcudiyeti nedeniyle havuç, sağlığı geliştirici önemli özelliklere sahip fonksiyonel bir gıda olarak kabul edilmektedir (Sharma ve diğ., 2012). Gıda atıkları gıda, yem, kozmetik ve ilaç sektörü için değeri bileşenlerin üretimi için önemli bir kaynak olarak kullanılabilir (Yu ve diğ., 2014). Havuç esas olarak taze olarak kullanılmakta veya meyve suyu, içecek, şekerleme, konserve ve kurutulmuş ürünlerde işlenmektedir (Kamiloğlu ve diğ., 2016). Endüstride işlendikten sonra havuç kalıntıları, ham

maddenin %30-50'sini oluşturmakta ve dikkate değer miktarda değerli bileşikler içermektedir (şeregelj ve diğ., 2020). Havuç posası meyve suyu fabrikalarında işlendikten sonra genellikle endüstriyel atık olarak atılır veya hayvan yemi olarak kullanılırken, ortaya çıkan bu yan ürün karotenoid gibi yüksek oranda yararlı bileşikler içermektedir (Chantaro ve diğ., 2008). Dolayısıyla bu yan ürünün pigment üretiminde kullanılması hem katma değerli bir ürün elde edilmesi hem de çevresel konularda faydalı olabileceği düşünölmektedir (Jafari ve diğ., 2017). Birçok alışma, havuç biyoaktif bileşiklerinin, aynı zamanda kardiyovasköler hastalıklar, kanser, diyabet, gastrointestinal hastalıklar, oköler hastalıklar gibi sağlık sorunlarının önlenmesi ve tedavisi ile bağlantılı olan önemli antioksidan aktiviteye sahip olduğunu bildirmiştir (Al-Snafi, 2017). Bu nedenle, bu biyoaktif bileşiklerin geri kazanımı, fonksiyonel bileşenler üretebilir ve havuç atıklarının insan sağlığı üzerinde yararlı etkiler sağlayan farklı gıda ürünlerinde kullanılmasını sağlayabilir (şeregelj ve diğ., 2020).

1.3 Hipotez

Havuç posasından fenolik madde, beta karoten ve likopen eldesinde enzim ve ultrason desteği kullanıldığında geleneksel özöcü ekstraksiyonu yöntemine göre daha yüksek verim alınmakla birlikte, elde edilen fenolik maddenin antioksidan aktivitesi ve antimikrobiyal parametrelerinde de iyileşme beklenmektedir.

2. MATERYAL VE METOD

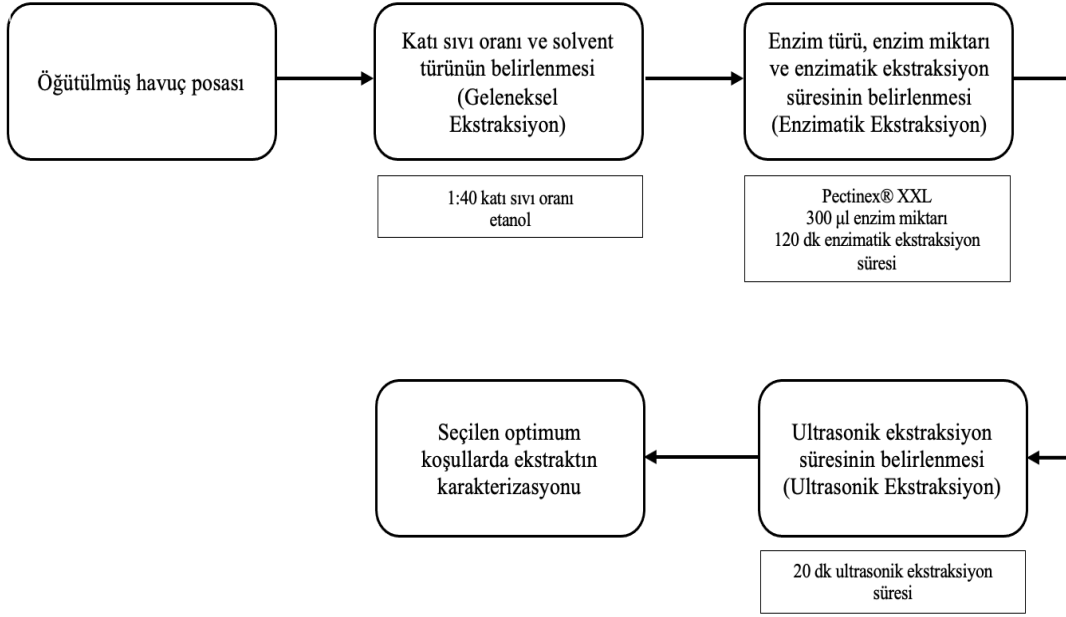
2.1 Materyal

Çalışmalarda hammadde olarak kullanılan havuç posası Anadolu Etap firmasından temin edilmiştir.

Enzimatik ön işlem için Pectinex® XXL (Novozymes, Danimarka) pektinazların, hemiselülozların ve arabinanazların bir karışımıdır. Meyve sularında ve konsantrelerde yüksek verimli renk ekstraksiyonu sağlamaktadır (10.000 PECTU/g) ve Celluclast® 1.5L (Novozymes, Danimarka) bir selülozudur. Lifli bitki dokusunda viskoziteyi azaltmakta ve bitkisel ürünlerin ekstraksiyon veriminde artış sağlamaktadır (700 EGU/g); fenolik madde ve beta karoten ekstraksiyonu için aseton, etanol ve n-hekzan; fenolik madde tayini için Folin-Ciocaltau fenol reaktifi, sodyum karbonat (Na₂CO₃), gallik asit; toplam flavonoid madde tayini için sodyum nitrat (NaNO₂), alüminyum klorür (AlCl₃), sodyum hidroksit (NaOH); antioksidan aktivite tayini için DPPH radikali kullanılmıştır. Antimikrobiyal aktivite *Salmonella* Typhimurum ATCC 14028 ve *Escherichia coli* ATCC 25922 mikroorganizmalarına karşı incelenmiştir. Mikroorganizmaların geliştirilmesi için Mueller Hinton Broth (Merck, 1.10293) ve Mueller Hinton Agar (Merck, 103872) besiyeri kullanılmıştır.

2.2 Metot

Havuç posalarına uygulanacak ekstraksiyon işlemlerinden önce optimum koşulları belirlemek için optimizasyon çalışmaları yapılmıştır. Optimizasyon akışı ve seçilen optimum koşullar Şekil 2.1'de verilmiştir. Metotlar detaylı olarak aşağıdaki başlıklarda açıklanmıştır.



Şekil 2.1 : Optimizasyon akışı ve elde edilen sonuçlar.

2.2.1 Geleneksel ekstraksiyon

Geleneksel ekstraksiyon için -40°C’de dondurulmuş olan havuç posaları oda sıcaklığında çözündürülmüştür. Daha sonra 5 g havuç posası tartılarak üzerine 100 mL etanol ilave edilmiştir. Örnekler 150 rpm’de 60 dk çalkalamalı su banyosunda (Nüve, Türkiye) bekletilmiştir. 60 dk sonunda örneklerden sıvı ve katı faz ayrılmıştır. Sıvı fazlar ayrı falkonlara alınırken katı fazların üzerine tekrar 100 mL etanol eklenerek aynı koşullarda çalkalamalı su banyosunda 60 dk daha bekletilmiştir. 60 dk sonunda sıvı ve katı fazlar tekrar ayrıştırılmış ve ilk 1 saat sonunda alınan sıvı fazın üzerine eklenmiştir. Son olarak, elde edilen sıvı kısım fenolik madde miktarı, flavonoid madde miktarı, beta karoten ve likopen miktarı ve DPPH inhibisyon analizleri için 4°C’de alüminyum folyo ile kapatılmış şişelerde saklanmıştır.

Ekstraksiyon için en etkili solventin ve katı-sıvı oranının seçimi için 3 farklı solvent (etanol, hekzan ve 1:1 etanol-hekzan karışımı) ve 3 farklı oran (1:20, 1:30 ve 1:40) denenmiştir. Her solvent ve katı-sıvı oranı için bir deneme deseni oluşturulmuş (Çizelge 2.1) ve her desen üç tekrarlı olacak şekilde ekstraksiyon gerçekleştirilmiştir. Elde edilen 27 farklı örnek beta karoten miktarı, likopen miktarı, toplam fenolik madde miktarı ve DPPH inhibisyonu analizlerine tabi tutulmuştur.

Çizelge 2.1 : Optimum katı sıvı oranı ve solvent türünü belirlemek için kullanılacak olan deneme deseni.

Solvent Türü	Katı Sıvı Oranı
Etanol	1:20; 1:30; 1:40
Hekzan	1:20; 1:30; 1:40
Etanol - Hekzan (1:1 v/v) Karışımı	1:20; 1:30; 1:40

2.2.2 Enzim destekli ekstraksiyon

Enzim destekli ekstraksiyon öncesinde 5 g havuç posası tartılarak üzerine 50 mL saf su eklenmiştir. Örneklerin pH'ı 5'e ayarlanmış ve 300 µL Pectinex® XXL ilave edilmiştir. Daha önce 50°C'ye ısıtılmış çalkalamalı su banyosunda 120 dk bekletilmiştir. Daha sonra örnekler falkonlara alınarak 25°C ve 8000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilerek su-posa ayrılmıştır. Çalkalamalı su banyosu tekrardan oda sıcaklığına getirilerek havuç posalarına geleneksel ekstraksiyon yöntemi aynı şekilde uygulanmıştır.

Enzim türüne karar vermek için Celluclast® 1.5L , Pectinex® XXL ve Celluclast® 1.5L - Pectinex® XXL (1:1 v/v) Karışım enzimleri kullanılmıştır. Her enzim türü üç tekrarlı olacak şekilde ekstraksiyon gerçekleştirilmiştir. Elde edilen 9 farklı örnek beta karoten miktarı, likopen miktarı, toplam fenolik madde miktarı ve DPPH inhibisyonu analizlerine tabi tutulmuştur.

Enzimatik ön işlemler için gerekli olan enzim miktarının ve ön işlem süresinin belirlenmesi için 3 farklı enzim miktarı (200, 300 ve 500 µL) ve 3 farklı süre (30, 60 ve 120 dk) kullanılmıştır. Her enzim konsantrasyonu ve ön işlem süresi için bir deneme deseni oluşturulmuş (Çizelge 2.2) ve her desen üç tekrarlı olacak şekilde ekstraksiyon gerçekleştirilmiştir. Elde edilen 27 farklı örnek beta karoten miktarı, likopen miktarı, toplam fenolik madde miktarı ve DPPH inhibisyonu analizlerine tabi tutulmuştur.

Çizelge 2.2 : Optimum enzim miktarı, enzim türü ve enzimatik ön işlem süresini belirlemek için kullanılacak olan deneme deseni.

Enzim Türü	Enzim Miktarı (µL)	Enzimatik Ön İşlem Süresi (dk)
Pectinex® XXL	200; 300; 500	30; 60; 120
Celluclast® 1.5L	200; 300; 500	30; 60; 120
Celluclast® 1.5L - Pectinex® XXL (1:1 v/v) Karışımı	200; 300; 500	30; 60; 120

2.2.3 Ultrason destekli ekstraksiyon

Ultrason destekli ekstraksiyon yönteminde ise 5 g havuç posasına 100 mL etanol ilave edilerek ultrasonik su banyosunda (Bandelin Sonorex, Almanya) 20 dakika boyunca 35 kHz frekansa tabi tutulmuştur. Daha sonra örnekler geleneksel ekstraksiyon yöntemi aynı şekilde uygulanmıştır.

Ultrason ön işlem süresinin belirlenmesi için 10, 20 ve 30 dk ön işlem süreleri kullanılmıştır. Her ön işlem süresi üç tekrarlı olacak şekilde ekstraksiyon gerçekleştirilmiştir. Elde edilen 9 farklı örnek beta karoten miktarı, likopen miktarı, toplam fenolik madde miktarı ve DPPH inhibisyonu analizlerine tabi tutulmuştur.

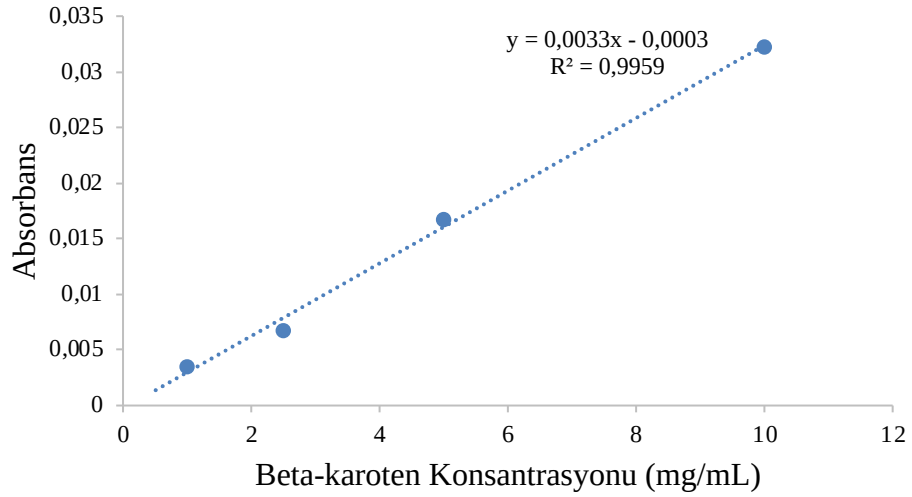
Ek olarak yöntemlerin sıralı kombinasyonlarının etkisini görebilmek için enzimatik-ultrasonik sıralı ön işlemi ve ultrasonik-enzimatik sıralı ön işlemleri seçilen optimum koşullara göre uygulanmıştır. Elde edilen bütün sıvı ekstraktların önce dönel buharlaştırıcı ile içerdiği etanol uçurulmuş daha sonra ise dondurarak kurutulmuştur. Bütün analizler katı madde üzerine uygulanmıştır.

