

ENDÜSTRİYEL DOMATES ATIKLARINDAN KAROTENOİD EKSTRAKSİYONUNUN YANIT YÜZEY YÖNTEMİ İLE OPTİMİZASYONU

İnci Cerit*, Eda Nur Erdem, Mahmut Yıldırım, Mehmet Emin Dursun,
Sercan Tekgül, Zeynep Kaya, Omca Demirkol

Sakarya Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Sakarya, Türkiye

Geliş/ Received: 16.01023; Kabul/ Accepted: 12.03.2023; /Online baskı: Published online 31.03.2023

Cerit, İ., Erdem, E. N., Yıldırım, M., Dursun, M. E., Tekgül, S., Kaya, Z., Demirkol, O. (2023). Endüstriyel domates atıklarından karotenoid ekstraksiyonunun yanıt yüzey yöntemi ile optimizasyonu. GIDA (2023) 48 (2) 459-470 doi: 10.15237/ gida.GD23012

Cerit, İ., Erdem, E. N., Yıldırım, M., Dursun, M. E., Tekgül, S., Kaya, Z., Demirkol, O. (2023). Optimization of carotenoid extraction from industrial tomato waste by response surface methodology. GIDA (2023) 48 (2) 459-470 doi: 10.15237/ gida.GD23012

ÖZ

Bu çalışmada, bir domates işleme tesisinden temin edilen atıklardan geleneksel ve ultrason destekli yöntemle karotenoid ekstraksiyonu yapılmıştır. Çözücü olarak etil asetat kullanılmış ve yanıt yüzey yöntemi (response surface methodology, RSM) ile ultrason işleminde uygulanacak parametreler optimize edilmiştir. Ekstraksiyon şartlarından sıcaklık sabit tutularak ultrasonik güç (30-60-90 W), katı:çözgen oranı (1:10, 1:30, 1:50 g/mL) ve süre (5-20-35 dk) üzerinde çalışılmış, elde edilen ekstraktların karotenoid içeriği HPLC cihazında belirlenmiştir. Ayrıca geleneksel yöntemde domates kabuğu:etil asetat oranı 1:30 g/mL olacak şekilde ayarlanarak 75°C'de 120 dk ekstraksiyon işlemi gerçekleştirilmiştir. Box-Benhen tasarımı yardımıyla belirlenen parametreler doğrultusunda örnek:çözücü oranı 1:50, süre 35 dk, güç 60 W koşullarında en yüksek likopen (197.12 mg/kg) ve β-karoten (12.95 mg/kg) miktarları elde edilmiştir. Geleneksel yöntemle karşılaştırıldığında ultrason ekstraksiyonunda likopen miktarı %21.4 daha az, β-karoten miktarı ise %11.0 daha fazla olduğu belirlenmiştir. Uygulanan tasarımda likopen için uyumlu olan model ikinci dereceden polinom olurken, β-karoten için doğrusal modelin uygun olduğu tespit edilmiştir.

Anahtar kelimeler: Domates atığı, likopen, β-karoten, ultrases, ekstraksiyon

OPTIMIZATION OF CAROTENOID EXTRACTION FROM INDUSTRIAL TOMATO WASTE BY RESPONSE SURFACE METHODOLOGY

ABSTRACT

In this study, carotenoid extraction was performed by conventional and ultrasound-assisted method (UAE) from wastes obtained from a tomato processing plant. Ethyl acetate was used as the solvent and parameters were optimized by the response surface methodology (Box-Benhen design). The

* Sorumlu yazar / Corresponding author

✉: incicantik@sakarya.edu.tr

☎: (+90) 264 295 5847

İnci Cerit; ORCID no: 0000-0002-3106-8951

Eda Nur Erdem; ORCID no: 0000-0002-0341-9240

Mahmut Yıldırım; ORCID no: 0000-0001-8942-5483

Mehmet Emin Dursun; ORCID no: 0000-0003-3201-3781

Sercan Tekgül; ORCID no: 0000-0003-4452-4538

Zeynep Kaya; ORCID no: 0000-0002-5891-2307

Omca Demirkol; ORCID no: 0000-0002-6026-5997

temperature was kept constant and ultrasonic power (30-60-90 W), solid:solvent ratio (1:10, 1:30, 1:50 g/mL) and time (5-20-35 min) were studied. In addition, in the conventional method, the tomato peel:solvent ratio was 1:30 g/mL and the extraction process was carried out at 75°C for 120 min. The highest lycopene (197.12 mg/kg) and β -carotene (12.95 mg/kg) amounts were obtained at solid:solvent ratio of 1:50 g/mL, extraction time of 35 min, and ultrasonic power of 60 W. The amount of lycopene and β -carotene was 21.4% less and 11.0% more in UAE, respectively. The fit model for lycopene was quadratic-polynomial, while the linear model was found to be suitable for β -carotene.

