

KIRMIZI PANCAR SUYU ÜRETİMİNDE ENZİM ÖN UYGULAMASI: İŞLEM KOŞULLARININ MEYVE SUYU VERİMİ, BETANİN MİKTARI, TOPLAM FENOLİK MADDE VE ANTİOKSİDAN KAPASİTE ÜZERİNE ETKİSİ

**Esra Gençdağ, Ahmet Görgüç, Merve Birişik,
Ezgi Genç, Ceren Başkurt, Fatih Mehmet Yılmaz***

Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Aydın, Türkiye

Geliş / *Received*: 07.03.2019; Kabul / *Accepted*: 24.06.2019; Online baskı / *Published online*: 11.07.2019

Gençdağ, E., Görgüç, A., Birişik, M., Genç, E., Başkurt, C., Yılmaz, F. M. (2019). Kırmızı pancar suyu üretiminde enzim ön uygulaması: İşlem koşullarının meyve suyu verimi, betanin miktarı, toplam fenolik madde ve antioksidan kapasite üzerine etkisi. *GIDA* (2019) 44(4) 593-604 doi: 10.15237/gida.GD19053

Gençdağ, E., Görgüç, A., Birişik, M., Genç, E., Başkurt, C., Yılmaz, F. M. (2019). *Enzymatic pre-treatment in red beet juice production: The effect of process variables on juice yield, betanin content, total phenolic compound and antioxidant capacity. GIDA* (2019) 44(4) 593-604 doi: 10.15237/gida.GD19053

ÖZ

Kırmızı pancar, gıda endüstrisinde yaygın olarak kullanılan doğal renk maddesi olan betaninin en önemli kaynağıdır. Konsantre ya da toz formda arz edilen bu gıda renklendiricisi için ilk üretim basamağı kırmızı pancar suyu üretimidir. Bu çalışmanın amacı, yüksek verimlilikte kırmızı pancar suyu eldesinde presleme öncesi enzim ön uygulamasının ve bu işlemde ortam pH değeri, sıcaklığı, enzim oranı ve sürenin etkilerinin belirlenmesidir. Bu kapsamda, ilk aşamada farklı pH (2.5-5.0) ve sıcaklık (30-60 °C) değerlerinde enzim ilavesinin (Pectinex Ultra SP-L) etkileri değerlendirilmiş; ikinci aşamada enzim oranı ve işlem süresinin etkileri yanıt yüzey yöntemi (RSM) kullanılarak belirlenmiştir. Enzim ön uygulaması sonrasında pres veriminin %17 arttığı bulunmuştur. Optimum koşullar olan 3.0 pH değeri, 50 °C sıcaklık, 75.8 poligalakturonaz birimi (PGB)/g enzim oranı ve 48 dk.'lık işlem süresi sonunda meyve suyu verimi %34.7, betanin miktarı 106.0 mg/100 g, toplam fenolik madde miktarı 245.2 mg GAE/100 g, antioksidan kapasite değeri ise 47.0 µmol TE/100 g olarak belirlenmiştir.

Anahtar kelimeler: Kırmızı pancar, enzimatik işlem, meyve suyu verimi, betanin, fenolik madde, antioksidan kapasite

ENZYMATIC PRE-TREATMENT IN RED BEET JUICE PRODUCTION: THE EFFECT OF PROCESS VARIABLES ON JUICE YIELD, BETANIN CONTENT, TOTAL PHENOLIC COMPOUND AND ANTIOXIDANT CAPACITY

ABSTRACT

Red beet is the most important source of betanin, a natural colorant commonly used in the food industry. The first production step for this food colorant presented in concentrated or powder form is the production of red beet juice. The aim of this study is to determine the effect of enzyme pre-treatment prior to pressing step in the production of high-yield red beet juice and, that of pH, temperature, enzyme ratio and processing time. In this context, the effect of enzyme addition (Pectinex Ultra SP-L) were evaluated at different pH values (2.5-5.0) and temperature (30-60 °C); and in the second step, the effects of the enzyme ratio and processing time were determined using the response surface methodology (RSM). Enzyme pre-treatment increased press yield by 17%. Under the optimum conditions which are 3.0 pH value, 50 °C temperature, 75.8 polygalacturonase unit (PGB)/g enzyme ratio and 48 min processing time, the fruit juice yield was 34.7%, the betanin content was 106.0 mg/100 g, the total phenolic content was 245.2 mg GAE/100 g and the antioxidant capacity was determined as 47.0 µmol TE/100 g.

Keywords: Red beet, enzymatic treatment, juice yield, betanin, phenolic compound, antioxidant capacity

* Yazışmalardan sorumlu yazar / *Corresponding author*;

✉ fatih.yilmaz@adu.edu.tr

☎ (+90) 256 213 7503

☎ (+90) 256 213 6686

GİRİŞ

Gıda formülasyonlarında kullanılan sentetik renk maddelerinin sağlık üzerine olası zararlı etkileri nedeniyle doğal gıda renklendiricilerin kullanımına olan ilgi gün geçtikçe artmaktadır (Turp vd., 2016; Gasztonyi vd., 2001). Kırmızı pancar (*Beta vulgaris* L.), doğal gıda renklendiricisi olarak kullanılan betalain pigmentlerine sahiptir (Ravichandran vd., 2013; Özcan ve Ersus, 2018). Betalainler suda çözünebilir ve azot içeren betalainik asit türevi doğal pigmentlerdir. Doğal kırmızı renk verici betalainlerin ana kaynağı kırmızı pancar köküdür (Tekin vd., 2018). Betalainler, pancar suyu konsantresi veya pancar suyu tozu şeklinde gıda, ilaç ve kozmetik endüstrilerinde doğal katkı maddesi olarak kullanılabilir (Kaya ve Baysal, 2016). Betalainlerin serbest radikal temizleyici etkileri ile oksidatif stresle ilişkili hastalıklara karşı koruma sağladığı (Gliszczynska-Swiglo, 2006); çok yüksek dozlarda (5 g/kg vücut ağırlığı) dahi toksik etki göstermediği bildirilmektedir (Wiczowski vd., 2018). Betalainlerin E-162 kodu ile doğal gıda boyası olarak kullanımı Avrupa Birliği tarafından onaylanmıştır (Kaya ve Baysal, 2016).

Kırmızı pancarın doğal pigmenti olan betalainler, betasiyaninler (kırmızı-mor pigmentler) ve betaksantinler (sarı-turuncu pigmentler) olmak üzere iki gruba ayrılmaktadır (Cardoso-Ugarte vd., 2014). Antosiyaninler en yaygın kullanılan doğal pigmentler olmasına rağmen, betalainler pH ve sıcaklık değişimlerinde çok daha stabildir. Betalain pigmentlerinin stabilitesi; içeriğinde bulunduğu ürünün sıcaklığına, ısl işlem süresine, ortam pH değerine ve su aktivitesine bağlıdır (Nemzer vd., 2011).