2.2.4 Ekstraktın karakterizasyonu

Seçilen optimum koşullarda elde edilen ekstraktın toplam beta karoten, likopen, fenolik madde miktarı, flavonoid madde miktarı ve antioksidan aktivitesi spektrofotometrik yöntemler kullanılarak belirlenmiştir. Antimikrobiyal aktivite analizleri çift kat seri dilüsyon yöntemi ile yapılmıştır. Metotlar detaylı olarak aşağıdaki başlıklarda anlatılmıştır.

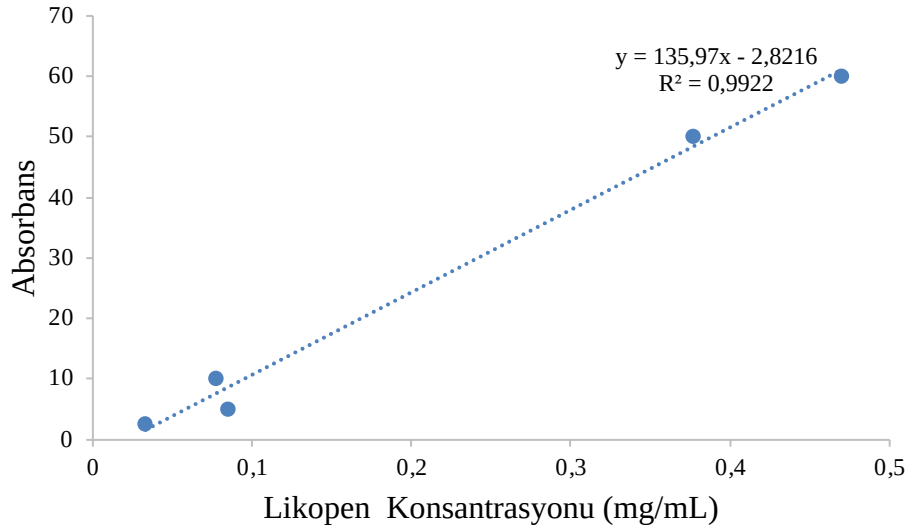
2.2.4.1 Beta-karoten ve likopen konsantrasyonunun belirlenmesi

Beta karoten konsantrasyonu için kurutulan ekstraktlar 10 mg/mL konsantrasyonunda solventte çözülmüştür. 1,5 mL örnek ve 5 mL hekzan tüplere eklenip 5 dakika bekletilmiştir. Oluşan faz ayırımından renkli kısım ayrılmıştır. Renkli kısımdan 1 mL alınıp ve üstüne 5 mL hazırlanan çözelti (Hekzan:Aseton:Etanol / 50:25:25) eklenmiştir. Faz ayrımı oluştuktan sonra üst faz 96-kuyulu plakaya aktararak spektrofotometrede (Shimadzu, Kyoto, Japonya) 450 nm’de okunmuştur. Kalibrasyon grafiği eğrisi 1-10 mg/mL beta karoten standardı kullanılarak hazırlanmıştır (Şekil 2.2).



Şekil 2.2 : Farklı konsantrasyonlardaki beta-karoten solüsyonlarının 450 nm'deki absorbans değerleri ve standart eğrisi.

Likopen konsantrasyonu ise beta karoten için hazırlanan başlangıç tüpüne beta karoten analizi için alınan 1 mL renkli kısım yerine 1 mL saf su eklenerek 5 dakika beklenmiştir. Faz ayrımı oluştuktan sonra üst faz 96-kuyulu plakaya aktarılarak spektrofotometrede (Shimadzu, Kyoto, Japonya) 503 nm'de okunmuştur. Kalibrasyon grafiği eğrisi 2,5-60 mg/mL likopen standardı kullanılarak hazırlanmıştır (Şekil 2.3).

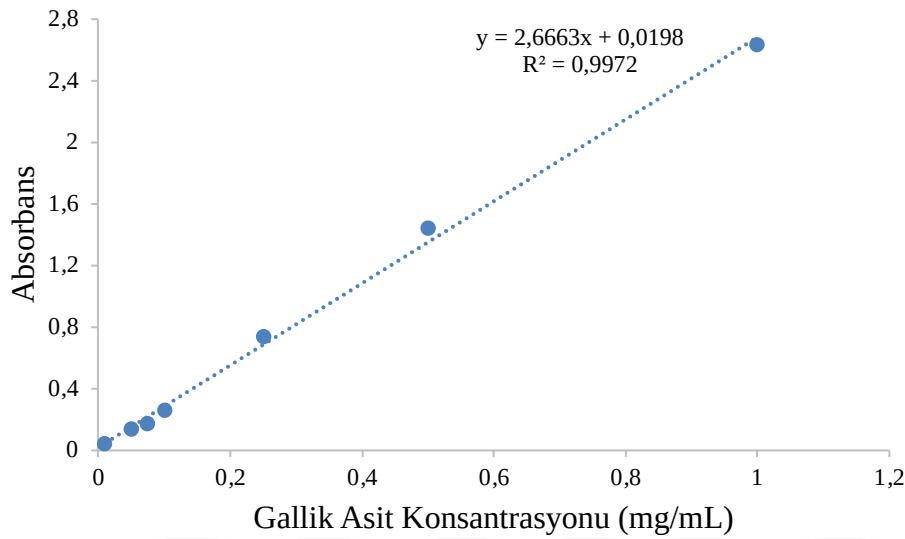


Şekil 2.3 : Farklı konsantrasyonlardaki likopen solüsyonlarının 503 nm'deki absorbans değerleri ve standart eğrisi.

2.2.4.2 Toplam fenolik madde konsantrasyonunun belirlenmesi

Havuç ekstraktının toplam fenolik içeriği, hafif değişikliklerle Folin-Ciocalteu reaktifi kullanılarak ölçülmüştür. Numunenin 100 µL'si, 0,75 mL Folin-Ciocalteu reaktifi (su ile 1:10 oranında seyreltilmiş) ile karıştırılmıştır. Karışım oda sıcaklığında 5 dakika

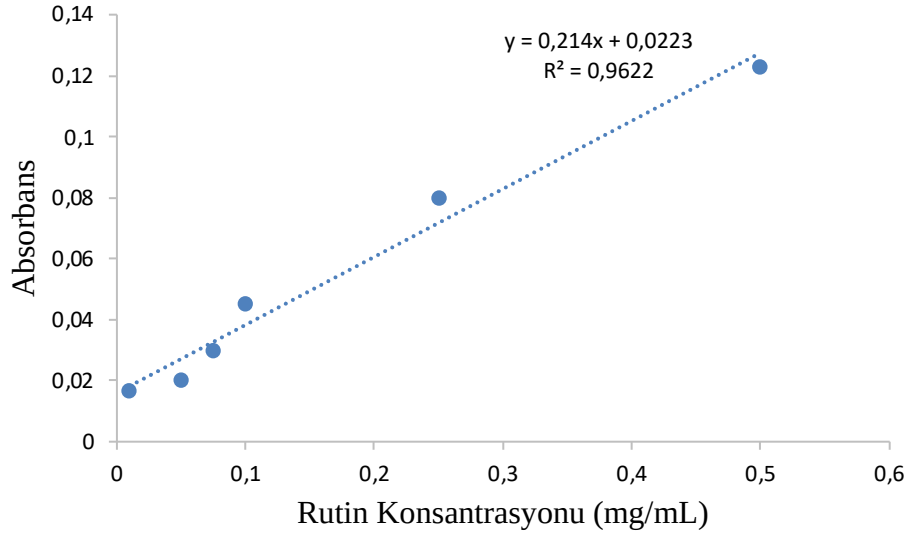
bekletildikten sonra karışıma 0,75 mL %6 (w/v) sodyum karbonat (Na_2CO_3) ilave edilmiştir. Karışım oda sıcaklığında 60 dakika karanlık bir ortamda tutulmuş ve absorbens spektrofotometrede (Shimadzu, Kyoto, Japonya) 765 nm'de ölçülmüştür (Kaur ve diğ., 2022). Kalibrasyon grafiği eğrisi 0,01-1 mg/mL gallik asit standardı kullanılarak hazırlanmıştır (Şekil 2.4).



Şekil 2.4 : Farklı konsantrasyonlardaki Gallik Asit solüsyonlarının 765 nm'deki absorbens değerleri ve standart eğrisi.

2.2.4.3 Toplam flavonoid madde konsantrasyonunun belirlenmesi

Havuç ekstraktının toplam flavonoid içeriği Alüminyum Klorür reaktif yöntemiyle belirlenmiştir. 0,25 mL olan ekstrakt distile su ile 1,25 mL'ye tamamlanmış ve 75 µL %5 sodyum nitrat (NaNO_2) çözeltisi ile karıştırılarak 6 dakika bekletilmiştir. Daha sonra 150 µL %10 alüminyum klorür (AlCl_3) çözeltisi ilave edilmiş ve karışımın 5 dakika daha beklemesi sağlanmıştır. Son olarak 0,5 mL 1 M sodyum hidroksit (NaOH) çözeltisi ilave edilmiş ve karışımın son hacmi distile su ile 2,5 mL'ye tamamlanmıştır. Karışımın absorbens spektrofotometrede (Shimadzu, Kyoto, Japonya) 510 nm'de ölçülmüştür (John ve diğ., 2018). Kalibrasyon grafiği eğrisi 0,01-0,5 mg/mL rutin standardı kullanılarak hazırlanmıştır (Şekil 2.5).



Şekil 2.5 : Farklı konsantrasyonlardaki rutin solüsyonlarının 510 nm’deki absorbans değerleri ve standart eğrisi.

2.2.4.4 Antioksidan aktivitenin belirlenmesi

Ekstrakte edilen karotenoidlerin antioksidan aktivitesi, DPPH yöntemi kullanılarak değerlendirilmiştir. 100 µL karotenoid ekstraktından oluşan bir kısım, 3 mL DPPH çözeltisi ile karıştırılmıştır. Bu karışım oda sıcaklığında karanlıkta 30 dakika inkübasyon için bekletilmiştir. Bu işlem sırasında DPPH'deki serbest radikaller, karotenoid özütünde bulunan antioksidanlarla eşleşir ve bu da DPPH'nin mor rengini daha da azaltır. Mor rengin açılması nedeniyle örneklerin absorbansındaki bu azalma, ekstrakte edilen örneklerin antioksidan içeriğinin miktarını vermektedir (Kaur ve diğ., 2022). İnkübasyon sonrası çözeltiler 96-kuyulu plakaya aktararak spektrofotometrede (Shimadzu, Kyoto, Japonya) 517 nm’de okunmuştur. DPPH inhibisyonu (%) denklem 2.1'e göre hesaplanmıştır. Kontrol olarak ekstrakt ilavesi yapılmayan DPPH çözeltisi kullanılmıştır.

$$\% \text{ Antioksidan aktivitesi: } 100 \times \left[\frac{(\text{Abs}_{517 \text{ nm kontrol}} - \text{Abs}_{517 \text{ nm örnek}})}{\text{Abs}_{517 \text{ nm kontrol}}} \right] \quad (2.1)$$

Abs kontrol: kontrolün absorbansı

Abs örnek: örneğin absorbansı

2.2.4.5 Antimikrobiyal aktivitenin belirlenmesi

Antimikrobiyal aktivite analizi için, kurutulmuş olan ekstraktlar %50 DMSO çözeltisi içinde çözdürülmüştür. Elde edilen çözeltilerin *Salmonella Typhmrium* ATCC 14028 ve *Escherichia coli* ATCC 25922 suşlarına karşı minimum inhibisyon konsantrasyonu

(MİK) ve minimum bakterisidal konsantrasyonu (MBK) çift kat seri dilüsyon yöntemi ile belirlenmiştir. 37°C’de 24 saat geliştirilmiş bakteri kültürlerinin konsantrasyonu yaklaşık 10^6 kob/mL’ye ayarlanarak kullanılmıştır.

MİK değeri, mikropilaka kullanılarak spektrofotometrik yöntemle belirlenmiştir. Kuyulara 180 µL ekstrakt konsantrasyonu 128 mg/mL’ye ayarlanmış örnek çözeltisi ve 20 µL mikroorganizma süspansiyonu konulmuştur. Mikropilakalar 37°C’de 18-24 saat inkübasyona bırakılmıştır. 180 µL Mueller Hinton Broth (MHB) ve 20 µL mikroorganizma süspansiyonu eklenmiş kuyu pozitif kontrol, 180 µL ekstrakt ve 20 µL MHB eklenmiş kuyu negatif kontrol olarak değerlendirilmiştir. İnkübasyon öncesi ve sonrasında 600 nm’de mikropilaka okuyucu ile optik yoğunluk ölçülmüştür.

Mikrobiyal gelişmenin görülmediği en düşük konsantrasyon MİK değeri olarak kaydedilmiştir. Bu değerler aynı zamanda resazurin testi ile de doğrulanmıştır. Kuyulardan MBK analizi için örnek alındıktan sonra üzerine 10 µL 1 mg/mL resazurin solüsyonu ilave edilerek 37°C’de 4 saat inkübasyona bırakılmıştır. Mavi-pembe renk değişimine göre mikroorganizma varlığı belirlenmiştir.

Ekstraktların MBK değerlerinin belirlenmesi için farklı konsantrasyonlarda ekstrakt içeren kuyulardan 60 µL alınarak MHA besiyerine ekilmiştir. 37°C’de 24 saat inkübasyonun ardından gelişme görülmeyen en düşük konsantrasyon MBK değeri olarak belirlenmiştir (Behbahani ve diğ., 2019).