Keywords: Tomato waste, lycopene, β -carotene, ultrasound, extraction

GİRİŞ

Latince adı *Solanum lycopersicum* L. olan domates, Solanaceae (Patlıcangiller) familyasına ait olup tüketim ve üretim miktarı açısından en önemli sebzeler arasında yer almaktadır. Domatesin dünyaya yayıldığı yer Avrupa olmasına karşın Türkiye, Çin, Hindistan, ABD ve Mısır gibi ülkeler en önemli domates üreticilerindedir (Durmuş vd., 2018). 2020 yılı Gıda ve Tarım Örgütü (FAO) verilerine göre 64.8 milyon ton domates üretimi ile Çin, Dünya domates üretiminde ilk sıradadır. 20.6 milyon ton ile Hindistan ikinci, 13.2 milyon ton ile Türkiye üçüncü sırada yer almaktadır (FAO, 2020). Domates taze tüketiminin yanı sıra gıda sanayisinde salça, sos, ketçap, turşu, domates suyu, domates püresi ve konsantre domates suyu olarak da yaygın bir şekilde işlenmekte ve tüketime sunulmaktadır. Ancak domatesin %5-30 kadarını kabuk ve çekirdek oluşturmaktadır ki bu da oldukça yüksek miktarda bitkisel atık anlamına gelmektedir (Gheonea vd., 2021). Domates atıklarının kontrolü, domates işleme fabrikalarının karşılaştığı en önemli problemlerden biridir. Açığa çıkan atıklar genellikle hayvan yemi ve gübre gibi ekonomik olarak düşük değerli olan ürünlerin üretilmesinde kullanılmaktadır (Strati ve Oreopoulou, 2014). Oysa ki besin değeri ve biyoaktif bileşen özellikleri düşünüldüğünde domates atıklarının değerlendirilmesi hem çevresel faktörler hem de ekonomik nedenlerden dolayı önem arz etmektedir (Işık ve Yapar, 2017). Domates işlenirken açığa çıkan posanın yaklaşık %44'ünü çekirdek ve %56'sını meyve eti ve kabuğu oluşturmaktadır. Posada tokoferoller, polifenoller ve karotenoidler gibi önemli biyoaktif bileşenler bulunmaktadır (Dolatabadi vd., 2016; Munde vd., 2017). Domates atığı, özellikle karotenoidler açısından zengindir ve büyük çoğunluğunu kabukta barındırmaktadır. Kalogeropoulos vd. (2012) tarafından yapılan bir

çalışmada, domates atığında bulunan majör karotenoidlerin likopen (413.7 μ g/g kuru madde) ve β -karoten (149.8 μ g/g kuru madde) olduğu belirlenmiştir. Bazı mikroorganizmalar tarafından da sentezlenen lipofilik özelliğe sahip karotenoidler, farklı meyve ve sebzelerde turuncu ile kırmızı renk aralığında bulunan pigmentlerin bir grubudur ve mevcut fonksiyonel grupların tipine bağlı olarak, ksantofil ve karotenler olmak üzere iki gruba ayrılmaktadır (Khalid vd., 2019). Provitamin A ve antioksidan aktivite gibi fonksiyonlara sahip oldukları için bağışıklık sisteminin güçlendirilmesi, kanser, kardiyovasküler hastalıklar, katarakt ve maküler dejenerasyon gibi dejeneratif hastalık riskinin azaltılmasında önemli rol oynarlar. Biyolojik özelliklerinin yanı sıra karotenoidler, fonksiyonel gıdaların formülasyonunda yer alır veya gıda sistemlerinde raf ömrünü uzatmak için kullanılırlar. Aynı zamanda likopen ve β -karoten, çeşitli gıda ürünlerinin renklendirilmesinde kullanılabilen doğal boyalardır (Strati ve Oreopoulou, 2014). Tüm bu nedenlerle, domates atıklarından karotenoid ekstraksiyonu hem çevre kirliliğinin önüne geçmek hem de ekonomik katkı oluşturmak için değerlendirilmelidir.