Meyve suyu üretiminde pres verimini artırmak, hücre içerisinden maddelerin pres suyuna geçmesini sağlamak amacıyla çok çeşitli enzimler kullanılmaktadır (Sandri vd., 2011). Kırmızı pancardan betalainlerin elde edilmesinde enzim destekli ekstraksiyon yöntemleri, geleneksel ekstraksiyon yöntemlerine karşı alternatif olarak karşımıza çıkmaktadır (Puri vd., 2012). Pektinaz, selüloz ve hemiselüloz gibi enzimler, hücre duvarını yıkmak ve meyve suyu ekstraksiyon verimini arttırmak için meyve suyu endüstrisinde

yaygın olarak kullanılmaktadır. Kırmızı pancar dokusu, birçok sebzenin aksine pektin makromoleküllerini arabinoz aracılığıyla çapraz bağlayan ve bunları hücre çeperine tutturmak için kullanılan ferulik asidi içermektedir (Zhao vd., 2008). Yüksek ferulik asit içeriğine sahip kırmızı pancar hücre duvarının sıkı hücresel yapısı nedeniyle ekstraksiyon işleminde ek bir basamak olarak enzim uygulaması gerekli görülmektedir (Fissore vd., 2012). Kırmızı pancarın bu özel morfolojik yapısından dolayı optimum enzimatik işlem koşullarının oluşturulması oldukça önemlidir (Dongowski, 2001).

Bu çalışmada, kırmızı pancardan doğal renk maddesi üretiminde ilk aşama olan meyve suyu prosesinde poligalakturonaz, hemiselüloz, selüloz, proteaz ve amilaz karışımı 'miks' ticari enzim olan Pectinex Ultra SP-L kullanımının meyve suyu verimi, betanın miktarı, toplam fenolik madde miktarı ve antioksidan kapasite değerleri üzerindeki etkileri incelenmiştir. Ayrıca, pH, sıcaklık, enzim oranı ve süre değişkenleri ele alınarak optimum işlem parametreleri belirlenmiştir.

MATERYAL VE YÖNTEM

Materyal ve Kimyasallar

Çalışmada kullanılan kırmızı pancar (*Beta vulgaris* L.) yerel marketten temin edilmiş ve işlemlere dek +4 °C'de bekletilmiştir. İşlemlerde ve analizlerde kullanılan sitrik asit Smart Kimya Ltd. Şti. (Türkiye)'den, trifloroasetik asit, sodyum hidroksit, Folin-Ciocalteu ayracı, sodyum karbonat ve LC saflıkta su Merck (Almanya)'ten; betanın, 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH), gallik asit, troloks ve LC saflıkta asetonitril ise Sigma-Aldrich (ABD)'ten temin edilmiştir. Çalışmada kullanılan Pectinex Ultra SP-L enzimi Novozymes (Danimarka) tarafından sağlanmıştır.

Kırmızı pancarın ve tampon çözeltilerinin işlemlere hazırlanması

Kırmızı pancar ilk olarak sap ve gövdesinden ayrılmış, yıkanmış ve kabukları soyulmuştur. Ardından sebzenin lifli yapısı göz önünde bulundurularak tüm parçaların homojen olması sağlanacak şekilde doğrama ve rendeleme işlemi gerçekleştirilmiştir. İşlemlerde kullanılan 2.5, 3.0, 3.5, 4.0, 4.5, 5.0 pH değerlerine sahip farklı

çözeltilerin hazırlanmasında gerekli sitrik asit konsantrasyonları sırasıyla 2.00, 1.45, 0.83, 0.49, 0.37, 0.25 g/L olarak ön çalışma ile belirlenmiş ve çözeltiler günlük hazırlanmıştır.

Kırmızı pancar suyu üretiminde pH değerinin ve sıcaklığın etkilerinin belirlenmesi

Bu aşamada presleme öncesi enzimli ve enzim kullanılmadan işlemler uygulanmış ve her iki koşulda farklı pH değerlerinin (2.5, 3.0, 3.5, 4.0, 4.5 ve 5.0) ve sıcaklıkların (30, 35, 40, 45, 50, 55 ve 60 °C) etkileri ayrı ayrı incelenmiştir. Bu kapsamda deney planına göre taze hazırlanmış 100 mL sitrik asit çözeltisi kapaklı cam şişe içerisinde öncelikle su banyosunda deney sıcaklığına ulaşmaya kadar ısıtılmış, ardından sırasıyla gram örnek başına 95 PGB enzim (Enzim ilaveli plan için) ve 50 g parçalanmış kırmızı pancar şişelere aktarılmıştır. Şişeler, çalkalamalı su banyosunda 60 dk. süre boyunca bekletilmiş, ardından 30 ± 2 °C'ye soğutulmuş ve pres kalıbı (325 kg/m²) ile süzme bezi kullanılarak kırmızı pancar suyu elde edilmiştir. Elde edilen meyve suları ile önce meyve suyu verimi belirlenmiş; daha sonra diğer analizler için numuneler -20 °C'de saklanmıştır.

Kırmızı pancar suyu üretiminde enzim oranının ve işlem süresinin etkilerinin belirlenmesi

Kırmızı pancardan enzimatik işlemle meyve suyu eldesinde enzim oranının ve işlem süresinin etkileri yanıt yüzey metodu (Response surface methodology, RSM) kullanılarak merkezi tümleşik dizayn (Central composite design, CCD) ile incelenmiş ve ayrıca optimum enzimatik işlem koşulları da belirlenmiştir. Bağımsız değişkenlerin alt ve üst limitleri (Enzim oranı: 21.3 - 85.1 PGB/g; süre: 5 - 55 dk.) ön denemeler ile belirlenmiş; ortam pH değeri ve sıcaklığı bir önceki deneysel veriler dikkate alınarak sabit tutulmuştur. Üçü merkez nokta olmak üzere 11 deneyden oluşan deneysel tasarımın bağımlı değişkenleri meyve suyu verimi, betanin miktarı, toplam fenolik madde miktarı ve antioksidan kapasite olmuştur. Çalkalamalı su banyosunda gerçekleştirilen işlemlerin sonunda uygulanan presleme ve filtrasyonun ardından meyve suyu

elde edilmiştir. Elde edilen meyve suları ile önce meyve suyu verimi belirlenmiş; daha sonra diğer analizler için numuneler -20 °C'de saklanmıştır.

Analizler

Meyve suyu verimi

Presleme ve filtrasyon sonunda elde edilen meyve sularının ağırlığı (m_1), işlemlerde kullanılan çözelti miktarı (m_2) ve kırmızı pancar ağırlığı ($m_0 = 50$ g) kullanılarak aşağıdaki bağıntıyla meyve suyu verimi (MSV) hesaplanmıştır (Khandere vd., 2011):

$$\text{MSV (\%)} = [(m_1 - m_2)/m_0] \times 100$$

Betanin miktarının belirlenmesi

Kırmızı pancar sularında betanin miktarı HPLC metodu ile belirlenmiştir (Güneşer, 2016). Öncelikle elde edilen meyve suları 0.45 µm PVDF filtreden geçirilerek HPLC (Shimadzu Prominence LC20A)'ye enjekte edilmek üzere viallere aktarılmıştır. UV dedektör (Shimadzu SPD-20A) ve ters faz C18 kolonun (250 mm x 4.60 mm x 5 µm) kullanıldığı çalışmada izokratik mobil faz %0.5 trifloroasetik asit çözeltisi ve asetonitril 90:10 (v:v) olmuştur. Analiz 540 nm'de, 1 mL/dk. akış hızında ve 20 °C kolon sıcaklığında gerçekleştirilmiştir. Betanin standardı kullanılarak tanımlama ve miktar analizi yapılmış ve sonuçlar mg/100 g olarak hesaplanmıştır.