2.3 İstatistiksel Analiz

Tüm deneyler Minitab 18.1 (Minitab Inc., ABD) ile istatistiksel olarak analiz edilmiştir ve ortalama $\pm$ standart sapma olarak ifade edilmiştir. Yöntemlerin etkisi, tek yönlü varyans analizi (ANOVA) testiyle karşılaştırılmıştır, ardından bağımsız değişkenlerin ikili ve eşzamanlı karşılaştırması için %95 güven düzeyiyle Tukey testi uygulanmıştır. Spektrofotometrik analizlerin korelasyon katsayıları (R), Excel (Microsoft, ABD) yazılımı kullanılarak hesaplanmıştır. Her deney üç bağımsız tekrar halinde gerçekleştirilmiştir.

3. BULGULAR VE TARTIŞMA

3.1 Geleneksel Ekstraksiyon

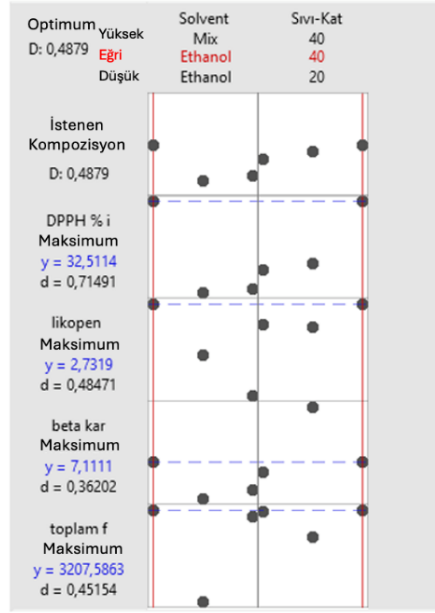
İlk aşamada, optimum katı sıvı oranı ve solvent türünü belirlemek için farklı katı sıvı oranları ve solvent türleri beraber ve ayrı ayrı uygulanmıştır (Çizelge 3.1).

Çizelge 3.1 : Havuç posasına geleneksel ekstraksiyon işlemi uygulanması sonrası optimum katı sıvı oranı ve solvent türü sonuçları.

Katı-Sıvı Oranı	Solvent Türü	Beta-karoten Kons. (µg/mL)	Likopen Kons. (µg/mL)	Toplam Fenolik Madde Kons. (mg GAE/100g)	DPPH (% inh.)
1: 20	Etanol	5,93 ± 1,19 ^{bc}	2,32 ± 0,12 ^a	3172,54 ± 677,37 ^{ab}	13,10 ± 1,70 ^b
	Hekzan	3,09 ± 0,76 ^{bc}	1,11 ± 0,10 ^a	311,79 ± 168,72 ^d	5,42 ± 2,17 ^b
	Etanol - Hekzan Karışımı	5,31 ± 2,10 ^{bc}	2,37 ± 2,13 ^a	3865,18 ± 363,72 ^a	15,96 ± 6,30 ^b
1: 30	Etanol	13,69 ± 3,29 ^a	2,27 ± 1,44 ^a	2445,89 ± 697,42 ^{abcd}	14,70 ± 3,01 ^b
	Hekzan	2,34 ± 0,66 ^c	0,70 ± 0,17 ^a	754,48 ± 145,59 ^{bcd}	5,79 ± 1,63 ^b
	Etanol - Hekzan Karışımı	3,92 ± 1,40 ^{bc}	1,94 ± 0,92 ^a	4964,48 ± 1871,46 ^a	7,49 ± 5,44 ^b
1: 40	Etanol	7,11 ± 0,74 ^b	2,73 ± 2,05 ^a	3207,59 ± 298,99 ^{ab}	32,51 ± 12,88 ^a
	Hekzan	2,77 ± 0,37 ^{bc}	1,69 ± 1,71 ^a	585,6 ± 217,67 ^{cd}	6,35 ± 2,26 ^b
	Etanol - Hekzan Karışımı	3,85 ± 1,42 ^{bc}	0,86 ± 0,34 ^a	3001,87 ± 1600,76 ^{abc}	7,50 ± 3,05 ^b

* Aynı sütunda farklı küçük harf ile gösterilmiş değerler arasında istatistiksel olarak önemli bir fark bulunmaktadır (p < 0,05).

ANOVA testi sonrası katı sıvı oranı, solvent türü ve bu iki faktörün etkileşiminin incelediğimiz parametreler üzerinde istatistiksel olarak algılanabilir bir etkisinin olduğu görülmüştür (p<0,05). Elde edilen sonuçlara göre parametrelerin karotenoidlerin ekstraksiyonu üzerindeki etkisini daha iyi inceleyebilmek adına ek olarak Yanıt İyileştirici testi uygulanmıştır (Şekil 3.1). Sonuçlar incelendiğinde 1:40 katı sıvı oranı ve etanol optimum koşul olarak belirlenmiştir.



Şekil 3.1 : Katı sıvı oranı ve solvent türünün seçimi için uygulanan Yanıt İyileştirici testinin sonuçları.

Katı sıvı oranı ve kullanılacak solventin türü ekstraksiyon verimi için önemli parametrelerdendir. Literatüre bakıldığında, karotenoidlerin ekstraksiyonu ve saflaştırılmasında çoğunlukla aseton, metanol, etanol, etil asetat, izopropil alkol, petrol eteri, heksan vb. organik çözücüler tek başına veya kombinasyon halinde kullanılmaktadır (Sachindra ve Mahendrakar, 2005). Karotenoidler genel olarak hidrofobik moleküllerdir ve bu nedenle yalnızca organik çözücülerde çözünürler ve suda yalnızca sınırlı bir çözünürlüğe sahiptirler. Uç gruplarda hidroksil gruplarının varlığı, karotenoidin daha polar hale gelmesine neden olur ve çeşitli organik çözücülerdeki çözünürlüğünü etkiler. Karotenoidler yenilebilir katı ve sıvı yağlar da dahil olmak üzere polar çözücülerde çözünür. N-heksan etanole göre daha az polar çözücüdür. Suyla olan zıtlığı nedeniyle havuç posalarına düzgün şekilde dağılmaz. Yani n-heksanın ekstraksiyon verimliliği minimumdur. Öte yandan etanol polardır ve havuç posalarının içinde düzgün bir şekilde dağılmıştır. Beta karoten böylece havucun iç matrisini oluşturan etanolde daha fazla ekstrakte edilir. Çiğ havuç yaklaşık %87 oranında nem içerdiği için etanol gibi suyla karışabilen organik çözücülerin kullanımı daha fazla tercih edilmektedir. Ayrıca etanol gibi gıda sınıfı solventler kullanılarak daha güvenli ekstraktlar elde edilebilmektedir. Parçacık boyutunun, sıcaklığın, çözücülerin, katı/çözücü oranının ve ekstraksiyon süresinin β -karoten ekstraksiyon verimi üzerindeki etkisini inceleyen bir araştırmada etanol ve 1:40 katı sıvı oranı optimum koşullar olarak belirlenmiştir (Das ve Bera, 2013). Kaur ve diğ., 2022 yılında

yayınlağığı araştırmanın sonuçlarına göre optimum olarak seçilen 1:40 katı sıvı oranının toplam fenolik madde konsantrasyonu ($78,12 \pm 0,35$ g GAE/100 g kuru ağırlık), toplam karotenoid konsantrasyonu ($192,81 \pm 0,32$ mg karotenoid /100 g kuru ağırlık) ve DPPH için ($823,14 \pm 0.54$ mM TE/100 g kuru ağırlık) en yüksek verimlilik sağladığını belirtmiştir (Kaur ve diğ., 2022). Calvo ve diğ., (2007) domates kabuğu tozundan elde edilen her bir (α & β) karoten veriminin, etanol ile yapılan ekstraksiyonda, etil asetat kullanılarak yapılan ekstraksiyona göre belirgin şekilde daha yüksek olduğunu bulmuşlardır (Calvo ve diğ., 2007).

3.2 Enzim Destekli Ekstraksiyon

Enzim destekli ekstraksiyon aşamasında, optimum enzim türü (izelge 3.2), enzim miktarı ve ekstraksiyon süresini belirlemek için farklı enzim miktarları, türleri ve süreleri beraber ve ayrı ayrı uygulanmıştır (izelge 3.3).

Çizelge 3.2 : Havuç posasına enzim ekstraksiyon ön işlemi uygulanması sonrası optimum enzim türü sonuçları.

Enzim Türü	Beta-karoten Kons. ($\mu\text{g/mL}$)	Likopen Kons. ($\mu\text{g/mL}$)	Toplam Fenolik Madde Kons. (mg GAE/100g)	DPPH (% inh.)
Pectinex® XXL	$5,75 \pm 0,66^a$	$3,88 \pm 1,22^a$	$1261,59 \pm 648,85^a$	$5,74 \pm 2,7^a$
Celluclast® 1.5L	$6,10 \pm 1,04^a$	$2,02 \pm 0,29^b$	$1088,43 \pm 107,83^a$	$10,52 \pm 2,90^a$
Celluclast® 1.5L - Pectinex® XXL (1:1 v/v) Karişımı	$2,93 \pm 1,05^b$	$1,78 \pm 0,07^b$	$638,04 \pm 114,64^a$	$6,11 \pm 2,05^a$

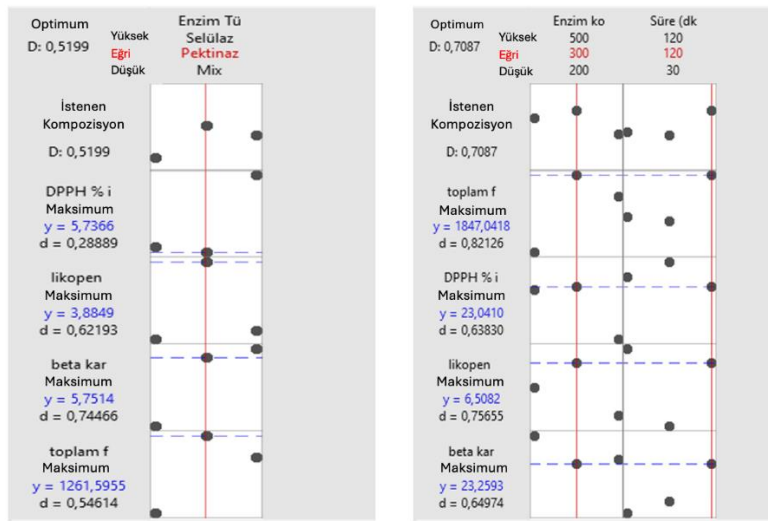
* Aynı sütunda farklı küçük harf ile gösterilmiş değerler arasında istatistiksel olarak önemli bir fark bulunmaktadır ($p < 0,05$).

Çizelge 3.3 : Havuç posasına enzim ekstraksiyon ön işlemi uygulanması sonrası optimum enzim miktarı ve ekstraksiyon süresi sonuçları.

Enzim Miktarı (μL)	Enzimatik Ekstraksiyon Süresi (dk)	Beta-karoten Kons. ($\mu\text{g/mL}$)	Likopen Kons. ($\mu\text{g/mL}$)	Toplam Fenolik Madde Kons. (mg GAE/100g)	DPPH (% inh.)
200	30 dk	$21,51 \pm 0,56^{abc}$	$7,11 \pm 0,79^a$	$907,03 \pm 426,55^b$	$25,95 \pm 0,001^{abc}$
	60 dk	$18,04 \pm 3,74^{bc}$	$5,24 \pm 1,05^{ab}$	$1715,11 \pm 223,09^{ab}$	$27,52 \pm 0,003^{ab}$
	120 dk	$26,88 \pm 3,30^a$	$5,88 \pm 2,32^{ab}$	$907,03 \pm 114,26^b$	$22,26 \pm 0,002^c$
300	30 dk	$16,81 \pm 2,58^c$	$6,87 \pm 0,11^a$	$1335,81 \pm 308,97^{ab}$	$25,11 \pm 0,003^{abc}$
	60 dk	$18,46 \pm 3,33^{bc}$	$4,87 \pm 1,11^{ab}$	$1286,33 \pm 247,37^{ab}$	$28,69 \pm 0,005^a$
	120 dk	$23,26 \pm 5,18^{ab}$	$6,51 \pm 1,27^{ab}$	$1847,04 \pm 357,9^a$	$23,04 \pm 0,003^{bc}$
500	30 dk	$20,49 \pm 1,66^{bc}$	$6,07 \pm 0,96^{ab}$	$1739,85 \pm 370,5^{ab}$	$24,47 \pm 0,002^{abc}$
	60 dk	$16,10 \pm 1,92^c$	$4,26 \pm 0,55^b$	$2044,94 \pm 28,56^a$	$27,22 \pm 0,000^{abc}$
	120 dk	$23,79 \pm 2,68^{ab}$	$5,16 \pm 1,76^{ab}$	$1583,18 \pm 453,44^{ab}$	$10,82 \pm 0,003^d$

* Aynı sütunda farklı küçük harf ile gösterilmiş değerler arasında istatistiksel olarak önemli bir fark bulunmaktadır ($p < 0,05$).

Sonuçlar incelendiğinde, enzimatik ön işlem süresi, enzim konsantrasyonu ve bu iki faktörün etkileşiminin parametreler üzerinde istatistiksel olarak algılanabilir bir etkisinin olduğu görülmüştür ($p < 0,05$). Ayrıca enzim türünün ise fenolik madde konsantrasyonu ve DPPH üzerinde istatistiksel olarak algılanabilir bir etkisinin olmadığı görülmüştür ($p > 0,05$). Ancak hedef bileşiklerimiz karotenoidler olduğundan dolayı katı sıvı oranı ve solvent türünü seçmek için uyguladığımız Yanıt İyileştirici testi bu analizler için de uygulanmıştır (Şekil 3.2). Analizlerin sonuçlarına göre Pectinex® XXL, 300 µl enzim miktarı ve 120 dakika işlem süresi optimum koşul olarak belirlenmiştir.