Ekstraksiyon işleminde en önemli parametrelerden biri uygulanacak yöntem ve çözücü seçimidir. Araştırmacılar, geleneksel yöntemlere alternatif olarak son yıllarda süper kritik karbondioksit ekstraksiyonu, enzim ekstraksiyonu, ultrason ve mikrodalga destekli ekstraksiyon gibi uygulamalara yönelmiştir (Ashraf vd., 2022). Ekstraksiyon yöntemleri, uygulanan sıcaklık, basınç ve hücre parçalanması bakımından değişiklik göstermektedir. Örneğin soxhlet ekstraksiyonunda, kaynama sıcaklığında ve ortam basıncında çözücüler kullanılırken süper kritik sıvı ekstraksiyonu düşük sıcaklık ve yüksek

basınçta çalıştırılır. Buna karşılık ultrason destekli ekstraksiyon, darbeleri elektrik alanı destekli ekstraksiyon ve enzim destekli ekstraksiyonda, hücre içi bileşenlerin salınımının kolaylaştırılması için hücrelerin parçalanmasında sırasıyla ultrason dalgaları, yüksek voltaj darbeleri ve enzimler kullanılmaktadır (Saini ve Keum, 2018). Bu yöntemler arasında ultrason destekli ekstraksiyonun avantajları, zaman ve enerji açısından tasarruf sağlaması ve uygulamasının kolay olmasıdır (Carreira-Casais vd., 2021). Literatürde, karotenoid ekstraksiyonunda ultrasonun kullanıldığı çeşitli çalışmalar bulunmaktadır (Li vd., 2013; Civan vd., 2019; Silva vd., 2019; Umair vd., 2021).

Biyoaktif bileşen ekstraksiyonunda verimi etkileyen bir diğer önemli nokta kullanılacak çözücünün seçimidir. Karotenoidler suda çözünmediklerinden, heksan veya petrol eteri gibi organik çözücülerin kullanımına ihtiyaç vardır (Ho vd., 2015). Ancak bu çözücüler petrol türevli olduğundan çevreye olumsuz etkileri bulunmaktadır ve güvenli kullanım ve depolama prosedürlerinin uygulanması gerekmektedir. Organik çözücülerin kullanımıyla ilgili dezavantajların üstesinden gelmek için yeşil kimya ilkeleri kullanılarak alternatif stratejiler geliştirilebilmektedir. Yeşil çözücüler, düşük toksisite, biyolojik olarak parçalanabilirlikleri ve petrol dışı kaynaklardan sürdürülebilir üretimleri nedeniyle geleneksel organik çözücülere alternatif olmaktadır (Cascant vd., 2017). Bu çözücülere, lipofilik bileşiklerin ekstraksiyonu için yaygın olarak kullanılan çevre dostu bir organik çözücü olan etil asetat örnek olarak verilebilir. Biyobazlı etanolden üretilebilir, havada ve suda biyolojik olarak parçalanabilir olduğu için etil asetat, heksana alternatif olarak düşünülmektedir (Silva vd., 2019).

Bu çalışmanın amacı, yeşil çözücü olarak bilinen etil asetatın ultrason teknolojisi ile endüstriyel domates atıklarından karotenoid ekstraksiyonunda kullanılması ve yanıt yüzey yöntemi ile proses parametrelerinin optimize edilmesidir. Ekstraksiyon parametrelerinden sıcaklık sabit tutularak ultrasonik güç, katı:çözgen oranı ve süre üzerinde çalışılmıştır. Elde edilen

ekstraktların karotenoid içeriği HPLC cihazı ve PDA dedektör yardımıyla belirlenmiştir.

MATERYAL VE YÖNTEM

Materyal

Bu çalışma için gerekli olan domates atığı 2021 yılı Ağustos ayında Bursa'da faaliyet gösteren Tat Gıda Fabrikasından, fabrika atığı (kabuk + çekirdek) olarak temin edilmiştir. Domates atıkları -18 °C'de dondurulmuş ve daha sonra liyofilizatör (Labconco, ABD) yardımıyla -50°C'de 48 saat boyunca kurutulmuştur. Örneklere kuru madde analizi uygulanmış ve kuru madde miktarı %94.0 olarak belirlenmiştir. Kuruyan örnekler, yüzey alanını arttırmak amacıyla öğütülmüş ve homojen bir hammadde elde etmek için 70 mesh elekten geçirilmiştir. Ekstraksiyon işlemine kadar 4°C sıcaklıkta ve karanlıkta muhafaza edilmiştir.