Toplam fenolik madde

Toplam fenolik madde analizi, spektrofotometrik Folin-Ciocalteu yöntemine göre gerçekleştirilmiştir. Kırmızı pancar suyundan 30 µL alınıp, 2.37 mL deiyonize su ve 150 µL Folin-Ciocalteu reaktifi ile oda sıcaklığında karıştırılmış ve karanlıkta 8 dk. bekletilmiştir. Ardından 450 µL doygun sodyum karbonat çözeltisi eklenmiş ve vorteksenerek karıştırılmıştır. Etüvde 40 °C sıcaklıkta 30 dk. bekletilen karışımın 750 nm dalga boyundaki absorbans değeri UV-VIS spektrofotometre (Shimadzu V-1800, Japonya) ile ölçülmüştür. Standart kalibrasyon eğrisi oluşturmak için farklı konsantrasyonlarda gallik asit çözeltileri (50 – 500 mg/L) kullanılmış ve analiz aynı şartlarda gerçekleştirilmiştir. Sonuçlar, 'mg gallik asit eşdeğeri (GAE)/100 g' olarak hesaplanmıştır (Yılmaz ve Ersus Bilek, 2018).

Antioksidan kapasite

Antioksidan kapasite DPPH yöntemi ile belirlenmiştir (Kim vd., 2002). Öncelikle 0.1 mL meyve suyu üzerine 2.9 mL 0.1 mM etanolde hazırlanmış DPPH çözeltisi eklenip çalkalanmış ve oda sıcaklığında, karanlıkta 30 dk. bekletilmiştir. Ardından absorbans değeri, 517 nm dalga boyunda UV-VIS spektrofotometrede (Shimadzu V-1800, Japonya) ölçülmüştür. Kalibrasyon eğrisi, örnek yerine farklı konsantrasyonlarda troloks kullanılarak, aynı analiz koşullarının gerçekleştirilmesi ile elde edilmiştir. Sonuçlar 'µmol Troloks eşdeğeri (TE)/100 g örnek' cinsinden ifade edilmiştir.

$$Y = \beta_0 + \sum_{i=1}^k \beta_i x_i + \sum_{i=1}^k \beta_{ii} x_i^2 + \sum_{i=1}^{k-1} \sum_{j=2}^k \beta_{ij} x_i x_j$$

Burada Y tahmin edilen bağımlı değişken; X_i ve X_j , Y değerini etkileyen bağımsız değişkenler ($i \neq j$); β_0 , β_i , β_{ii} , β_{ij} sırasıyla kesişim, doğrusal, ikinci dereceden ve etkileşim terimlerinin regresyon katsayılarıdır; k ise değişken sayısını ifade etmektedir.

Modelin doğruluğu, programın ANOVA çıktıları olan uyum eksikliği (lack of fit), uyum katsayısı (R^2) ve Fisher test değerine (F -değeri) göre değerlendirilmiştir.

SONUÇ VE TARTIŞMA

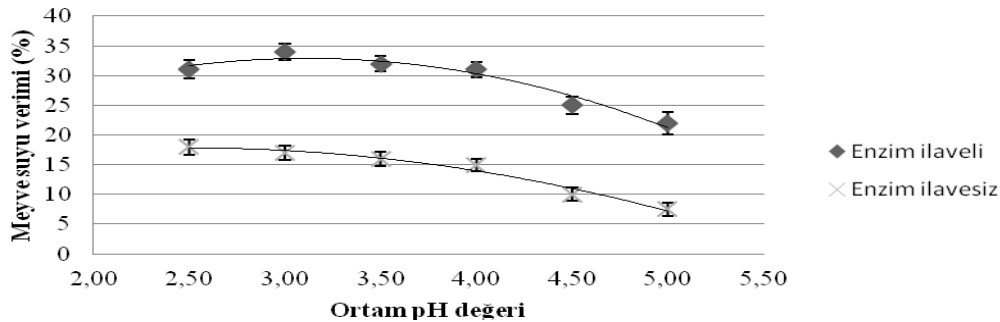
pH değeri ve sıcaklığın meyve suyu verimine etkileri

Bu çalışmanın ilk aşamasında, presleme öncesi enzim ön uygulamasında enzim aktivitesini doğrudan etkileyen parametreler olan ortam pH

İstatistiki analiz

Verilerin istatistiki değerlendirilmesi SPSS paket programı (SPSS 7.0, ABD) kullanılarak yapılmıştır. Elde edilen verilerde, sonuçlar üzerine parametrelerin etkisi varyans analizi (ANOVA) ile tespit edilmiştir ($P < 0.05$). Optimizasyon, Design-Expert (Design-Expert 7.0, USA) istatistik programı kullanılarak yanıt yüzey metodu (Response Surface Methodology, RSM) uygulanarak yapılmıştır. Deneysel veriler ikinci derece polinom modeline örtüştürülmüş ve regresyon katsayıları çoklu doğrusal regresyon ile elde edilmiştir:

değeri ve sıcaklığın etkileri incelenmiştir. Bu kapsamda farklı pH ve sıcaklıklarda uygulamalar gerçekleştirilmiş; ayrıca karşılaştırma yapmak amacıyla enzim ilavesiz işlemler de aynı koşullarda değerlendirilmiştir. Ortam pH değeri ve sıcaklığı çarpan etki olarak hem enzim aktivitesini hem de ekstraksiyon koşullarını doğrudan etkilediğinden meyve suyu verimi baz alınarak bu şekilde bir karşılaştırma yapılmıştır. Enzim ilavesiz ön uygulamada, ortam pH değerinin artması ile, yani alkali koşullara yaklaştıkça pres veriminin azaldığı tespit edilmiştir (Şekil 1). pH değeri'nin 2.5'ten 5.0'e yükselmesiyle meyve suyu verimi %17'den %7'ye düşmüştür. pH değerinin düşmesi yani asitliğin artması ile bitki hücre yapısı daha kolay parçalanmakta ve dolayısıyla pres verimi artmaktadır (Demir vd., 2004).