Şekil 3.2 : Enzim türü, enzim miktarı ve enzimatik ön işlem süresinin seçimi için uygulanan Yanıt İyileştirici testinin sonuçları.

Enzim bazlı ekstraksiyon yöntemi temel olarak uygun enzimlerin (pektinaz, selülaz vb.), optimum çalışma koşullarının (sıcaklık, pH vb.) ve substratın seçimine bağlıdır. Enzim türü için literatürde yapılan araştırmalara bakıldığında Adadi ve diğ. (2018) havuçtan karotenoid elde etmek için pektinaz enzimi kullanıldığında geleneksel yöntemle göre % 41 verim artışı sağladığını belirtmiştir (Adadi ve diğ., 2018). Citrozym CEO, Citrozym Ultra L, Peclyve LI ve Peclyve EP ticari enzimleri kullanılarak likopen ekstraksiyon verimliliğinin araştırıldığı diğer bir çalışmada ise Peclyve LI ve EP, sırasıyla 356 ve 318 mg/100 g'lık geri kazanımlarla en verimli olan pektinolitik enzim türleri olduğunu ve ortalama olarak bu değerlerin, işlem görmemiş kabuklara göre neredeyse 20 kat artışa karşılık geldiğini belirtmişlerdir (Lavecchia ve Zuorro, 2008). Kırmızı biberden enzim ekstraksiyonu ile karotenoid elde edilen bir araştırmada 3 farklı enzim türü (Viskozim L, pektinaz ve selülaz) ve 3 farklı

enzim/püre konsantrasyonu (%0,10, 0,20 ve 0,30) kullanılmıştır. Enzim dozajındaki kademeli artış, ekstrakt verimini, toplam karotenoidleri, fenolikleri, askorbik asit içeriğini ve antioksidan aktiviteyi önemli ölçüde artırmıştır. Viskozim ve pektinaz enzimlerinin, karotenoidlerin ve diğer biyoaktif maddelerin selülozdan önemli ölçüde daha yüksek geri kazanımına neden olduğunu belirtmişlerdir (Nath ve diğ., 2016). Ayrıca ayçiçeği atıklarından karotenoidlerin ve fenolik bileşiklerin enzim destekli ekstraksiyonu çalışmasında hacimce %0,58 enzim konsantrasyonu ve 120 dakika optimum ekstraksiyon koşulları olarak belirlenmiştir (1449 mg karotenoid/100 g biyokütle) (Ricarte ve diğ., 2020).

3.3 Ultrason Destekli Ekstraksiyon

Ultrason destekli ekstraksiyon aşamasında, optimum ekstraksiyon süresini belirlemek için farklı süreler ayrı ayrı uygulanmıştır (Çizelge 3.4).

Çizelge 3.4 : Havuç posasına enzim ekstraksiyon ön işlemi uygulanması sonrası optimum ekstraksiyon süresi sonuçları.

Ultrasonik Ekstraksiyon Süresi (dk)	Beta-karoten Kons. ($\mu\text{g/mL}$)	Likopen Kons. ($\mu\text{g/mL}$)	Toplam Fenolik Madde Kons. (mg GAE/100g)	DPPH (% inh.)
10 dk	22,91 $\pm$ 0,82 ^a	5,91 $\pm$ 0,36 ^a	2943,72 $\pm$ 186,76 ^a	1,29 $\pm$ 0,12 ^c
20 dk	24,82 $\pm$ 2,01 ^a	3,80 $\pm$ 0,06 ^b	2671,61 $\pm$ 148,42 ^a	2,89 $\pm$ 0,54 ^b
30 dk	26,54 $\pm$ 1,59 ^a	2,83 $\pm$ 0,88 ^b	2844,77 $\pm$ 238,56 ^a	4,50 $\pm$ 0,14 ^a

* Aynı sütunda farklı küçük harf ile gösterilmiş değerler arasında istatistiksel olarak önemli bir fark bulunmaktadır ($p < 0,05$).

Ultrasonik ön işlem sürelerinin sonuçları arasında önemli derecede bir farklılık olmamasından dolayı ana hedefimiz olan beta karoten özelinde ek bir inceleme yapılmıştır. Ancak ultrasonik ön işlem süresinin beta karoten konsantrasyonu üzerinde istatistiksel olarak algılanabilir bir etkisinin olmadığı görülmüştür ($p > 0,05$). Bu nedenle ultrasonik ön işlem süresi için literatürdeki araştırmalar ile desteklenerek 20 dakika optimum koşul olarak belirlenmiştir. Taze havuçlardan ultrason destekli karotenoid ekstraksiyonu için yapılan çalışmada 5, 20 ve 30 dakika ultrasonikasyon süreleri içerisinde en iyi beta karoten verimi 20 dakikalık uygulama süresinde elde edilmiştir (Li ve diğ., 2013). Havuç posasından ultrasonik destekli ekstraksiyon ile karotenoid elde etmek için yapılan diğer bir çalışmada ise 17 dakikalık ultrasonikasyon süresinin maksimum toplam karotenoid miktarını (32,20 $\mu\text{g/g}$) verdiği belirtilmiştir. Ayrıca zaman, sıcaklık ve etanol konsantrasyonu gibi bağımsız değişkenlerin

ekstraksiyon verimleri üzerinde kayda değer bir etkisi olduğu saptanmıştır (Umair ve diğ., 2021).

3.4 Ekstraktın Karakterizasyonu

Belirlenen optimum koşullar kullanılarak havuç posasından beş farklı ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen ekstraktın analizleri gerçekleştirilmiştir. Analizlerin sonuçları Çizelge 3.5'de özetlenmiştir. Sonuçlar aşağıdaki başlıklarda detaylı olarak açıklanmıştır.

Çizelge 3.5 : Havuç posasına farklı ekstraksiyon işlemleri uygulanması sonrası elde edilen ekstraktın analiz sonuçları.

Ekstraksiyon Yöntemi	Beta-karoten Kons. (mg/g)	Likopen Kons. (mg/g)	Toplam Fenolik Madde Kons. (mg GAE/g)	Toplam Flavonoid Madde Kons. (mg rutin/g)	DPPH (% inh.)
Geleneksel Ekstraksiyon	5,51 ± 0,29 ^c	2,09 ± 0,006 ^c	2,19 ± 0,49 ^b	103,70 ± 3,52 ^c	9,29 ± 2,90 ^b
Enzim Destekli Ekstraksiyon	26,37 ± 0,26 ^b	20,93 ± 0,005 ^a	9,97 ± 1,38 ^a	209,44 ± 7,98 ^a	25,57 ± 4,15 ^a
Ultrason Destekli Ekstraksiyon	4,25 ± 0,99 ^c	2,08 ± 0,011 ^c	3,32 ± 0,87 ^b	77,97 ± 5,88 ^d	7,09 ± 1,49 ^b
Enzim - Ultrason Destekli Ekstraksiyon	28,62 ± 0,52 ^a	2,20 ± 0,074 ^b	8,11 ± 0,98 ^a	175,49 ± 7,02 ^b	21,12 ± 4,70 ^a
Ultrason - Enzim Destekli Ekstraksiyon	2,54 ± 0,27 ^d	2,08 ± 0,008 ^c	2,02 ± 0,11 ^b	75,84 ± 6,97 ^d	6,43 ± 1,45 ^b

* Aynı sütunda farklı küçük harf ile gösterilmiş değerler arasında istatistiksel olarak önemli bir fark bulunmaktadır (p < 0,05).

3.4.1 Beta-karoten ve likopen konsantrasyonu

Yapılan istatistiksel analizler sonucunda elde edilen beta karoten ve likopen konsantrasyonları Çizelge 3.5'de özetlenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre 28,62 ± 0,52 mg/g beta karoten konsantrasyonu ile en iyi yöntemin Enzim - Ultrason Destekli Ekstraksiyon olduğu görülmektedir. Enzim Destekli Ekstraksiyon'dan elde edilen beta karoten konsantrasyonunun sonuçları da Enzim - Ultrason Destekli Ekstraksiyon'un sonuçlarına yakın bulunmuştur. Likopen konsantrasyonu sonuçlarına göre ise Enzim Destekli Ekstraksiyon yönteminin likopen konsantrasyonu üzerinde önemli bir etkisi olduğu görülmüştür (p<0,05). En iyi likopen konsantrasyonu 20,93 ± 0,005 mg/g ile Enzim Destekli Ekstraksiyon ile elde edilmiştir. Geri kalan dört yöntemden elde edilen likopen konsantrasyonları birbirine oldukça yakın bulunmuştur.

Yapılan çalışmalar enzimlerin reaksiyonları yüksek özgüllükle katalize etme, hücre duvarlarını ve zarlarını parçalama konusunda etkili olduğunu göstermektedir. Sebze

matrisine enzimatik ön işlemlerin uygulanması, hücre duvarı geçirgenliğini artırarak karotenoidlerin geçişini arttırabilmektedir (Miekus ve diğ., 2019). Enzim destekli ekstraksiyon, mikrodalga ve ultrason destekli ekstraksiyonla karşılaştırıldığında hücre duvarlarının bozulması açısından daha iyi bir profile sahiptir çünkü işlem daha düşük enerji harcamasıyla daha yüksek bir verimliliğe ulaşmaktadır (Wang ve diğ., 2017). Strati ve diğ. (2015) yaptığı çalışmada pektinolitik ve selüloolitik aktivitelere sahip enzimlerin kullanımıyla domates işleme atıklarından karotenoidlerin geri kazanımında artış olduğunu göstermiştir. Ayrıca enzim destekli ekstraksiyonu, bitki kaynaklarından analitlerin ekstraksiyon veriminde bir artışa neden olan solvent ekstraksiyonundan önce bir ön arıtma prosedürü olarak önermişlerdir (Strati ve diğ., 2015). Ek olarak enzimatik ekstraksiyon sırasındaki çalkalama, enzimin sıvı fazdan bitkisel matrise (katı faz) difüzyonunu kolaylaştırır. Bu hızlı enzimatik adsorpsiyon, hücre duvarının parçalanmasını hızlandırabilir ve ekstraksiyon veriminde bir artışa yol açabilir. Bu nedenle karotenoidlerin enzimatik ekstraksiyonu sırasında çalkalama önemli bir rol oynamaktadır (Mezzomo ve Ferreira, 2016). Kabaktan enzim destekli ekstraksiyon ile karotenoid elde edilen bir çalışmada maksimum karotenoid ekstraksiyonunun 3,40 mg/100 g olduğu ve ekstraksiyon veriminin %76,06 olduğu bulunmuştur (Sharma ve Sogi, 2022). Enzimatik ekstraksiyon ile kırmızı biberden karotenoid elde edilen çalışmada toplam karotenoid içeriği 279,83 mg/100 g olarak belirtilmiştir (Nath ve diğ., 2016).

Ultrason enerjisinin kullanılması, kavitasyonun neden olduğu hücre bozulması nedeniyle bitki bileşiklerinin ekstraksiyonunu da kolaylaştırabilmektedir (Kumar ve diğ., 2021). Buna rağmen, ultrason destekli ekstraksiyonda elde edilen beta karoten verileri geleneksel ekstraksiyondan daha düşüktür. Bunun nedeni matrisi ve çözücüyü banyo içinde tutan kabın doğru konumlandırılmamış olması olabilir. Çünkü ultrason ekstraksiyonunda ultrason dalgalarının etkisi konuma bağlı olarak değişmektedir (Carreira-Casais ve diğ., 2021). Bununla beraber diğer başka nedenler: kavitasyon sırasında üretilen serbest radikallerin etkisi ve yüksek yoğunluklarda daha fazla sayıda kabarcığın oluşması ile şok dalgalarının yayılmasının engellenmesi ve hatta birleşerek hafifçe patlaması ve kavitasyon etkisinin azalması olabilir (Linares ve Rojas, 2022). Umair ve diğ. (2021) yaptığı havuç posasından ultrason destekli ekstraksiyon ile karotenoid eldesi çalışmasında β -karotene miktarı $14,89 \pm 0,40$ $\mu\text{g/g}$ ve Likopen miktarı $2,65 \pm 0,12$ $\mu\text{g/g}$ şeklinde elde edilmiştir (Umair ve diğ., 2021). Bu değerlerin

çalışmamızdaki değerlerden farklı olmasının sebebi hammadde türünün, enzim türü ve miktarının, solvent türünün, ekstraksiyon süresinin ve sıcaklığının farklı olmasından kaynaklanıyor olabilir.

3.4.2 Toplam fenolik madde konsantrasyonu

Toplam fenolik madde konsantrasyonu için sonuçlar incelendiğinde Enzim Destekli Ekstraksiyon $9,97 \pm 1,38$ mg GAE/g ve Enzim - Ultrason Destekli Ekstraksiyon $8,11 \pm 0,98$ mg GAE/g ile elde edilen fenolik madde konsantrasyonlarının diğer üç ekstraksiyon yöntemine göre daha iyi olduğu görülmüştür. Fenolik madde konsantrasyonları Çizelge 3.5'de özetlenmiştir.