Geleneksel yöntem ile ekstraksiyon

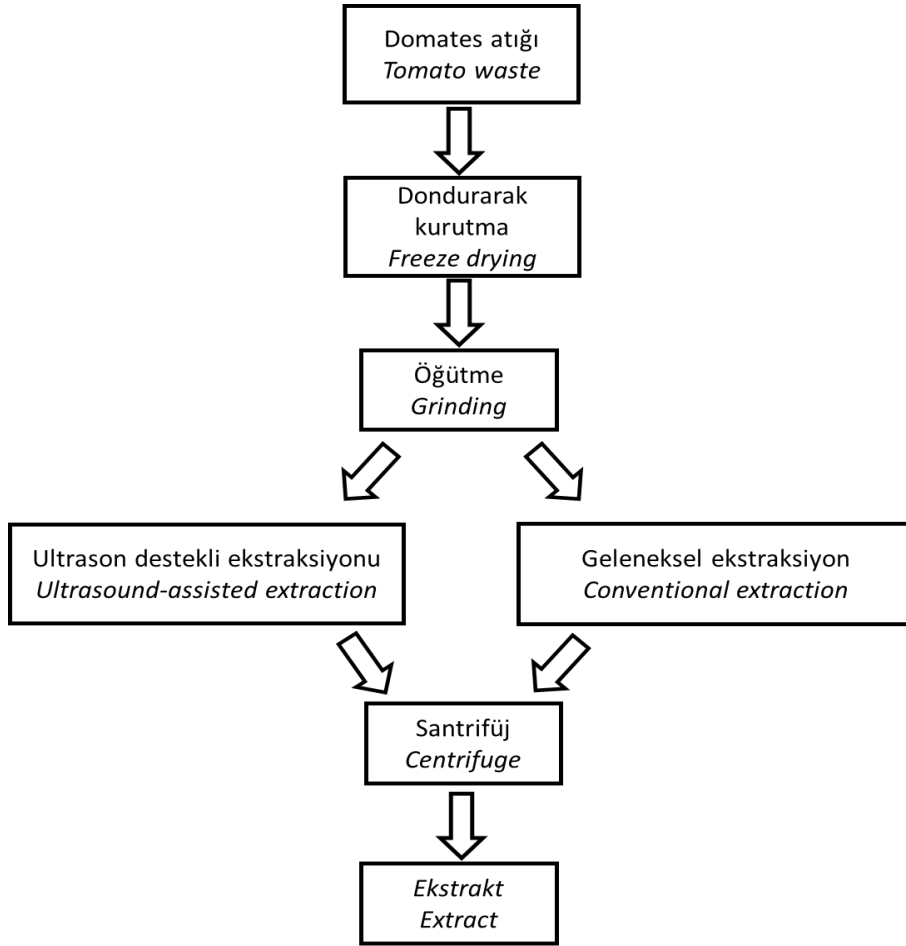
Geleneksel organik çözücü yöntemi ile ekstraksiyon Martinez-Hernandez ve arkadaşlarının (2019) çalışmasına göre yapılmıştır. Domates kabuğu:etil asetat oranı 1:30 g/mL oranında ayarlanmıştır. Karışım 75°C'de 120 dk çalkalamalı su banyosunda bekletilmiştir. Santrifüjlenen (9000 x g, 15°C, 10 dk) karışımda üst faz ayrılmış ve analizler için 4°C'de bekletilmiştir (Şekil 1).