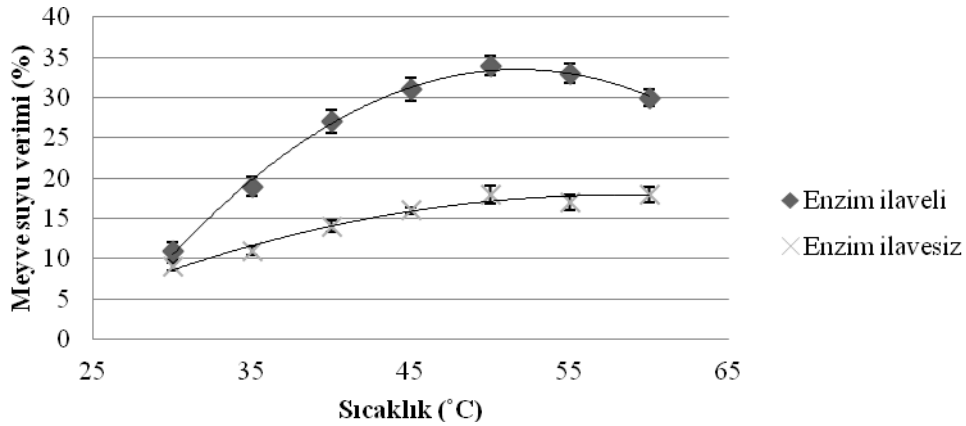


Şekil 1. Farklı pH değerlerinde enzimatik ve enzimatik olmayan işlemlerin meyve suyu verimi üzerine etkisi ($T = 50 \text{ } ^\circ\text{C}$)

Figure 1. Effect of enzymatic and non-enzymatic treatments on fruit juice yield at different pH values ($T = 50 \text{ } ^\circ\text{C}$)

Aynı çalışma koşullarında enzim ilavesi (Pectinex Ultra SP-L) ile gerçekleştirilen işlemlerde ise verimin %17.5'ten %34.5'e yükseldiği belirlenmiştir. Enzim ilavesiz uygulamaya kıyasla enzim aktivitesinin pH değerine bağlı olarak değişmesi pres veriminin asidik koşullardan etkilendiğini göstermiştir. pH değerinin 2.5'ten 3.0'e yükselmesiyle pres veriminin arttığı ve bu pH değerinde en yüksek değer elde edildiği tespit edilmiştir. pH 3.0 değerinden alkali ortama yaklaştıkça ise tıpkı enzim ilavesiz işlemlerde olduğu gibi pres veriminin önemli ölçüde azaldığı belirlenmiştir. Burada hem artan pH değerinin enzim aktivitesini düşürmesi hem de alkali koşulların ekstraksiyon verimini azaltması verim düşüşünün nedenleri olarak gösterilebilir (Belwal

vd., 2016; Li vd., 2018); ancak enzim ön uygulaması tüm pH değerlerinde enzim ilavesizlere kıyasla yüksek pres verimi sağlamıştır. Enzim ön uygulamasıyla pres veriminin artması, bitki hücre duvarında bulunan selüloz - hemiselüloz - pektik madde kompleksinin ticari miks enzim olan 'Pectinex Ultra SP-L' katalizöründe parçalanmasından kaynaklanmaktadır (Khandare vd., 2011). Her ne kadar Pectinex Ultra SP-L enziminin aktif pH çalışma aralığının 4 ila 9 arasında olduğu rapor edilmiş olsa da (Anonim, 2015); bu çalışmada elde edilen sonuçlara göre kırmızı pancardan en yüksek meyve suyu veriminin elde edildiği pH değerinin 3.0 olduğu tespit edilmiştir.



Şekil 2. Farklı sıcaklıklarda enzimatik ve enzimatik olmayan işlemlerin meyve suyu verimi üzerine etkisi (pH: 3.0)

Figure 2. Effect of enzymatic and non-enzymatic treatments on fruit juice yield at different temperatures (pH: 3.0)

Çalışmanın ilk aşamasında farklı pH değerlerinin etkilerinin incelenip optimum pH değeri (pH 3.0) belirlendikten sonra pH değerinin 3.0 olduğu koşulda farklı sıcaklıkların pres verimine etkisi incelenmiştir. Sonuçlar incelendiğinde, enzim ilavesiz işlemde sıcaklığın artışıyla başlangıçta pres veriminin çok hızlı arttığı, 50 °C ve üzerinde verim artışının sabitlendiği anlaşılmaktadır (Şekil 2). Enzim ilavesiz 30 °C sıcaklıkta %9 pres verimi elde edilirken; 60 °C'de verim %18 olmuştur. Kırmızı pancardan meyve suyu üretiminde enzim ön uygulamasında sıcaklığın etkisi önemli bulunmuştur ($P < 0.05$). Enzim ilavesi ve sıcaklığın yükselmesi ile meyve suyu veriminin

belirli bir noktaya kadar (30 - 50 °C) arttığı, sıcaklığın daha da yükselmesi ile (55, 60 °C) verimde belirgin bir azalma olduğu bulgulanmıştır. 30 °C sıcaklıkta 95 PGB/g enzim ön uygulaması sonucu %11 pres verimi sağlanırken; aynı koşulda 50 °C'de pres verimi %34.7 olarak belirlenmiştir. Yüksek sıcaklıklarda protein denatürasyonu sonucu enzim aktivitesi azalmakta ve böylece pres verimi de azalmaktadır (Sagu vd., 2014). Enzim ön uygulamasının tüm sıcaklık değerlerinde pres verimini enzim ilavesiz (kontrol) işlemlere kıyasla artırdığı; en yüksek pres veriminin de 50 °C'de enzim ön uygulamasının gerçekleştirildiği işleme ait olduğu tespit

edilmiştir. Literatür incelendiğinde, farklı bitki materyalleri için optimum enzimatik işlem sıcaklığının bitki ve kullanılan enzim çeşidine bağlı olarak değiştiği anlaşılmaktadır. Pitayadan Pectinex Ultra SP-L enziminin kullanıldığı çalışmada 40 °C (Truong vd., 2016), kayısı ve armuttan Pektinaz enzimi ile 40 °C (Joshi vd., 2011), kakuleden Celluclast 1.5 L enzimi ile 45 °C, şeker otundan selüloz enzimi ile 50 °C; pektinaz ile 45 °C; hemiselüloz ile 60 °C (Puri vd., 2012) en uygun sıcaklıklar olarak tespit edilmiştir. Pectinex Ultra SP-L'nin kullanıldığı diğer çalışmalarda ise yeşilbiberde 50 °C (Baby ve Ranganathan, 2016a), kakulede 50 °C (Baby ve Ranganathan, 2016b), malay elmasında 30 °C (Minh vd., 2014) en uygun sıcaklık dereceleri olarak rapor edilmiştir.

Enzim konsantrasyonu ve işlem süresinin etkileri

Çalışma kapsamında, kırmızı pancarda presleme öncesi enzim ön uygulaması için optimum pH değeri ve sıcaklığın belirlenmesinin ardından farklı enzim konsantrasyonu ve sürelerde gerçekleştirilen enzimatik işlemlerin meyve suyu verimi, betanin miktarı, TFM (Toplam fenolik madde) miktarı ve TEAK (Troloks eşdeğeri antioksidan kapasite) üzerindeki etkileri yanıt yüzey yöntemi (RSM) ile değerlendirilmiştir. Üçü merkez noktası olmak üzere 11 deney gerçekleştirilmiş; sonuçlar Çizelge 1'de sunulmuştur. Enzim oranı 21.3 - 85.1 PGB/g ve 5 - 55 dk. uygulama süresi aralığındaki sonuçlar incelendiğinde, meyve suyu veriminin %28.8 ile %34.4; betanin miktarının 71.3 ile 108.2 mg/100 g; TFM miktarının 102.8 ile 245.1 mg GAE/100 g; TEAK değerinin ise 27.4 ile 46.6 µmol TE/100 g arasında değiştiği görülmektedir.