Bitki kaynaklı polifenoller, antioksidan kapasiteleri ve gıda ve nutrasötik endüstrilerini ilgilendiren kardiyovasküler hastalıklara karşı koruma gibi diğer sağlık yararları ile iyi bilinmektedir (Basegmez ve diğ., 2017). Enzimatik ve enzim destekli işlemler, polifenollerin ekstraksiyonu için idealdir çünkü bu işlemler, bu bileşiklere potansiyel olarak zarar verebilecek yüksek sıcaklıklar veya çözücüler içermezler ve hücre duvarı polisakkaritleri ile etkileşime bağlı olarak bağlı fenoliklerin geri kazanılmasında oldukça etkilidirler (de Camargo ve diğ., 2016). Enzimlerin kullanımı, sulu veya etanol ekstraksiyonları gibi geleneksel tekniklerle karşılaştırıldığında, özellikle ılımlı sıcaklıklarda, fenolik bileşiklerin daha yüksek ekstraksiyon verimlerini destekleyebilir. Sulu işlemlerle karşılaştırıldığında, enzimler aynı miktarda polifenolün ekstraksiyonu için gereken inkübasyon süresini de azaltabilir (Li ve diğ., 2006). Kırmızı biberden enzim ekstraksiyonu yapılan çalışmada enzimatik ön işlem sonrasında toplam fenolik madde içeriği 61,75 mg GAE/100 g belirtilmiştir (Nath ve diğ., 2016). Siyah havuçtan selüloz enzimi ile toplam fenolik bileşik elde edilen bir çalışmada toplam fenolik bileşik içeriği 305,88 mg GAE/100 g olarak belirtilmiştir (Kumar ve Dahuja, 2019). Enzim destekli işleme yoluyla ekstrakte edilen siyah havuç suyunun toplam fenol, flavonoid ve antosiyanin içeriği, düz preslenmiş meyve suyuna göre önemli ölçüde ($p < 0,05$) artmıştır. Hiçbir işlem uygulanmadan sıkılmış meyve suyundaki toplam fenolik içerik 300 mg GAE/100 mL idi ve enzimatik işlemler (%0,2 pektinaz) 382 mg GAE/100 mL'ye yükselmiştir. Genel olarak enzim destekli işlemeyle toplam fenoliklerde %27 artış olduğu belirtilmiştir (Khandare ve diğ., 2011).

Fenolik maddeler Folin-Ciocalteu reaktifi ile mavi renkli kompleks bir yapı oluşturmaktadırlar (Blainski ve diğ., 2013). Folin-Ciocalteu reaktifi bir bileşenin

indirgenme kapasitesini belirlemeye yardımcı olmaktadır (Büyüktuncel, 2013). Bu nedenle havuç posasının içerdiği flavonlar ve vitaminler gibi antioksidan aktivite gösteren tüm bileşiklerin fenolik madde oranına etki edebileceği yani sistematik hataların olabileceği anlamına gelebilmektedir. Ayrıca bu bileşenler ışık, sıcaklık gibi ortam koşullarından fazlaca etkilenebilmektedir. Bundan dolayı alınan örneklerin ışığa veya sıcaklığa maruz kalması sonucu bazı vitaminlerin bozulması ile tespit edilen fenolik madde oranı düşük olarak tespit edilmiş olabilir çünkü daha önce bahsedildiği üzere Folin-ciocalteu metodu sadece fenolik maddeleri değil; indirgeme özelliği olan tüm bileşenleri ölçebilmektedir. Mango kabuğundan ultrason destekli ekstraksiyon ile fenolik bileşik elde edilen bir çalışmada, ultrason işlemi toplam fenolik bileşiklerinin ekstraksiyonunu etkilememiştir. Bu nedenle, ultrason güç yoğunluğunun fenolik ekstraksiyonu etkilemediği dikkate alınarak, solvent ve enerji harcamasını azaltmayı hedefleyerek, mango kabuğundan fenolik ekstraksiyonu için en iyi koşul, etanol hacim fraksiyonunun %50'si ve ultrasonik uygulama yapılmaması olarak seçilmiştir. Elde edilen toplam fenolik bileşik konsantrasyonu $9,3 \pm 0,4$ mg GAE/g kuru ağırlık'tır (Guandalini ve diğ., 2019). Mor havuçtan ultrason destekli ekstraksiyon ile fenolik bileşik elde edilen bir başka çalışmada ise toplam fenolik bileşik içeriği 15,86 mg GAE/g kuru ağırlık olarak belirtilmiştir (Park ve diğ., 2023). Ultrason destekli ekstraksiyon yapılan durumlarda daha düşük fenolik madde konsantrasyonu elde edilmiştir. Bunun nedeni ultrasonun kısa sürede hücreleri parçalayabilmesi, daha uzun sürelerde uygulanırsa fenolik maddelerin de bundan zarar görebilmesi ihtimali olduğu düşünülebilir (Nag ve Sit, 2018). Ek olarak, ultrason hücre duvarını parçalayarak bileşenlerin serbest kalmasını sağlamaktadır ancak ultrasonun etkisiyle oluşan kavitasyon ve çevresinde artan sıcaklığa bağlı olarak fenolik maddeler zarar görebilmekte ve bu durum da fenolik madde verimi negatif yönde etkilenebilmektedir (Rose, 2014). Bu nedenle ultrason uygulamasının fenolik madde ekstraksiyonu için uygun olmadığı tespit edilmiştir. Tespit edilen farklılıklar hammadde türü, ekstraksiyon süresi, sıcaklık ve enzim konsantrasyonu ile ilgili olabilmektedir.

3.4.3 Toplam flavonoid madde konsantrasyonu

ANOVA testi sonrası Enzim Destekli Ekstraksiyon'un toplam flavonoid madde konsantrasyonu üzerinde istatistiksel olarak algılanabilir bir etkisinin olduğu görülmüştür ($p < 0,05$). Enzim Destekli Ekstraksiyon ile $209,44 \pm 7,98$ mg rutin/g elde

edilirken en yakın sonuç olan Enzim - Ultrason Destekli Ekstraksiyon ile $175,49 \pm 7,02$ mg rutin/g elde edilmiştir. Toplam flavonoid madde konsantrasyonunun sonuçları Çizelge 3.5'de verilmiştir.

Havuç köklerinde bulunan flavonoidlerin antioksidan olarak önemli bir role sahip olduğunu belirtilmiştir. Ayrıca flavonoidler antikarsinojenik aktiviteler göstermekte, inflamatuvar hasarları azaltmakta ve bağışıklığı artırmaktadırlar (Yadav, 2020). Enzimatik ekstraksiyon ile muamele edilmiş dut myvelerinden elde edilen flavonoid madde içerikleri enzim türlerine göre $40,81 - 74,52$ µg rutin /g kuru ağırlık aralığında değişiklik göstermiştir (Kim ve diğ., 2024). Siyah havuçtan pektinaz enzimi ile toplam flavonoid elde edilen bir çalışmada toplam flavonoid madde içeriği %46 oranında ($118 - 172$ mg kateşin/100 mL meyve suyu) artmıştır (Khandare ve diğ., 2011). Havuç posasının flavonoid içeriği $72,26$ mg rutin/100 g kuru madde olarak bulunmuştur (Ziobro ve diğ., 2022). Bu değer deneyde elde edilen değerden farklı olması daha düşük dalga boyunda ölçülmesi, sıcaklık, hammadde türü, konsantrasyon ve ekstraksiyon yöntemi gibi nedenlerden kaynaklı olabilir.

3.4.4 Antioksidan aktivite

Antioksidan aktivite tayini için yapılan DPPH analizlerinde örneklerin % inhibisyon değerlerine bakılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre Enzim Destekli Ekstraksiyon $25,57 \pm 4,15$ % ile en iyi inhibisyonu sağlarken ikinci olarak Enzim - Ultrason Destekli Ekstraksiyon ile $21,12 \pm 4,70$ % inhibisyon sağlanmıştır. Diğer ekstraksiyon yöntemlerinin sonuçları Çizelge 3.5'de verilmiştir. Antioksidan aktivite için kullanılan DPPH yöntemi basit, kolay bir yöntem olması ve az miktarda numune kullanılması nedeniyle seçilmiştir. Ekstraktlarda bulunan antioksidanlar, mor renkli stabil serbest radikal 2, 2-difenil-1-pikrilhidrazilin (DPPH), bir elektron veya hidrojen vererek sarı renkli difenilpikril hidrazine indirgenmesi olarak ifade edilmektedir. Serbest radikallerin bu şekilde azaltılması, çözültide bulunan reaktif oksijen türlerinin nötralizasyonuna izin vererek hücrel hasarı azaltır. Patates, havuç, balkabağı, salatalık, acı kabak ve çin turpu kabuklarının karşılaştırıldığı çalışmada havuç kabuğu ekstraktının DPPH serbest radikallerini ($61,80 \pm 6,14\%$) ve demir iyonları sayısını (Fe^{2+}) engelleme yeteneği açısından en yüksek olduğu bulunmuştur (Wanna, 2019). Enzimatik ekstraksiyon süresi, sıcaklık ve enzim konsantrasyonu antioksidan aktiviteyi etkileyen önemli faktörlerdir; ekstraksiyon süresi ve enzim konsantrasyonu

arttıkça ve sıcaklık azaldıkça genellikle antioksidan aktivite artmaktadır (Mushtaq ve diğ., 2016). Farklı enzim türleri ve enzim konsantrasyonları kullanılarak kırmızı biberden DPPH analizi ile antioksidan aktivite ölçülen deneyde enzim konsantrasyonları arttıkça (% 0,1, % 0,2 ve % 0,3) DPPH içerikleri 23,1 - 83,4 $\mu\text{mol TE}/100 \text{ mL}$ olarak değişkenlik göstermiştir (Nath ve diğ., 2016). Ultrasonik çalkalama inkübasyon yöntemi ile havuç posasından beta karoten elde edilen bir çalışmada DPPH yöntemi ile antioksidan aktivite ölçülmüştür. Deneyden elde edilen sonuçlarda ultrasonik sürenin ekstraktların antioksidan aktivitesi üzerinde önemli bir etkisi olmuştur. Ultrasonik sürenin 0'dan 80 dakikaya çıkarılmasıyla ekstraktların antioksidan aktivitesinde %53,1'lik bir artış olmuştur (DPPH'nin sırasıyla $14,84 \pm 1,14$ ve $22,72 \pm 1,61$ inhibisyonu). 80 dakika ultrasonik ön işlem ile elde edilen ekstraktların ortalama antioksidan aktivitesi 40 dakika ultrasonik ön işlem ile elde edilenden daha yüksek olmasına rağmen bu iki süre arasında antioksidan aktivite açısından anlamlı bir fark bulunmamıştır. Ekstraktların antioksidan aktivitesinin 0 ila 80 dakikalık ultrasonik sürede artması, ekstraktlardaki güçlü bir antioksidan olan β -karoten içeriğinin artmasına bağlanabilir (Mirheli ve Taghian, 2018).

3.4.5 Antimikrobiyal aktivite

Mikroplaka kullanılarak spektrofotometrik yöntemle antimikrobiyal aktivite belirlemek için yapılan analizlerde elde edilen MİK ve MBK değerleri Çizelge 3.6'da verilmiştir.

Çizelge 3.6 : Havuç posasına farklı ekstraksiyon işlemleri uygulanması sonrası MİK ve MBK (mg/mL) sonuçları.

Ekstraksiyon Yöntemi	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922		<i>Salmonella Typhimurium</i> ATCC 14028	
	MİK	MBK	MİK	MBK
Geleneksel Ekstraksiyon	32	64	64	64
Enzim Destekli Ekstraksiyon	8	8	16	16
Ultrason Destekli Ekstraksiyon	16	32	32	64
Enzim - Ultrason Destekli Ekstraksiyon	32	32	32	32
Ultrason - Enzim Destekli Ekstraksiyon	16	16	32	64

Sonuçlar incelendiğinde genel olarak ekstraktların *Salmonella* Typhimurium için MİK ve MBK değerleri 16 ve 64 mg/mL arasında değişirken, *Escherichia coli* için MİK değerleri 8 ve 32 mg/mL arasında, MBK değerleri ise 8 ve 64 mg/mL arasında değişmektedir. Sonuçları ekstraksiyon yöntemlerine göre değerlendirdiğimizde hem *E. coli* hem de *Salmonella* Typhimurium için en etkili yöntemin enzim destekli ekstraksiyon yöntemi olduğu söylenebilir. Bu durumun nedenini elde ettiğimiz deneylerin sonuçlarına bakarak enzim destekli ekstraksiyon işleminde antimikrobiyal etkinlik gösteren fenolik bileşiklerin ve karotenoidlerin salınımının daha fazla olması olarak açıklayabiliriz. Literatüre bakıldığında, taze havuç posası üzerinde uygulanan MİK ve MBK analizlerinde *E. coli* için bu değerler sırası ile 500 ve 1000 mg/mL olarak bulunurken *Salmonella* Typhimurium için bir antimikrobiyal aktivite gözlenmemiştir (Vodnar ve diğ., 2017). Bu araştırmanın sonuçları ile çalışmamızdaki sonuçlar karşılaştırıldığında *Salmonella* Typhimurium suşunun inhibisyonu için gerekli olan konsantrasyonun *E. coli* suşunun inhibisyonu için gerekli olan konsantrasyondan daha fazla olması gerektiği konusunda uyumludur. Havuç posası üzerinde yapılan bir başka çalışmada MİK analizi uygulanan *E.coli* suşlarının hiçbirinde etkinlik gözlenmediği belirtilmiştir. Aynı çalışmada *Staphylococcus aureus* suşlarının üzerinde 10-20 µg/mL arasında değişen bir MİK aktivitesi göstermesinin nedeni ise fenolik bileşiklerin gram negatif bakterilere kıyasla gram pozitif bakterilere karşı daha iyi aktiviteye sahip olmasından kaynaklanıyor olabileceği düşünülmektedir (Cheaib ve diğ., 2019). 2018 yılında siyah havucun aseton ve etanol ekstraktları üzerinde *S. aureus*, *B. cereus*, *E. coli* ve *Pseudomonas*'a karşı antimikrobiyal aktivite analizleri yapılmıştır. Her iki ekstrakt da *S. aureus* ve *B. cereus*'a karşı etkili olmuş ancak *E. coli* ve *Pseudomonas*'a karşı herhangi bir aktivite gözlenmemiştir (Saleem ve diğ., 2018). Sonuçlara genel olarak bakıldığında bakteri suşunun türü ve konsantrasyonu, uygulanan ekstraksiyon yöntemi, kullanılan hammaddenin türü, sıcaklık, solvent türü ve konsantrasyonu gibi nedenlerden dolayı sonuçlar farklılık gösterebilmektedir.