Ultrason destekli ekstraksiyon

Ekstraksiyon işlemi için 200 W ve 24 kHz'lik ultrasonik ekstraksiyon cihazı (Bandelin HD2200, Almanya) kullanılmıştır. Ultrason kabine 4.5 mm çapa ve 130 mm uzunluğa sahip olan TS104 Prob sabit olarak yerleştirilmiştir. Hacmi 100 mL olan cam bir beherin içerisine örnekten 1.67 g, çözücünden ise 50 mL konulmuş ve prob yüzeyden 1.5 cm içeri girecek şekilde daldırılmıştır. Sıcaklığı sabit tutmak için (20°C±2) beher, bir buz banyosuna yerleştirilmiş ve sıcaklık sürekli olarak takip edilmiştir. Ekstraksiyon çözücüsünü belirlemek amacıyla, literatürde bazı çalışmalarda (Calvo vd., 2007; Rahimi ve Mikani, 2019) yer alan gıda saflığındaki (food grade) etil asetat, etil alkol ve ayçiçek yağı kullanılarak ön denemeler gerçekleştirilmiştir. Denemelerde, ekstraksiyon parametreleri olarak daha önce yapılan çalışmalarda (Yılmaz vd., 2017; da Silva vd., 2020)

kullanılan parametreler baz alınarak, katı:çözgen oranı 1:30, ultrason gücü 60 W ve süre ise 20 dakika olarak uygulanmıştır. Yapılan karotenoid analizi sonucunda en yüksek karotenoid miktarı

etil asetat ile elde edilmiş olup (Çizelge 1), ekstraksiyon çözücüsü olarak etil asetat kullanılmıştır.



Şekil 1. Geleneksel ve ultrason destekli yöntemlerle karotenoid ekstraksiyonu
Figure 1. Carotenoid extraction by conventional and ultrasound-assisted methods

Çizelge 1. Farklı çözücüler kullanılarak elde edilen likopen ve β -karoten miktarlarına (kuru madde üzerinden) ait ön deneme sonuçları

Table 1. Preliminary results of lycopene and β -carotene obtained using different solvents (based on dry matter)

Çözücü Solvent	Likopen (mg/kg) Lycopene (mg/kg)	β -karoten (mg/kg) β -carotene (mg/kg)
Ayçiçek yağı Sunflower oil	te nd	te nd
Etül alkol Ethyl alcohol	125.46 \pm 4.18	12.34 \pm 0.51
Etül asetat Ethyl acetate	229.22 \pm 5.12	12.05 \pm 0.45

te: tespit edilemedi
nd: not detected

Yanıt yüzey yöntemi uygulaması

Domates atıklarından ultrason yöntemiyle karotenoid ekstraksiyonunda katı:çözgen oranı, süre ve ultrasonik gücün etkileri yanıt yüzey metodu kullanılarak Box-Behnken tasarım ile incelenmiş ve optimum koşullar belirlenmiştir. Bağımsız değişkenlerin alt ve üst limitleri ön denemeler ile belirlenmiştir. 3 farklı katı:çözgen oranı (1:10, 1:30, 1:50 g/mL), 3 farklı süre (5-20-35 dk) ve 3 farklı güç (30-60-90 W) olmak üzere 3 faktör ile çalışılmıştır (Çizelge 2). Üçü merkez nokta olmak üzere 15 deneyden oluşan deneysel tasarımın bağımlı değişkenlerini likopen ve β -karoten miktarları oluşturmuştur. Optimizasyon, Design-Expert (Design-Expert 7.0, USA) istatistik programı kullanılarak yapılmıştır. Deneysel verilerde herhangi bir dönüşüm uygulanmamıştır.