Çizelge 1. Pectinex Ultra SP-L enziminin etkisini belirlemede kullanılan merkezi tümleşik tasarım ve analizler sonucu elde edilen bağımlı değişkenlere ait değerler

Table 1. Central composite design used to determine the effect of Pectinex Ultra SP-L enzyme and obtained results belonging to depended variables

Bağımsız değişkenler <i>Independent variables</i>			Bağımlı değişkenler <i>Dependent variables</i>			
Deney No*	Enzim oranı (PGB/g)**	Süre (dk.)	Meyve suyu verimi (%)	Betanin (mg/100 g)	TFM (mg GAE/100 g)	TEAK (µmol TE/100 g)
<i>Experiment No*</i>	<i>Enzyme ratio (PGB/g)**</i>	<i>Time (min)</i>	<i>Juice yield (%)</i>	<i>Betanin (mg/100 g)</i>	<i>TFM (mg GAE/100 g)</i>	<i>TEAK (µmol TE/100 g)</i>
1	53.2	5	28.8	79.2	102.8	30.9
2	75.8	48	34.5	108.2	245.1	46.6
3	75.8	12	30.6	78.6	182.4	33.1
4	30.6	12	29.1	71.3	100.9	27.4
5	53.2	30	32.7	92.4	225.4	35.6
6	53.2	55	34.4	103.2	235.4	44.7
7	30.6	48	32.8	91.5	210.6	36.8
8	53.2	30	33.0	90.2	218.9	40.1
9	53.2	30	33.3	89.7	213.1	37.3
10	85.1	30	33.6	93.1	239.9	42.8
11	21.3	30	30.7	86.4	185.1	30.8

*Harmanlanmış sıra

**PGB: Poligalakturonaz birimi

*Randomized order

**PGB: Polygalacturonase unit

Varyans analizi (ANOVA) sonuçları ve modellerin regresyon katsayıları Çizelge 2’de sunulmuştur. Bağımsız değişkenlerin değişen güven aralıklarıyla tüm bağımlı değişkenler üzerinde önemli etkileri olduğu belirlenmiştir. Regresyon modeli tarafından belirlenen toplam değişkenlerin oranını temsil eden uyum katsayısı (R^2) (Afshar ve Baniasadi, 2018) değerleri, meyve suyu verimi, betanin miktarı, TFM ve TEAK değerleri için sırasıyla 0.9922, 0.9282, 0.9860 ve 0.9594 olarak belirlenmiştir. R^2 değerlerinin 1’e yakın değerler olması (Lee ve ark, 2006) ve yüksek Fisher test değerleri (F - değeri) modellerin verileri yeterince temsil ettiğini göstermektedir.

Çizelge 2 incelendiğinde, enzim oranı ve sürenin meyve suyu verimi üzerindeki etkileri istatistiki açıdan önemli bulunmuştur ($P < 0.001$). Bu parametrelerin ikinci derece etkilerine bakıldığında meyve suyu verimi üzerindeki negatif etkileşimi istatistiki açıdan anlamlı olduğu belirlenmiştir ($P < 0.01$). Enzim oranının artması ile birlikte bitki hücre duvarı daha kolay parçalanmakta böylece meyve suyu verimi artmaktadır. Enzim oranı belirli bir değerin üzerine çıktığında pres verimi artış hızında azalma

gözlenmiştir. Bunun nedeni enzimin etki edebileceği substrat miktarının azalması veya enzimlerin degrade olması sonucunda verimde düşüş meydana getirmesidir (Baby ve Ranganathan, 2016a). Enzim oranı ($P < 0.05$) ve sürenin ($P < 0.001$) betanin miktarı üzerindeki etkileri istatistiki olarak anlamlı bulunmuştur. Enzim oranı ve uygulama süresinin artması ile beraber kırmızı pancarda betanin miktarının arttığı görülmüştür. Enzim oranı ve sürenin ($P < 0.001$) TFM miktarı üzerindeki etkileri ile beraber bu parametrelerin negatif yönlü etkisi ($P < 0.05$) ve sürenin ikinci dereceden negatif etkisi ($P < 0.001$) istatistiki açıdan önemli bulunmuştur. Kırmızı pancardaki yüksek antioksidan kapasite değerinin içermiş olduğu betalain pigmentlerinden kaynaklandığı rapor edilmiştir (Kanner vd., 2001; Mikolajczyk-Bator ve Czapski, 2017). TEAK değeri üzerindeki enzim oranı ($P < 0.01$) ve sürenin ($P < 0.001$) etkisi istatistiki açıdan anlamlı bulunmuştur. Bir modelin deneysel veriler için uygunluğunu gösteren uyum eksikliği (lack of fit) testine göre, tüm bağımlı değişkenlerin uyum eksikliği, istatistiki açıdan önemsiz ($P > 0.05$) olarak belirlenmiştir.

Çizelge 2. Pectinex Ultra SP-L uygulamasının yanıt yüzey metoduna (RSM) ait istatistiki analiz sonuçları ve model katsayıları

Table 2. Statistical analysis results and model coefficients belonging to response surface methodology (RSM) of Pectinex Ultra SP-L treatment

Model parametreleri <i>Model parameters</i>	Katsayı <i>Coefficient</i>	Meyve suyu verimi <i>Juice yield</i>	Betanin <i>Betanin</i>	TFM <i>TFM</i>	TEAK <i>TEAK</i>
Kesişim / <i>Intercept</i>	β_0	23.13***	63.89**	-64.45***	18.07**
Doğrusal / <i>Linear</i>					
Enzim oranı, A / <i>Enzyme ratio, A</i>	β_1	0.13***	0.27*	2.96***	0.26**
Süre, B / <i>Time, B</i>	β_2	0.24***	0.38***	9.21***	0.22***
Etkileşimli / <i>Interaction</i>					
A x B	β_{12}	1.19×10^{-4}	5.86×10^{-3}	-0.03*	2.55×10^{-3}
İkinci derece / <i>Second order</i>					
A ²	β_{11}	-9.03×10^{-4} **	-2.48×10^{-3}	-9.46×10^{-3}	-1.50×10^{-3}
B ²	β_{22}	-2.30×10^{-3} **	-1.70×10^{-3}	-0.08***	-8.6×10^{-4}
R^2		0.9922	0.9282	0.9860	0.9594
Ayarlanmış R^2 / <i>Adjusted R²</i>		0.9844	0.8563	0.9720	0.9187
p-değeri / <i>p-value</i>		<0.0001	0.0069	0.0001	0.0017
F-değeri / <i>F-value</i>		126.81	12.92	70.31	23.61
Uyum eksikliği / <i>Lack of fit</i>		0.7026	0.0784	0.2944	0.8070

Önem düzeyleri: *P < 0.05; **P < 0.01; ***P < 0.001

Model denklemi: $Y = \beta_0 + \beta_1A + \beta_2B + \beta_3C + \beta_{12}(Ax B) + \beta_{13}(Ax C) + \beta_{23}(Bx C) + \beta_{11}A^2 + \beta_{22}B^2 + \beta_{33}C^2$

Significance level: *P < 0.05; **P < 0.01; ***P < 0.001

Model equation: $Y = \beta_0 + \beta_1A + \beta_2B + \beta_3C + \beta_{12}(Ax B) + \beta_{13}(Ax C) + \beta_{23}(Bx C) + \beta_{11}A^2 + \beta_{22}B^2 + \beta_{33}C^2$

Bağımsız değişkenlerin meyve suyu verimi, betanin miktarı, TFM miktarı ve TEAK değeri üzerine etkileri Şekil 3'te sunulmuştur. Enzim oranının artışı ile birlikte bağımlı değişken değerlerinin de belli noktaya kadar artış gösterdiği, ardından sabitlendiği gözlenmiştir. Literatür incelendiğinde enzim oranının farklı meyve ve sebzelerde pres verimini etkilediğini gösteren çalışmalar bulunmaktadır (Sin vd., 2006; Aliaa vd., 2010; Minh, 2014; Aydın vd., 2018). Bu nedenle yüksek meyve suyu verimi elde edebilmek için kullanılan enzim oranının belirlenmesi oldukça önemlidir.