4. SONUÇ VE ÖNERİLER

Son zamanlarda gıda atığının ve israfının çoğalması gittikçe küresel bir sorun haline gelmektedir. Havuç hem ülkemizde hem de dünya genelinde üretimi ve kullanımı fazla olan bir sebzedir. Özellikle endüstriyel olarak havuç suyu üretiminden sonra elde edilen havuç posalarının tekrar kullanılabilirliği tartışılan konulardan biridir. Havuç posalarında hala yüksek oranda fenolik madde ve beta karoten gibi karotenoidlerin bulunması onları bizim için değerli bir atık haline getirmektedir. Bu değerli bileşenlerin tekrar kullanılabilir bir şekilde havuç posalarından ekstrakte edilmesi için bir çok çalışma mevcuttur. Ancak literatüre de bakıldığında bu bileşenlerin tamamının ekstrakte edilmesi için farklı çevre dostu metotların kombinasyonlarının birlikte kullanıldığı çalışma bulunmamaktadır.

Özetlemek gerekirse, ekstraksiyon için enzim kullanımının analizi yapılan her bileşenin eldesinde önemli rol oynadığı gözlemlenmiştir. Yapılan optimizasyon çalışmasında 1:40 katı sıvı oranı, etanol kullanımı ve 120 dakika enzimatik ekstraksiyon süresi ile 300 µL Pectinex® XXL kullanımı enzimatik destekli ekstraksiyon için optimum koşullar olarak bulunmuştur. Ayrıca elde edilen ekstraktların antioksidan özellik göstermelerine ek olarak *Salmonella Typhimurium* ve *Escherichia coli* suşlarına karşı antimikrobiyal etkisinin de olduğu bulunmuştur.

Laboratuvar ölçeğinde testleri yapılmış olan bu sistemin endüstride kullanılan boyutlarda üretilip uygulanabilirliğinin test edilmesi gerekmektedir. Ancak geri kazanılması istenen bileşenlerin hassasiyeti büyük ölçekte bu uygulamayı zorlaştırabilir ve ek bir maliyet yaratabilir. Bu çalışmada elde edilen bulgulara dayanarak daha yüksek verim veya kalite özellikleri daha gelişmiş bileşenler elde etmek için çalışmalar yürütülebilir. Ek olarak çalışmanın devamında HPLC metodu ile karotenler incelenecektir.

Son olarak, gıda endüstrisi başta olmak üzere sağlık ve kozmetik endüstrilerinde de bu bileşenleri kullanmak mümkündür. Böylece bu tür gıda atıklarının değerlendirilmesi, yalnızca atıkların endüstriler ve ekosistem üzerindeki yükünü azaltmakla kalmamakta,

aynı zamanda yüksek katma değerli ürünlerin üretilmesini sağlayarak endüstrinin kârlılığını da olumlu yönde etkilemektedir.



KAYNAKLAR

- Adadi, P., Barakova, N. V., & Krivoshapkina, 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>
- Al Fahad, Md. A., Ahamed, R., Ahmed, T., Jahan, N., Mia, R., Toki, G. F. I., Mahmud, S. T., & Niloy, K. K.** (2024). Pharmaceutical applications of natural dyes and pigments. In *Renewable Dyes and Pigments* (pp. 165–175). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-443-15213-9.00011-9>
- Alara, O. R., Abdurahman, N. H., & Ukaegbu, C. I.** (2021). Extraction of phenolic compounds: A review. *Current Research in Food Science*, 4, 200–214. <https://doi.org/10.1016/j.crfs.2021.03.011>
- Albuquerque, B. R., Heleno, S. A., Oliveira, M. B. P. P., Barros, L., & Ferreira, I. C. F. R.** (2021). Phenolic compounds: current industrial applications, limitations and future challenges. *Food & Function*, 12(1), 14–29. <https://doi.org/10.1039/D0FO02324H>
- Alexandre, E. M. C., Silva, S., Santos, S. A. O., Silvestre, A. J. D., Duarte, M. F., Saraiva, J. A., & Pintado, M.** (2019). Antimicrobial activity of pomegranate peel extracts performed by high pressure and enzymatic assisted extraction. *Food Research International*, 115, 167–176. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.08.044>
- Al-Snafi, A. E.** (2017). Nutritional and therapeutic importance of *Daucus carota*-A review. *IOSR Journal of pharmacy*, 7(2), 72-88.
- 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. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2013.12.011>
- Anonim** 2022. TÜİK, Bitkisel Üretim İstatistikleri Türkiye İstatistik Kurumu. Erişim: 08 Mart 2023, <https://biruni.tuik.gov.tr/medas/?kn=92&locale=tr>.
- Ashokkumar, M.** (2015). Applications of ultrasound in food and bioprocessing. *Ultrasonics Sonochemistry*, 25, 17–23. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2014.08.012>
- Basegmez, H. I. O., Povilaitis, D., Kitrytė, V., Kraujalienė, V., Šulniūtė, V., Alasalvar, C., & Venskutonis, P. R.** (2017). Biorefining of blackcurrant pomace into high value functional ingredients using supercritical CO₂, pressurized liquid and enzyme assisted extractions. *The Journal of Supercritical Fluids*, 124, 10–19. <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2017.01.003>

- Behbahani, B. A., Noshad, M., & Falah, F.** (2019). Study of chemical structure, antimicrobial, cytotoxic and mechanism of action of *Syzygium aromaticum* essential oil on foodborne pathogens. *Potravinárstvo Slovak Journal of Food Sciences*, 13(1), 875–883. <https://doi.org/10.5219/1226>
- Beyer, P., Al-Babili, S., & Ye, X.D.** (2002). Golden rice: introducing the beta-carotene biosynthesis pathway into rice endosperm by genetic engineering to defeat vitamin A deficiency. *Journal of Nutrition*, 132(3), 506–510.
- Bilal, M., & Iqbal, H. M. N.** (2019). Sustainable bioconversion of food waste into high-value products by immobilized enzymes to meet bio-economy challenges and opportunities – A review. *Food Research International*, 123, 226–240. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.04.066>
- Blainski, A., Lopes, G. C., & De Mello, J. C. P.** (2013). Application and analysis of the folin ciocalteu method for the determination of the total phenolic content from *limonium brasiliense* L. *Molecules*, 18(6), 6852–6865. <https://doi.org/10.3390/molecules18066852>
- Bogacz-Radomska, L., & Harasym, J.** (2018). β -Carotene—properties and production methods. *Food Quality and Safety*, 2(2), 69–74. <https://doi.org/10.1093/fqsafe/fyy004>
- Buzby, J. C., & Hyman, J.** (2012). Total and per capita value of food loss in the United States. *Food Policy*, 37(5), 561–570. <https://doi.org/10.1016/j.foodpol.2012.06.002>
- Büyüktuncel, E.** (2013). Main spectrophotometric methods for the determination of total phenolic content and antioxidant capacity. *Marmara Pharmaceutical Journal*, 17(2), 93–103. <https://doi.org/10.12991/201317377>
- Calvo, M. M., Dado, D., & Santa-María, G.** (2007). Influence of extraction with ethanol or ethyl acetate on the yield of lycopene, β -carotene, phytoene and phytofluene from tomato peel powder. *European Food Research and Technology*, 224(5), 567–571. <https://doi.org/10.1007/s00217-006-0335-8>
- Carreira-Casais, A., Otero, P., Garcia-Perez, P., Garcia-Oliveira, P., Pereira, A. G., Carpena, M., Soria-Lopez, A., Simal-Gandara, J., & Prieto, M. A.** (2021). Benefits and Drawbacks of Ultrasound-Assisted Extraction for the Recovery of Bioactive Compounds from Marine Algae. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 18(17), 9153. <https://doi.org/10.3390/ijerph18179153>
- Carrera, C., Ruiz-Rodríguez, A., Palma, M., & Barroso, C. G.** (2012). Ultrasound assisted extraction of phenolic compounds from grapes. *Analytica Chimica Acta*, 732, 100–104. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2011.11.032>
- Casazza, A. A., Aliakbarian, B., Mantegna, S., Cravotto, G., & Perego, P.** (2010). Extraction of phenolics from *Vitis vinifera* wastes using non-conventional techniques. *Journal of Food Engineering*, 100(1), 50–55. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2010.03.026>

- Chandini, S. K., Rao, L. J., Gowthaman, M. K., Haware, D. J., & Subramanian, R.** (2011). Enzymatic treatment to improve the quality of black tea extracts. *Food Chemistry*, 127(3), 1039–1045. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.01.078>
- Chandrasekaran, M.** (2013). Need for valorization of food processing by-products and wastes (pp. 91-106). CRC Press: Boca Raton.
- Chantaro, P., Devahastin, S., & Chiewchan, N.** (2008). Production of antioxidant high dietary fiber powder from carrot peels. *LWT - Food Science and Technology*, 41(10), 1987–1994. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2007.11.013>
- Cheaib, D., Raafat, K., & el Darra, N.** (2019). Evaluation of Phenolic Content, Antiradical and Antibacterial Activities of Orange and Carrot Pomace Extracts. *BAU Journal - Health and Wellbeing*, 1(2). <https://doi.org/10.54729/2789-8288.1000>
- 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 & Emerging Technologies*, 41, 357–377. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2017.04.016>
- Cherubini, F., Bargigli, S., & Ulgiati, S.** (2009). Life cycle assessment (LCA) of waste management strategies: Landfilling, sorting plant and incineration. *Energy*, 34(12), 2116–2123. <https://doi.org/10.1016/j.energy.2008.08.023>
- Cory, H., Passarelli, S., Szeto, J., Tamez, M., & Mattei, J.** (2018). The Role of Polyphenols in Human Health and Food Systems: A Mini-Review. *Frontiers in Nutrition*, 5. <https://doi.org/10.3389/fnut.2018.00087>
- da Fonseca Antunes, B., Henrique de Lima Costa, I., Gomes da Silva, K., Oliveira, R. M., Santana, L. R., Fonseca, L. M., Villarreal Carreno, N. L., Guerra Dias, A. R., & da Rosa Zavareze, E.** (2024). Chemical composition, bioactive compounds, biological activity, and applications of *Butia* spp.: A review. *Trends in Food Science & Technology*, 104510. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2024.104510>
- Das, S., & Bera, D.** (2013). Mathematical model study on solvent extraction of carotene from carrot. *International Journal of Research in Engineering and Technology*, 2(9), 343-349.
- Das, S., Nadar, S. S., & Rathod, V. K.** (2021). Integrated strategies for enzyme assisted extraction of bioactive molecules: A review. *International Journal of Biological Macromolecules*, 191, 899–917. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.09.060>
- Dasgupta, A., & Klein, K.** (2014). Antioxidants in food, vitamins and supplements: prevention and treatment of disease. Academic Press.
- Davarnejad, R., Kassim, K. M., Zainal, A., & Sata, S. A.** (2008). Supercritical fluid extraction of β -carotene from crude palm oil using CO₂. *Journal of Food Engineering*, 89(4), 472–478. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2008.05.032>

- de Camargo, A. C., Regitano-d'Arce, M. A. B., Biasoto, A. C. T., & Shahidi, F.** (2016). Enzyme-assisted extraction of phenolics from winemaking by-products: Antioxidant potential and inhibition of alpha-glucosidase and lipase activities. *Food Chemistry*, 212, 395–402. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.05.047>
- Despoudi, S., Bucatariu, C., Otles, S., Kartal, C., Otles, S., Despoudi, S., Bucatariu, C., & Kartal, C.** (2021). Food waste management, valorization, and sustainability in the food industry. In *Food Waste Recovery* (pp. 3–19). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-820563-1.00008-1>
- El-ghfar, M. H. A. A., Ibrahim, H. M., Hassan, I. M., Abdel Fattah, A. A., & Mahmoud, M. H.** (2016). Peels of Lemon and Orange as Value-Added Ingredients: Chemical and Antioxidant Properties. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 5(12), 777–794. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2016.512.089>
- EPA.** (2023). *Sustainable Management of Food, Wasted Food Scale 2023*. Erişim: 28 Nisan 2024, <https://www.epa.gov/sustainable-management-food/wasted-food-scale>
- Esclapez, M. D., García-Pérez, J. v., Mulet, A., & Cárcel, J. A.** (2011). Ultrasound-Assisted Extraction of Natural Products. *Food Engineering Reviews*, 3(2), 108–120. <https://doi.org/10.1007/s12393-011-9036-6>
- Evlice, E., Erdoğan, F. D., & Yatkın, G.** (2020). Bazı havuç çeşitlerinin kök-ur nematodu türlerine (*Meloidogyne* spp. Goeldi, 1982) karşı reaksiyonu. *Bitki Koruma Bülteni*, 60(1), 25–30. <https://doi.org/10.16955/bitkorb.599172>
- FAO.** (2023). *The State of Food Security and Nutrition in the World 2023*. Erişim: 04 Şubat 2024, <https://www.fao.org/documents/card/en/c/cc3017en>
- Ferarsa, S., Zhang, W., Moulai-Mostefa, N., Ding, L., Jaffrin, M. Y., & Grimi, N.** (2018). Recovery of anthocyanins and other phenolic compounds from purple eggplant peels and pulps using ultrasonic-assisted extraction. *Food and Bioprocess Processing*, 109, 19–28. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2018.02.006>
- Forni, C., Facchiano, F., Bartoli, M., Pieretti, S., Facchiano, A., D'Arcangelo, D., Norelli, S., Valle, G., Nisini, R., Beninati, S., Tabolacci, C., & Jadeja, R. N.** (2019). Beneficial Role of Phytochemicals on Oxidative Stress and Age-Related Diseases. *BioMed Research International*, 2019, 1–16. <https://doi.org/10.1155/2019/8748253>
- Garnett, T.** (2014). Three perspectives on sustainable food security: efficiency, demand restraint, food system transformation. What role for life cycle assessment? *Journal of Cleaner Production*, 73, 10–18. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2013.07.045>
- Giroto, F., Alibardi, L., & Cossu, R.** (2015). Food waste generation and industrial uses: A review. *Waste Management*, 45, 32–41. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2015.06.008>