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

HPLC ile karotenoid miktarının belirlenmesi

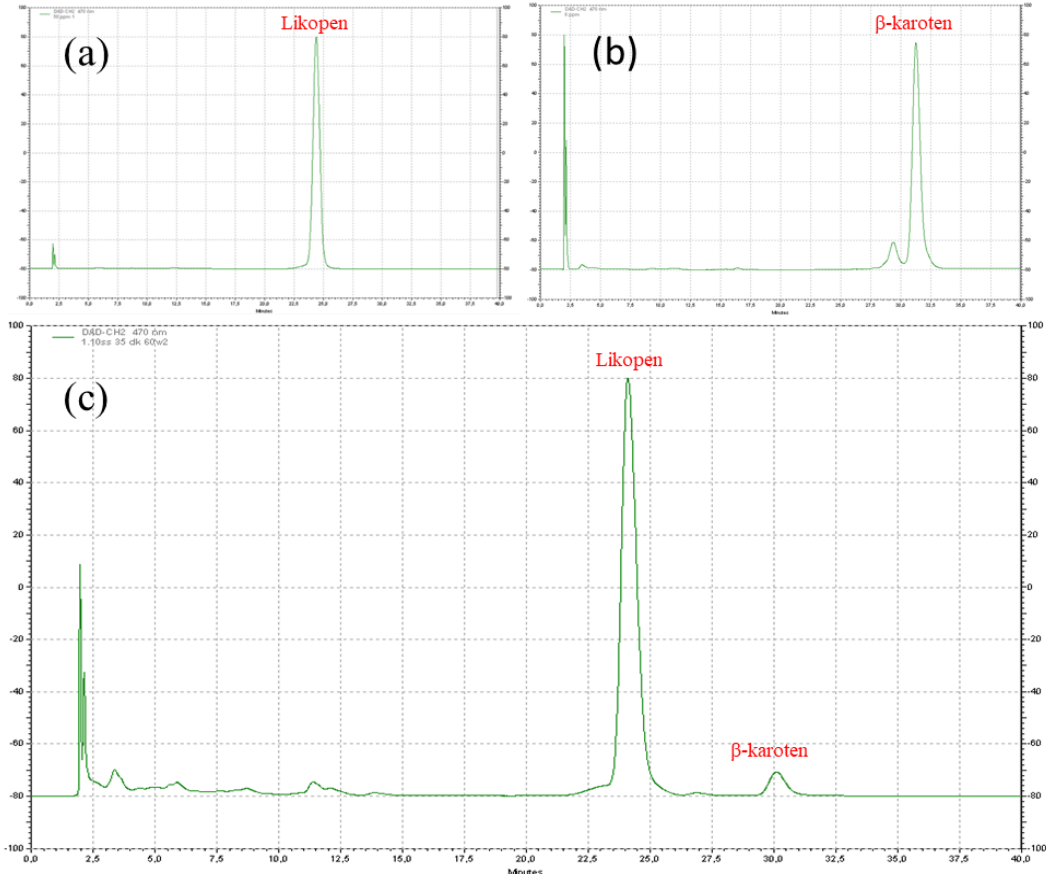
Elde edilen ekstraktlar, şırınga yardımıyla 0.45 mikron filtreden geçirilip süzülerek şişelere aktarılmış ve HPLC cihazına enjekte edilmiştir. Dolgu maddesinin çapı 3 μ m, iç çapı 4.6 mm ve uzunluğu 150 mm olan kolon (GL Sciences Inertsil ODS-3 Tokyo, Japonya) kullanılmıştır. Örneklerin karotenoid içeriklerini belirlemede kullanılan HPLC sistemi (Hitachi, Tokyo, Japonya) L-2130 pompa, L-2300 fırın, L-2200 otomatik örnekleme sistemi ve L-2455 PDA (Photo Diode Array) dedektör içermektedir. Dedektörün dalga boyu 470 nm olarak ayarlanmıştır. Mobil faz olarak metanol:tetrahidrofur (95:5) isokratik çözeltisi kullanılmıştır. Kolon sıcaklığı 30°C, mobil fazın akış hızı 1.0 mL/dk ve enjeksiyon hacmi ise 20 μ L olarak belirlenmiştir. Bileşiklerin miktarlarını belirlemek amacıyla, 0-50 mg/L aralığında likopen ve 0-10 mg/L aralığında β -karoten standart çözeltileri hazırlanarak kalibrasyon eğrileri elde edilmiştir ($R^2_{\text{likopen}}=0.9968$; $R^2_{\beta\text{-karoten}}=0.9984$). Her bir örnek üçer defa analiz edilmiş ve ortalama değerler kullanılmıştır.

SONUÇ VE TARTIŞMA

Ekstraksiyon çözücüsünün domates kabuğunun likopen ve β -karoten miktarı üzerine etkisi

Ekstraksiyon işleminde kullanılan çözücü seçiminin verim üzerine oldukça etkili olduğu bilinmektedir (Kunthakudee vd., 2020). Bu çalışmanın ön denemelerinde, karotenoid ekstraksiyonunda literatürde kullanılan 3 farklı çözücü seçilmiştir. Ekstraksiyon koşulları olarak ultrason uygulaması için belirlenen koşulların orta noktalarında (katı:çözgen oranı 1:30, ultrason gücü 60 W ve süre 20 dk) denemeler gerçekleştirilmiştir. Likopen, β -karoten ve örneğe ait kromatogramlar Şekil 2'de verilmiştir. Karotenoidlerin UV-Vis spektrumları 470 nm dalga boyunda incelenmiş ve elde edilen ekstraktlarda en fazla likopen ve β -karoten olduğu, diğer karotenoidlerin (lutein, α -karoten vb.) ise tespit edilebilir sınırlar içerisinde yer almadığı belirlenmiştir.