Şekil 3 incelendiğinde, bağımsız değişkenlerden uygulama süresinin artışı ile birlikte meyve suyu verimi ve TFM miktarında artış sağlandığı, belirli bir noktadan sonra ise sabitlenmenin gerçekleştiği belirlenmiştir. Enzimler biyolojik katalizörler olup meyve hücre duvarlarını parçalamak için uygun temas sürelerine ihtiyaç duymaktadır. Enzim ön uygulamasında aynı enzim oranlarında uygulama süreleri karşılaştırıldığında süre artışıyla beraber meyve suyu veriminde de artış gözlenmiştir. Literatür incelendiğinde, farklı bitki materyalleri için enzimatik işlem süresinin bitki ve kullanılan enzim çeşidine bağlı olarak değiştiği anlaşılmaktadır. Dut meyvesinde Pectinex Ultra SP-L ile 120 dk.; Viscozyme L ile 180 dk. (Nguyen ve Nguyen, 2018), narda selüloz ile 88 dk. (Li vd., 2018), beyaz pitayada Pectinex Ultra SP-L ile 40 dk. (Aliaa vd., 2010), muzda pektinaz ile 80 dk. (Lee vd., 2006) sürelerde optimum verim sağlanmıştır.

Kırmızı pancarda enzim ön uygulamasında, enzim oranı ve uygulama süresinin artması ile birlikte betanin miktarının da arttığı belirlenmiştir (Şekil 3). Literatür incelendiğinde, bitkilerden çeşitli renk maddelerinin kazanımı üzerinde kullanılan enzim çeşidinin etkili olduğu rapor edilmiştir (Santamaria vd., 2000; Landbo ve Meyer, 2001; Barzana vd., 2002; Lee ve Wrolstad, 2004).

Kırmızı pancarda TFM miktarının enzim oranı ve uygulama süresi interaksyonundan etkilendiği belirlenmiştir. Enzim oranı ve sürenin artmasıyla TFM miktarında artış tespit edilmiştir (Şekil 3). Benzer çalışmalar incelendiğinde bitki çeşidine

bağlı olarak enzimatik uygulamalarda enzim oranı ve işlem süresinin TFM miktarı üzerinde etkili oldukları bulgulanmıştır. Frenk üzümü ve yaban mersininde Pectinex Ultra SP-L'nin enzim ilavesiz kontrol örneğine kıyasla TFM miktarını %26 (Buchert ve ark, 2005), kırmızı havuçta pektinazın %27 (Khandare ve ark, 2011), siyah frenk üzümünde Pectinex Ultra SP-L'nin %36 (Landbo ve Meyer, 2004) oranında arttırdığı rapor edilmiştir.

Mevcut çalışmada enzim ön uygulamasında ayrı ayrı enzim oranı ve süre parametrelerinin TEAK değeri üzerindeki etkileri istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur. Literatürle kıyaslandığında artan enzim oranı ve işlem süresinin çeşitli bitkilerde pres verimi ile beraber antioksidan kapasite üzerinde de önemli değişiklikler meydana getirdiği görülmektedir. Hünnap bitkisinde %20 pektinaz ve Viscozyme L uygulaması ile antioksidan kapasite değerinin 14.8'den 20.9 $\mu\text{mol}/\text{mL}$ 'ye yükseldiği bildirilmiştir (Koley vd., 2011). Ayrıca, siyah havuçta %0.2 pektinaz ile 30 $\mu\text{mol TE}/\text{mL}$ (Khandare vd., 2011); kırmızı biberde %0.3 Viscozyme L ile 341.6 $\mu\text{mol TE}/100 \text{ mL}$, %0.3 pektinaz ile 294.5 $\mu\text{mol TE}/100 \text{ mL}$ TEAK değerleri (Nath vd., 2016) elde edildiği rapor edilmiştir.

Optimizasyon ve verifikasyon

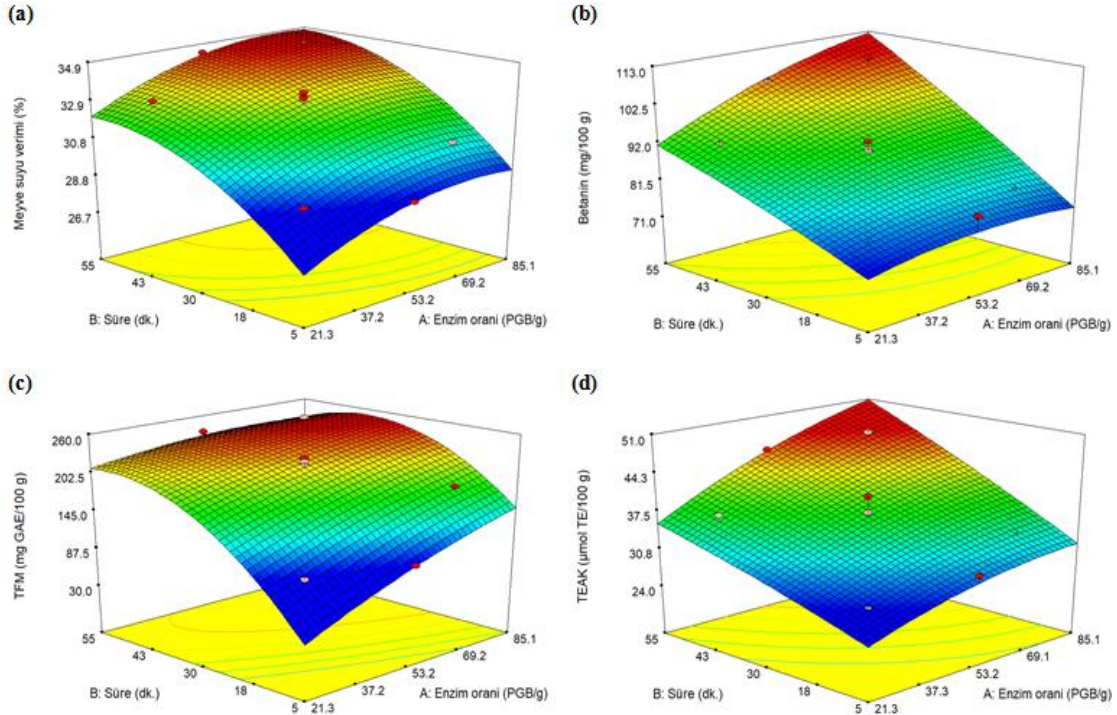
Optimum işlem koşullarına ait parametreler belirlenirken, kırmızı pancardan en yüksek meyve suyu verimi, betanin miktarı, TFM miktarı ve TEAK değerlerine ulaşılması amaçlanmıştır. Çizelge 3 incelendiğinde, optimum çalışma koşulları 75.8 PGB/g enzim konsantrasyonu ve 48 dk. uygulama süresi olarak belirlenmiştir. Optimum işlem koşulları için güvenilirlik değeri ile veriler karşılaştırıldığında sonuçlar arasında istatistiki açıdan farklılığın bulunmadığı ($P > 0.05$) tespit edilmiştir.