- Gjerris, M., & Gaiani, S.** (2013). Household food waste in Nordic countries: Estimations and ethical implications. *Etikk i Praksis - Nordic Journal of Applied Ethics*, 1, 6–23. <https://doi.org/10.5324/eip.v7i1.1786>
- Godfray, H. C. J., Beddington, J. R., Crute, I. R., Haddad, L., Lawrence, D., Muir, J. F., Pretty, J., Robinson, S., Thomas, S. M., & Toulmin, C.** (2010). Food Security: The Challenge of Feeding 9 Billion People. *Science*, 327(5967), 812–818. <https://doi.org/10.1126/science.1185383>
- Goossens, Y., Wegner, A., & Schmidt, T.** (2019). Sustainability Assessment of Food Waste Prevention Measures: Review of Existing Evaluation Practices. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 3. <https://doi.org/10.3389/fsufs.2019.00090>
- Grassino, A. N., Brnčić, M., Vikić-Topić, D., Roca, S., Dent, M., & Brnčić, S. R.** (2016). Ultrasound assisted extraction and characterization of pectin from tomato waste. *Food Chemistry*, 198, 93–100. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.11.095>
- Guandalini, B. B. V., Rodrigues, N. P., & Marczak, L. D. F.** (2019). Sequential extraction of phenolics and pectin from mango peel assisted by ultrasound. *Food Research International*, 119, 455–461. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.12.011>
- Gustavvson, J., Cederberg, C., Sonesson, U., van Otterdijk, R., and Meybeck, A.** (2011). Global Food Losses and Food Waste: Extent, Causes and Prevention. Rome: FAO.
- Jafari, F., Khodaiyan, F., Kiani, H., & Hosseini, S. S.** (2017). Pectin from carrot pomace: Optimization of extraction and physicochemical properties. *Carbohydrate Polymers*, 157, 1315–1322. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.11.013>
- Jeong, H.-S., Kim, H.-Y., Ahn, S. H., Oh, S. C., Yang, I., & Choi, I.-G.** (2014). Optimization of enzymatic hydrolysis conditions for extraction of pectin from rapeseed cake (*Brassica napus* L.) using commercial enzymes. *Food Chemistry*, 157, 332–338. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.02.040>
- John, S., S., P., Monica, S. J., C., S., & P., A.** (2018). In Vitro Evaluation of Antioxidant and Antimicrobial Activity of Carrot Peel. *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*, 9(07). <https://doi.org/10.25258/phyto.v9i07.11165>
- Kamiloglu, S., Capanoglu, E., Bilen, F. D., Gonzales, G. B., Grootaert, C., van de Wiele, T., & van Camp, J.** (2016). Bioaccessibility of Polyphenols from Plant-Processing Byproducts of Black Carrot (*Daucus carota* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 64(12), 2450–2458. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.5b02640>
- Kaur, P., Subramanian, J., & Singh, A.** (2022). Green extraction of bioactive components from carrot industry waste and evaluation of spent residue as an energy source. *Scientific Reports*, 12(1), 16607. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-20971-5>

- Khandare, V., Walia, S., Singh, M., & Kaur, C.** (2011). Black carrot (*Daucus carota* ssp. *sativus*) juice: Processing effects on antioxidant composition and color. *Food and Bioproducts Processing*, 89(4), 482–486. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2010.07.007>
- Khoddami, A., Wilkes, M., & Roberts, T.** (2013). Techniques for Analysis of Plant Phenolic Compounds. *Molecules*, 18(2), 2328–2375. <https://doi.org/10.3390/molecules18022328>
- Kim, M.-H., & Kim, J.-W.** (2010). Comparison through a LCA evaluation analysis of food waste disposal options from the perspective of global warming and resource recovery. *Science of The Total Environment*, 408(19), 3998–4006. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2010.04.049>
- Kim, S.-M., & Lim, S.-T.** (2016). Enhanced antioxidant activity of rice bran extract by carbohydrase treatment. *Journal of Cereal Science*, 68, 116–121. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2016.01.006>
- Kim, T.-E., Jo, Y.-H., & Kim, C.-T.** (2024). Improvement of Quality Characteristics of Mulberry (*Morus alba* L.) Fruit Extract Using High-Pressure Enzymatic Treatment. *Food and Bioprocess Technology*. <https://doi.org/10.1007/s11947-024-03381-5>
- Kumar, K., Srivastav, S., & Sharanagat, V. S.** (2021). Ultrasound assisted extraction (UAE) of bioactive compounds from fruit and vegetable processing by-products: A review. *Ultrasonics Sonochemistry*, 70, 105325. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2020.105325>
- Kumar, M., & Dahuja, A.** (2019). Cellulase enhances anthocyanin and phenolic content in black carrot juice. *Indian Journal of Horticulture*, 76(4), 749. <https://doi.org/10.5958/0974-0112.2019.00119.1>
- Kumcuoglu, S., Yilmaz, T., & Tavman, S.** (2014). Ultrasound assisted extraction of lycopene from tomato processing wastes. *Journal of Food Science and Technology*, 51(12), 4102–4107. <https://doi.org/10.1007/s13197-013-0926-x>
- Lavecchia, R., & Zuorro, A.** (2008). Improved lycopene extraction from tomato peels using cell-wall degrading enzymes. *European Food Research and Technology*, 228(1), 153–158. <https://doi.org/10.1007/s00217-008-0897-8>
- Lebersorger, S., & Schneider, F.** (2011). Discussion on the methodology for determining food waste in household waste composition studies. *Waste Management*, 31(9–10), 1924–1933. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2011.05.023>
- Lee, S.-H., Choi, K.-I., Osako, M., & Dong, J.-I.** (2007). Evaluation of environmental burdens caused by changes of food waste management systems in Seoul, Korea. *Science of The Total Environment*, 387(1–3), 42–53. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2007.06.037>

- Leja, M., Kamińska, I., Kramer, M., Maksylewicz-Kaul, A., Kammerer, D., Carle, R., & Baranski, R.** (2013). The Content of Phenolic Compounds and Radical Scavenging Activity Varies with Carrot Origin and Root Color. *Plant Foods for Human Nutrition*, 68(2), 163–170. <https://doi.org/10.1007/s11130-013-0351-3>
- Li, B. B., Smith, B., & Hossain, Md. M.** (2006). Extraction of phenolics from citrus peels. *Separation and Purification Technology*, 48(2), 189–196. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2005.07.019>
- Li, Y., Fabiano-Tixier, A. S., Tomao, V., Cravotto, G., & Chemat, F.** (2013). Green ultrasound-assisted extraction of carotenoids based on the bio-refinery concept using sunflower oil as an alternative solvent. *Ultrasonics Sonochemistry*, 20(1), 12–18. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2012.07.005>
- Liew, S. Q., Chin, N. L., Yusof, Y. A., & Sowndhararajan, K.** (2016). Comparison of Acidic and Enzymatic Pectin Extraction from Passion Fruit Peels and Its Gel Properties. *Journal of Food Process Engineering*, 39(5), 501–511. <https://doi.org/10.1111/jfpe.12243>
- Lin, C. S. K., Pfaltzgraff, L. A., Herrero-Davila, L., Mubofu, E. B., Abderrahim, S., Clark, J. H., Koutinas, A. A., Kopsahelis, N., Stamatelatou, K., Dickson, F., Thankappan, S., Mohamed, Z., Brocklesby, R., & Luque, R.** (2013). Food waste as a valuable resource for the production of chemicals, materials and fuels. Current situation and global perspective. *Energy & Environmental Science*, 6(2), 426. <https://doi.org/10.1039/c2ee23440h>
- Linares, G., & Rojas, M. L.** (2022). Ultrasound-Assisted Extraction of Natural Pigments From Food Processing By-Products: A Review. *Frontiers in Nutrition*, 9. <https://doi.org/10.3389/fnut.2022.891462>
- Lucini, L., Pellizzoni, M., Baffi, C., & Molinari, G. pietro.** (2012). Rapid determination of lycopene and β -carotene in tomato by liquid chromatography/electrospray tandem mass spectrometry. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 92(6), 1297–1303. <https://doi.org/10.1002/jsfa.4698>
- Marathe, S. J., Jadhav, S. B., Bankar, S. B., & Singhal, R. S.** (2017). Enzyme-assisted extraction of bioactives. Food bioactives: *Extraction and biotechnology applications*, 171–201.
- Mezzomo, N., & Ferreira, S. R. S.** (2016). Carotenoids Functionality, Sources, and Processing by Supercritical Technology: A Review. *Journal of Chemistry*, 2016, 1–16. <https://doi.org/10.1155/2016/3164312>
- Miękus, N., Iqbal, A., Marszałek, K., Puchalski, C., & Świergiel, A.** (2019). Green Chemistry Extractions of Carotenoids from *Daucus carota* L.—Supercritical Carbon Dioxide and Enzyme-Assisted Methods. *Molecules*, 24(23), 4339. <https://doi.org/10.3390/molecules24234339>
- Mirabella, N., Castellani, V., & Sala, S.** (2014). Current options for the valorization of food manufacturing waste: a review. *Journal of Cleaner Production*, 65, 28–41. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2013.10.051>

- Mirheli, M., & Taghian Dinani, S.** (2018). Extraction of β -carotene pigment from carrot processing waste using ultrasonic-shaking incubation method. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 12(3), 1818–1828. <https://doi.org/10.1007/s11694-018-9796-2>
- Murugan, K., Chandrasekaran, S. V., Karthikeyan, P., & Al-Sohaibani, S.** (2013). Current state of the art of food processing by products. *Valorization of Food Processing By-products*, 35.
- Mushtaq, M., Sultana, B., Akram, S., Adnan, A., Apenten, R. K., & Nigam, P. S.-N.** (2016). Enzyme-assisted Extraction of Polyphenols from Pomegranate (*Punicagranatum*) Peel. Research & Reviews: *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 5(2), 27–34. <https://doi.org/10.2/JQUERY.MIN.JS>
- Müller-Maatsch, J., Bencivenni, M., Caligiani, A., Tedeschi, T., Bruggeman, G., Bosch, M., Petrusan, J., van Droogenbroeck, B., Elst, K., & Sforza, S.** (2016). Pectin content and composition from different food waste streams. *Food Chemistry*, 201, 37–45. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.01.012>
- Nag, S., & Sit, N.** (2018). Optimization of ultrasound assisted enzymatic extraction of polyphenols from pomegranate peels based on phytochemical content and antioxidant property. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 12(3), 1734–1743. <https://doi.org/10.1007/s11694-018-9788-2>
- Nath, P., Kaur, C., Rudra, S. G., & Varghese, E.** (2016). Enzyme-Assisted Extraction of Carotenoid-Rich Extract from Red Capsicum (*Capsicum annum*). *Agricultural Research*, 5(2), 193–204. <https://doi.org/10.1007/s40003-015-0201-7>
- Ong, K. L., Kaur, G., Pensupa, N., Uisan, K., & Lin, C. S. K.** (2018). Trends in food waste valorization for the production of chemicals, materials and fuels: Case study South and Southeast Asia. *Bioresource Technology*, 248, 100–112. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.06.076>
- Papargyropoulou, E., Lozano, R., K. Steinberger, J., Wright, N., & Ujang, Z. bin.** (2014). The food waste hierarchy as a framework for the management of food surplus and food waste. *Journal of Cleaner Production*, 76, 106–115. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2014.04.020>
- Parfitt, J., Barthel, M., & Macnaughton, S.** (2010). Food waste within food supply chains: quantification and potential for change to 2050. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 365(1554), 3065–3081. <https://doi.org/10.1098/rstb.2010.0126>
- Park, H. Y., Hong, J. woo, KIM, J. H., Kim, Y. H., & Kim, J. W.** (2023). Optimization of ultrasound-assisted extraction conditions for extraction of bioactive compounds from purple carrot (*Daucus carota* L.) using response surface methodology. *Food Science and Technology*, 43. <https://doi.org/10.1590/fst.000523>

- Potì, F., Santi, D., Spaggiari, G., Zimetti, F., & Zanotti, I. (2019). Polyphenol Health Effects on Cardiovascular and Neurodegenerative Disorders: A Review and Meta-Analysis. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(2), 351. <https://doi.org/10.3390/ijms20020351>
- Puri, M., Sharma, D., & Barrow, C. J. (2012). Enzyme-assisted extraction of bioactives from plants. *Trends in Biotechnology*, 30(1), 37–44. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2011.06.014>
- Ranveer, R. C., Patil, S. N., & Sahoo, A. K. (2013). Effect of different parameters on enzyme-assisted extraction of lycopene from tomato processing waste. *Food and Bioproducts Processing*, 91(4), 370–375. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2013.01.006>
- Renouard, S., Hano, C., Corbin, C., Fliniaux, O., Lopez, T., Montguillon, J., Barakzoy, E., Mesnard, F., Lamblin, F., & Lainé, E. (2010). Cellulase-assisted release of secoisolariciresinol from extracts of flax (*Linum usitatissimum*) hulls and whole seeds. *Food Chemistry*, 122(3), 679–687. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.03.036>
- Ribeiro, B. D., Barreto, D. W., & Coelho, M. A. Z. (2011). Technological Aspects of β -Carotene Production. *Food and Bioprocess Technology*, 4(5), 693–701. <https://doi.org/10.1007/s11947-011-0545-3>
- Ricarte, G. N., Coelho, M. A. Z., Marrucho, I. M., & Ribeiro, B. D. (2020). Enzyme-assisted extraction of carotenoids and phenolic compounds from sunflower wastes using green solvents. *3 Biotech*, 10(9), 405. <https://doi.org/10.1007/s13205-020-02393-0>
- Roldán-Gutiérrez, J. M., & Dolores Luque de Castro, M. (2007). Lycopene: The need for better methods for characterization and determination. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 26(2), 163–170. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2006.11.013>
- Rosa, R., Hajko, L., Franczuk, J., Zaniewicz-Bajkowska, A., Andrejiová, A., & Mezeyová, I. (2023). Effect of L-Tryptophan and L-Glutamic Acid on Carrot Yield and Its Quality. *Agronomy*, 13(2), 562. <https://doi.org/10.3390/agronomy13020562>
- Rose, J. (2014). *Ultrasonic Guided Waves in Solid Media*. Cambridge University Press.
- Sachindra, N. M., & Mahendrakar, N. S. (2005). Process optimization for extraction of carotenoids from shrimp waste with vegetable oils. *Bioresource Technology*, 96(10), 1195–1200. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2004.09.018>
- Saifullah, M., McCullum, R., McCluskey, A., & Vuong, Q. (2020). Comparison of conventional extraction technique with ultrasound assisted extraction on recovery of phenolic compounds from lemon scented tea tree (*Leptospermum petersonii*) leaves. *Heliyon*, 6(4), e03666. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e03666>
- Saini, R. K., & Keum, Y.-S. (2018). Carotenoid extraction methods: A review of recent developments. *Food Chemistry*, 240, 90–103. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.07.099>