Kırmızı pancarda presleme öncesi Pectinex Ultra SP-L kullanımının meyve suyu verimini önemli ölçüde arttırdığı tespit edilmiştir. Bu kapsamda, belirlenen optimum pH (3.0) ve sıcaklık (50 °C) değerlerinde farklı enzim oranı ve işlem sürelerinin presleme verimi üzerine olan etkileri RSM ile değerlendirilmiştir. Sonuç olarak, gıda

Enzim ön uygulamasının kırmızı pancar suyu verimine etkisi

endüstrisinde meyve suyu üretiminde enzimatik ön işlem uygulamasının verime olan etkisinin yanı sıra ürünün diğer kalite özelliklerine olan etkilerinin (briks, viskozite, bulanıklık vb.) de göz önünde bulundurulması gerekmektedir. Aynı

zamanda farklı meyve suyu üretim proseslerinde kullanılan meyvenin çeşidi ve hücre yapısı göz önünde bulundurularak her bir enzim için optimum çalışma koşullarının belirlenmesi önem arz etmektedir.



Şekil 3. Pectinex Ultra SP-L uygulamasına ait bağımsız değişkenlerin meyve suyu verimi, betanin miktarı, toplam fenolik madde (TFM) ve antioksidan kapasite (TEAK) üzerine etkileri
Figure 3. The effects of independent variables belonging Pectinex Ultra SP-L treatment on the fruit juice yield, betanin content, total phenolic compound (TPC) and antioxidant capacity (TEAC) values

Çizelge 3. Pectinex Ultra SP-L ile işlemede en yüksek meyve suyu verimi, betanin miktarı, toplam fenolik madde (TFM) miktarı ve antioksidan kapasite (TEAK) değeri için optimum işlem koşulları
Table 3. Optimum processing conditions for highest fruit juice yield, betanin content, total phenolic compound (TPC) and antioxidant capacity (TEAC) values in treatment with Pectinex Ultra SP-L

Pectinex Ultra SP-L İşlem Parametreleri <i>Pectinex Ultra SP-L Process Parameters</i>			Parametre <i>Parameter</i>	Program çıktısı <i>Program output</i>	Deneysel sonuç <i>Experimental result</i>
Enzim oranı (PGB/g)* <i>Enzyme ratio</i> (PGB/g)*	İşlem süresi (dk.) <i>Process time</i> (min)	Güvenilirlik <i>Desirability</i>			
75.8	48	0.984	Meyve suyu verimi (%) <i>Juice yield (%)</i>	34.7	34.4 ± 0.7
			Betanin (mg/100g)	106.0	104.3 ± 4.9
			TFM (mg 6AE/100g)	245.2	238.3 ± 9.1
			TEAK (µmol TE/100g)	47.0	46.7 ± 3.0

*PGB: Poligalakturonaz birimi

*PGB: Polygalacturonase unit

TEŞEKKÜR

Çalışmaya maddi destek sağlayan TÜBİTAK – BİDEB (2209 - A)ʼe yazarlar olarak teşekkürlerimizi sunarız.

KAYNAKLAR

Afshar, S., Baniasadi, H. (2018). Investigation the effect of graphene oxide and gelatin/starch weight ratio on the properties of starch/gelatin/GO nanocomposite films: The RSM study. *Int J Biol Macromol*, 109, 1019-1028.

Anonymous (2015). Pectinex Ultra SP-L safety data sheet. Novozymes Corp., Denmark.

Aydın, E., Sarıkaya, Ö., Çatalkaya, G., Kahveci, D. (2018). Enzim ön uygulamasının siyah üzüm ve ahududu sularının fiziksel ve kimyasal özellikleri, toplam fenolik madde içeriği ve toplam antioksidan kapasitesi üzerine etkisi. *Harran Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi*, 22(4), 502-512.

Baby, K. C., Ranganathan, T. V. (2016a). Effect of enzyme pretreatment on yield and quality of fresh green chilli (*Capsicum annum L*) oleoresin and its major capsaicinoids. *Biocatal Agric Biotechnol*, 7, 95-101.

Baby, K. C., Ranganathan, T. V. (2016b). Effect of enzyme pre-treatment on extraction yield and quality of cardamom (*Elettaria cardamomum maton.*) volatile oil. *Ind Crops Prod*, 89, 200-206.

Barzana, E., Rubio, D., Santamaria, R. I., Garcia-Correa, O., Garcia, F., Ridaura Sanz, V. E., López-Munguía, A. (2002). Enzyme-mediated solvent extraction of carotenoids from marigold flower (*Tagetes erecta*). *J Agric Food Chem*, 50(16), 4491-4496.

Belwal, T., Dhyani, P., Bhatt, I. D., Rawal, R. S., Pande, V. (2016). Optimization extraction conditions for improving phenolic content and antioxidant activity in *Berberis asiatica* fruits using response surface methodology (RSM). *Food Chem*, 207, 115-124.

Buchert, J., Koponen, J. M., Suutarinen, M., Mustranta, A., Lille, M., Törrönen, R., Poutanen, K. (2005). Effect of enzyme-aided pressing on anthocyanin yield and profiles in bilberry and blackcurrant juices. *J Sci Food Agric*, 85(15), 2548-2556.

Cardoso-Ugarte, G.A., Sosa-Morales, M.E., Ballard, T., Liceaga, A., San Martín-González, M.F. (2014). Microwave-assisted extraction of betalains from red beet (*Beta vulgaris*). *LWT-Food Sci Technol*, 59(1), 276-282.

Demir, N., Acar, J., Bahçeci, K. S. (2004). Effects of storage on quality of carrot juices produced with lactofermentation and acidification. *Eur Food Res Technol*, 218(5), 465-468.

Dongowski, G. (2001). Enzymatic degradation studies of pectin and cellulose from red beets. *Nahrung*, 45(5), 324-331.

Fissore, E. N., Rojas, A. M., Gerschenson, L. N. (2012). Rheological performance of pectin-enriched products isolated from red beet (*Beta vulgaris L. var. conditiva*) through alkaline and enzymatic treatments. *Food Hydrocoll*, 26(1), 249-260.

Gasztonyi, M. N., Daood, H., Hajos, M. T., Biacs, P. (2001). Comparison of red beet (*Beta vulgaris var conditiva*) varieties on the basis of their pigment components. *J Sci Food Agric*, 81(9), 932-933.

Gliszczynska-Swiglo, A., Szymusiak, H., Malinowska, P. (2006). Betanin, the main pigment of red beet: molecular origin of its exceptionally high free radical-scavenging activity. *Food Addit Contam*, 23(11), 1079-1087.

Güneşer, O. (2016). Pigment and color stability of beetroot betalains in cow milk during thermal treatment. *Food Chem*, 196, 220-227.