- Saleem, M. Q., Akhtar, S., Imran, M., Riaz, M., Rauf, A., Mubarak, M. S., ... & Hassanien, M. F.** (2018). Antibacterial and anticancer characteristics of black carrot (*Daucus Carota*) extracts. *J. Med. Spice Plants*, 22, 40–44.
- Santana-Méridas, O., González-Coloma, A., & Sánchez-Vioque, R.** (2012). Agricultural residues as a source of bioactive natural products. *Phytochemistry Reviews*, 11(4), 447–466. <https://doi.org/10.1007/s11101-012-9266-0>
- Schneider, F.** (2013). Review of food waste prevention on an international level. *Proceedings of the Institution of Civil Engineers - Waste and Resource Management*, 166(4), 187–203. <https://doi.org/10.1680/warm.13.00016>
- Šeregelj, V., Vulić, J., Četković, G., Čanadanović-Brunet, J., Tumbas Šaponjac, V., & Stajčić, S.** (2020). Natural bioactive compounds in carrot waste for food applications and health benefits (pp. 307–344). <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819483-6.00009-6>
- Sharma, A., & Sogi, D. S.** (2022). Optimization of enzyme aided pigment extraction from pumpkin (*Cucurbita maxima* Duch) using response surface methodology. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 16(2), 1184–1194. <https://doi.org/10.1007/s11694-021-01246-5>
- Sharma, K. D., Karki, S., Thakur, N. S., & Attri, S.** (2012). Chemical composition, functional properties and processing of carrot—a review. *Journal of Food Science and Technology*, 49(1), 22–32. <https://doi.org/10.1007/s13197-011-0310-7>
- Sharma, P., Gaur, V. K., Kim, S.-H., & Pandey, A.** (2020). Microbial strategies for bio-transforming food waste into resources. *Bioresource Technology*, 299, 122580. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.122580>
- Sharma, P., Gaur, V. K., Sirohi, R., Varjani, S., Hyoun Kim, S., & Wong, J. W. C.** (2021). Sustainable processing of food waste for production of bio-based products for circular bioeconomy. *Bioresource Technology*, 325, 124684. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2021.124684>
- Sheldon, R. A., & van Pelt, S.** (2013). Enzyme immobilisation in biocatalysis: why, what and how. *Chem. Soc. Rev.*, 42(15), 6223–6235. <https://doi.org/10.1039/C3CS60075K>
- Sindhu, R., Binod, P., Nair, R. B., Varjani, S., Pandey, A., & Gnansounou, E.** (2020). Waste to wealth. In *Current Developments in Biotechnology and Bioengineering* (pp. 181–197). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-64321-6.00009-4>
- Soto-Vaca, A., Gutierrez, A., Losso, J. N., Xu, Z., & Finley, J. W.** (2012). Evolution of Phenolic Compounds from Color and Flavor Problems to Health Benefits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(27), 6658–6677. <https://doi.org/10.1021/jf300861c>
- Stalikas, C. D.** (2007). Extraction, separation, and detection methods for phenolic acids and flavonoids. *Journal of Separation Science*, 30(18), 3268–3295. <https://doi.org/10.1002/jssc.200700261>

- Strati, I. F., Gogou, E., & Oreopoulou, V.** (2015). Enzyme and high pressure assisted extraction of carotenoids from tomato waste. *Food and Bioprocess Technology*, 94, 668–674. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2014.09.012>
- Szterk, A., Sosinska, E., Obiedzinski, M. W., & Lewicki, P. P.** (2008). Metoda otrzymywania preparatu naturalnego alfa-i beta-karotenu z marchwi. *Żywność Nauka Technologia Jakość*, 15(4), 269-274.
- Thyberg, K. L., & Tonjes, D. J.** (2016). Drivers of food waste and their implications for sustainable policy development. *Resources, Conservation and Recycling*, 106, 110–123. <https://doi.org/10.1016/j.resconrec.2015.11.016>
- Trigo, J. P., Alexandre, E. M. C., Saraiva, J. A., & Pintado, M. E.** (2019). High value-added compounds from fruit and vegetable by-products – Characterization, bioactivities, and application in the development of novel food products. 60(8), 1388–1416. <https://doi.org/10.1080/10408398.2019.1572588>
- Umair, M., Jabbar, S., Nasiru, M. M., Lu, Z., Zhang, J., Abid, M., Murtaza, M. A., Kieliszek, M., & Zhao, L.** (2021). Ultrasound-Assisted Extraction of Carotenoids from Carrot Pomace and Their Optimization through Response Surface Methodology. *Molecules*, 26(22), 6763. <https://doi.org/10.3390/molecules26226763>
- UNEP.** (2021). *UNEP Food Waste Index Report 2021*. Erişim: 04 Şubat 2024, <https://www.unep.org/resources/report/unep-food-waste-index-report-2021>
- Vandermeersch, T., Alvarenga, R. A. F., Ragaert, P., & Dewulf, J.** (2014). Environmental sustainability assessment of food waste valorization options. *Resources, Conservation and Recycling*, 87, 57–64. <https://doi.org/10.1016/j.resconrec.2014.03.008>
- Vauzour, D., Rodriguez-Mateos, A., Corona, G., Oruna-Concha, M. J., & Spencer, J. P. E.** (2010). Polyphenols and Human Health: Prevention of Disease and Mechanisms of Action. *Nutrients*, 2(11), 1106–1131. <https://doi.org/10.3390/nu2111106>
- Viera, V. B., Piovesan, N., Rodrigues, J. B., Mello, R. de O., Prestes, R. C., dos Santos, R. C. V., Vaucher, R. de A., Hautrive, T. P., & Kubota, E. H.** (2017). Extraction of phenolic compounds and evaluation of the antioxidant and antimicrobial capacity of red onion skin (*Allium cepa* L.). *International Food Research Journal*, 24(3), 990–999.
- Vilas-Boas, A. A., Pintado, M., & Oliveira, A. L. S.** (2021). Natural Bioactive Compounds from Food Waste: *Toxicity and Safety Concerns*. *Foods*, 10(7), 1564. <https://doi.org/10.3390/foods10071564>
- Vodnar, D. C., Călinoiu, L. F., Dulf, F. V., Ștefănescu, B. E., Crișan, G., & Socaciu, C.** (2017). Identification of the bioactive compounds and antioxidant, antimutagenic and antimicrobial activities of thermally processed agro-industrial waste. *Food Chemistry*, 231, 131–140. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.03.131>

- Wang, B.-J., Yang, Q.-S., Chen, T., Qin, X.-D., Ma, J.-R., & Zhao, Y.** (2017). Optimization of Enzyme-Assisted Extraction of Carotenoids Antioxidants from *Cordyceps militaris* Using Response Surface Methodology. *International Journal of Food Engineering*, 13(5). <https://doi.org/10.1515/ijfe-2016-0173>
- Wang, W., Ma, X., Jiang, P., Hu, L., Zhi, Z., Chen, J., Ding, T., Ye, X., & Liu, D.** (2016). Characterization of pectin from grapefruit peel: A comparison of ultrasound-assisted and conventional heating extractions. *Food Hydrocolloids*, 61, 730–739. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2016.06.019>
- Wanna, C.** (2019). Free Radical Scavenging Capacity and Total Phenolic Contents in Peel and Fleshy Crude Extracts of Selected Vegetables. *Pharmacognosy Journal*, 11(6), 1351–1358. <https://doi.org/10.5530/pj.2019.11.209>
- Wikiera, A., Mika, M., & Grabacka, M.** (2015). Multicatalytic enzyme preparations as effective alternative to acid in pectin extraction. *Food Hydrocolloids*, 44, 156–161. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2014.09.018>
- Xia, T., Shi, S., & Wan, X.** (2006). Impact of ultrasonic-assisted extraction on the chemical and sensory quality of tea infusion. *Journal of Food Engineering*, 74(4), 557–560. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2005.03.043>
- Yadav, P.** (2020). A Review on different types of carrot and its chemical compositions. *IOSR Journal Of Pharmacy*, 10(5), 32-39.
- Yan, B., Chen, Z. S., Hu, Y., & Yong, Q.** (2021). Insight in the Recent Application of Polyphenols From Biomass. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 9. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2021.753898>
- Yan, F., Fan, K., He, J., & Gao, M.** (2015). Ultrasonic-Assisted Solvent Extraction of Carotenoids From Rapeseed Meal: Optimization Using Response Surface Methodology. *Journal of Food Quality*, 38(6), 377–386. <https://doi.org/10.1111/jfq.12154>
- Yılmaz, M. S., Kutlu Kantar, N., Erdem, G., Şakıyan Demirkol, Ö., & İşçi Yakan, A.** (2021). Fenolik Bileşiklerin Alıç Meyvesinden (*Creataegus monogyna*) Mikrodalga ve Ultrases Destekli Yöntemler ile Ekstraksiyonu. *Gıda*, 46(4), 1002–1015. <https://doi.org/10.15237/gida.GD21018>
- Yu, P., Gamage, I. H., & Zhang, X.** (2014). New Approaches and Recent Advances on Characterization of Chemical Functional Groups and Structures, Physiochemical Property, and Nutritional Values in Feedstocks and By-Products: Advanced Spectroanalytical and Modeling Investigations. *Applied Spectroscopy Reviews*, 49(7), 585–602. <https://doi.org/10.1080/05704928.2013.879064>
- Yuliarti, O., Goh, K. K. T., Matia-Merino, L., Mawson, J., & Brennan, C.** (2015). Extraction and characterisation of pomace pectin from gold kiwifruit (*Actinidia chinensis*). *Food Chemistry*, 187, 290–296. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.03.148>

- Zanfini, A., Corbini, G., la Rosa, C., & Dreassi, E.** (2010). Antioxidant activity of tomato lipophilic extracts and interactions between carotenoids and α -tocopherol in synthetic mixtures. *LWT - Food Science and Technology*, 43(1), 67–72. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2009.06.011>
- Zhang, D., & Hamauzu, Y.** (2004). Phenolic compounds and their antioxidant properties in different tissues of carrots (*Daucus carota* L.). *Journal of Food Agriculture and Environment*, 2, 95-100.
- Zhou, T., Liu, H., Diao, X., Zhao, Q., Duan, J., Henry, I. I., Yar, M. S., Wu, J., & Li, C.** (2024). Molecular interaction between myofibrillar protein and beta-carotene during heating. *Food Chemistry*, 435, 137588. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2023.137588>
- Ziobro, R., Ivanišová, E., Bojňanská, T., & Gumul, D.** (2022). Retention of Antioxidants from Dried Carrot Pomace in Wheat Bread. *Applied Sciences*, 12(19), 9735. <https://doi.org/10.3390/app12199735>



ÖZGEÇMİŞ

Ad-Soyad : Yasemin DEMİR

ÖĞRENİM DURUMU:

- **Önlisans** : 2022 - Anadolu Üniversitesi, Açıköğretim Fakültesi, Lojistik
- **Lisans** : 2022, Anadolu Üniversitesi, Açıköğretim Fakültesi, İşletme
- **Lisans** : 2020, İstanbul Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, Beslenme ve Diyetetik

MESLEKİ DENEYİM VE ÖDÜLLER:

- 2022 - Kategori Uzman Yardımcısı, Doğu Planet Elektronik Ticaret ve Bilişim Hizmetleri A.Ş.
- 2021 - 2022: Depo Yöneticisi, Derya Catering - Derya Gıda İnşaat ve Turizm Sanayi Ticaret Ltd. Şti.

YÜKSEK LİSANS TEZİNDEN TÜRETİLEN YAYINLAR, SUNUMLAR VE PATENTLER:

- **Demir, Y.**, Kahveci-Karıncaoğlu, D. (2024, May). Determination of optimum parameters for traditional, enzymatic, and ultrasonic-assisted pre-treatment extractions for obtaining beta-carotene from industrial carrot juice wastes. 3rd International Graduate Research Symposium, IGRS'24, Turkey.

DİĞER YAYINLAR, SUNUMLAR VE PATENTLER:

Yayınlar

- Akın, S., Akyüz, E. Y., Bülbül, E., Tekce, K., Türk, S., Kaplanoğlu, F. N., & **Demir, Y.** (2022). Bir devlet üniversitesi'nde okumakta olan sağlık bilimleri öğrencilerinde obezite görülme sıklığı ve obezite farkındalık düzeyi ile yeme alışkanlıkları arasındaki ilişkinin incelenmesi. *Sağlık ve Toplum*, 32(1), 92-102.