Joshi, V. K., Parmar, M., Rana, N. (2011). Purification and characterization of pectinase produced from apple pomace and evaluation of its efficacy in fruit juice extraction and clarification. *Indian J Nat Prod Resour*, 2(2), 189-197.

Kanner, J., Harel, S., Granit, R. (2001). Betalains a new class of dietary cationized antioxidants. *J Agric Food Chem*, 49(11), 5178-5185.

Kaya, G., Baysal, T. (2016). Production of fermented red beet juice powder by using spray and drum drier. *GIDA*, 41(5), 305-310.

Khandare, V., Walia, S., Singh, M., Kaur, C. (2011). Black carrot (*Daucus carota ssp. sativus*) juice:

- processing effects on antioxidant composition and color. *Food Bioprod Process*, 89(4), 482-486.
- Kim, D. O., Lee, K. W., Lee, H. J., Lee, C. Y. (2002). Vitamin C equivalent antioxidant capacity (VCEAC) of phenolic phytochemicals. *J Agric Food Chem*, 50(13), 3713-3717.
- Koley, T. K., Walia, S., Nath, P., Awasthi, O. P., Kaur, C. (2011). Nutraceutical composition of *Zizyphus mauritiana Lamk* (Indian ber): effect of enzyme-assisted processing. *Int J Food Sci Nutr*, 62(3), 276-279.
- Landbo, A. K., Meyer, A. S. (2001). Enzyme-assisted extraction of antioxidative phenols from black currant juice press residues (*Ribes nigrum*). *J Agric Food Chem*, 49(7), 3169-3177.
- Landbo, A. K., Meyer, A. S. (2004). Effects of different enzymatic maceration treatments on enhancement of anthocyanins and other phenolics in black currant juice. *Innov Food Sci Emerg Technol*, 5(4), 503-513.
- Lee, J., Wrolstad, R. E. (2004). Extraction of anthocyanins and polyphenolics from blueberry processing waste. *J Food Sci*, 69(7), 564-573.
- Lee, W. C., Yusof, S., Hamid, N. S. A., Baharin, B. S. (2006). Optimizing conditions for enzymatic clarification of banana juice using response surface methodology (RSM). *J Food Eng*, 73(1), 55-63.
- Li, Y., Zhu, C. P., Zhai, X. C., Zhang, Y., Duan, Z., Sun, J. R. (2018). Optimization of enzyme assisted extraction of polysaccharides from pomegranate peel by response surface methodology and their anti-oxidant potential. *CHM*, 10(4), 416-423.
- Mikolajczyk-Bator, K., Czapski, J. (2017). Effect of pH changes on antioxidant capacity and the content of betalain pigments during the heating of a solution of red beet betalains. *Pol J Food Nutr Sci*, 67(2), 123-128.
- Minh, N. P. (2014). Enzymatic pectinase application in extraction and purification of juice turbidity from red rose apple pulp (*Syzygium malaccensis*). *Int J Multidiscip Res Dev*, 1(4), 45-51.
- Nath, P., Kaur, C., Rudra, S. G., Varghese, E. (2016). Enzyme-assisted extraction of carotenoid-rich extract from red capsicum (*Capsicum annuum*). *Agric Res*, 5(2), 193-204.
- Nemzer, B., Pietrzowski, Z., Sporna, A., Stalica, P., Thresher, W., Michalowski, T., Wybraniec, S. (2011). Betalainic and nutritional profiles of pigment-enriched red beet root (*Beta vulgaris* L.) dried extracts. *Food Chem*, 127(1), 42-53.
- Nguyen, C., Nguyen, H. (2018). The quality of mulberry juice as affected by enzyme treatments. *Beverages*, 4(2), 41.
- Nur 'Aliaa, A. R., Siti Mazlina, M. K., Taip, F. S., Liew Abdullah, A. G. (2010). Response surface optimization for clarification of white pitaya juice using a commercial enzyme. *J Food Process Eng*, 33(2), 333-347.
- Özcan, K., Bilek, S. E. (2018). Kırmızı Pancardan Renk Maddesi Üretimi ve Stabilesinin Sağlanması. *Academic Food Journal*, 16(4), 439-449.
- Puri, M., Sharma, D., Barrow, C. J. (2012). Enzyme-assisted extraction of bioactives from plants. *Trends Biotechnol*, 30(1), 37-44.
- Puri, M., Sharma, D., Barrow, C. J., Tiwary, A. K. (2012). Optimisation of novel method for the extraction of steviosides from *Stevia rebaudiana* leaves. *Food Chem*, 132(3), 1113-1120.
- Ravichandran, K., Saw, N. M. M. T., Mohdaly, A. A., Gabr, A.M., Kastell, A., Riedel, H., Smetanska, I. (2013). Impact of processing of red beet on betalain content and antioxidant activity. *Food Res Int*, 50(2), 670-675.
- Sagu, S. T., Nso, E. J., Karmakar, S., De, S. (2014). Optimisation of low temperature extraction of banana juice using commercial pectinase. *Food Chem*, 151, 182-190.
- Sandri, I. G., Fontana, R. C., Barfknecht, D. M., da Silveira, M. M. (2011). Clarification of fruit juices by fungal pectinases. *LWT-Food Sci Technol*, 44(10), 2217-2222.
- Santamaria, R. I., Reyes-Duarte, M. D., Barzana, E., Fernando, D., Gama, F. M., Mota, M., Lopez-Munguia, A. (2000). Selective enzyme-mediated extraction of capsaicinoids and carotenoids from

chili guajillo puya (*Capsicum annuum* L.) using ethanol as solvent. *J Agric Food Chem*, 48(7), 3063-3067.

Sin, H. N., Yusof, S., Hamid, N. S. A., Rahman, R. A. (2006). Optimization of enzymatic clarification of sapodilla juice using response surface methodology. *J Food Eng*, 73(4), 313-319.

Tekin, E., Türe, H., Barutçu, İ. (2018). Sıcaklık, askorbik asit ve pH'nın kırmızı pancar (*Beta vulgaris* L.) betasiyaninlerinin bozunma kinetiği üzerine etkilerinin incelenmesi. *Uludağ Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Dergisi*, 23(2), 217-232.

Truong, N. M., Dang, Q. T. (2016). Application of hydrolytic enzymes for improvement of red dragon fruit juice processing. *Asia Pacific J Sus Agri Food Energy*, 4(1), 1-4.

Turp, G., Kazan, H., Ünübol, H. (2016). Sosis Üretiminde Doğal Renk Maddesi ve Antioksidan

Olarak Kırmızı Pancar Tozu Kullanımı. *CBU J of Sci*, 12(2), 303-311.

Wiczowski, W., Romaszko, E., Szawara-Nowak, D., Piskula, M. K. (2018). The impact of the matrix of red beet products and interindividual variability on betacyanins bioavailability in humans. *Food Res Int*, 108, 530-538.

Yılmaz, F. M., Bilek, S. E. (2018). Ultrasound-assisted vacuum impregnation on the fortification of fresh-cut apple with calcium and black carrot phenolics. *Ultrason Sonochem*, 48, 509-516.

Zhao, Z., Moghadasian, M. H. (2008). Chemistry, natural sources, dietary intake and pharmacokinetic properties of ferulic acid: A review. *Food Chem*, 109(4), 691-702.