Çizelge 1'de gösterildiği gibi ayçiçek yağı kullanılarak yapılan ekstraksiyon işleminde likopen tespit edilemezken etil asetatın kullanılmasıyla daha yüksek verim elde edilmiştir (likopen_{etil alkol}:125.46 mg/kg, likopen_{etil asetat}:229.22 mg/kg). Benzer şekilde ayçiçek yağı ile yapılan ekstraksiyon işleminde β -karoten belirlenmemiştir. Kullanılan diğer iki çözücü arasında ise β -karoten konsantrasyonu açısından önemli farkın olmadığı belirlenmiştir (β -karoten_{etil alkol}:12.34 mg/kg, β -karoten_{etil asetat}:12.05 mg/kg). Azabou vd. (2020) tarafından yapılan bir çalışmada domates kabuğundan biyoaktif bileşen ekstraksiyonunda distile su, etanol, dietil eter, aseton ve hekzan kullanılmış ve en yüksek verim polar olmayan çözümler olan hekzan ve asetonla elde edilmiştir. Bu çalışmada da polaritesi daha düşük olan etil asetat ile daha yüksek likopen verimi elde edildiği görülmektedir. Ayçiçek yağında karotenoid tespit edilememesi, yüksek viskozite değeri ile ilişkilendirilebilir. Düşük viskozitenin ekstraksiyon işlemi sırasında matris boyunca iyi bir çözücü migrasyonu sağladığı ve böylelikle verimi arttırdığı düşünülmektedir (Goula vd., 2017). Bu sonuçlardan yola çıkarak çalışmanın devamında çözücü olarak etil asetat kullanılmıştır.



Şekil 2. Likopen standardı (a), β -karoten standardı (b) ve örneğe (c) ait HPLC kromatogramları
Figure 2. HPLC chromatograms of lycopene standard (a), β -carotene standard (b) and sample (c)

Likopen ve β -karoten ekstraksiyonunun optimizasyonu ve model analizi

Deney tasarımı yöntemleri günümüzde birçok farklı alanda sıklıkla kullanılmaya başlanmıştır. Bu yöntemler sayesinde deney sayısının azaltılmasıyla birlikte zamandan ve maliyetten tasarruf sağlanmaktadır. Özellikle, Box-Behnken tasarımı, ana faktörü ve optimize edilmiş parametreleri elde etmek için deneylerin istatistiksel planlamasında yaygın olarak kullanılmaktadır. Box-Behnken genellikle daha az tasarım noktasına sahiptir, bu nedenle daha ucuz ve kolaydır. Box-Behnken, ikinci dereceden modelin parametrelerinin tahmin edilmesine, sıralı tasarımların oluşturulmasına ve modelin uyum eksikliğinin tespit edilmesine izin verdiği için yanıt yüzey metodolojisi için kullanılan iyi bir yöntemdir (Yogita ve Dipak, 2017; Kunthakudee vd., 2020).

Yapılan ön denemelerde örnek:çözücü, süre ve ultrasonik güç parametrelerinin likopen ve β -karoten ekstraksiyonu üzerinde değişken olduğu saptanmıştır. Bu nedenle proses değişkenleri olarak katı:çözgen oranı (1:10, 1:30, 1:50 g/mL), süre (5-20-35 dk) ve gücün (30-60-90 W) ekstraksiyon verimi üzerine etkileri değerlendirilmiştir. Box-Behnken tasarımı yardımıyla belirlenen parametreler doğrultusunda gerçekleştirilen analizlerin sonucu Çizelge 2'de verilmiştir. En yüksek likopen (197.12 mg/kg) ve β -karoten (12.95 mg/kg) verimi örnek:çözücü oranının 1:50, sürenin 35 dk ve gücün 60 W olduğu koşullarda elde edilmiştir. Geleneksel yöntemle yapılan ekstraksiyon sonucu elde edilen verilerle karşılaştırıldığında (likopen: 250.71 mg/kg; β -karoten: 11.52 mg/kg), ultrason ekstraksiyonu ile likopen miktarının %21.4 daha az, β -karoten miktarının ise %11.0 daha fazla olduğu belirlenmiştir.

Çizelge 2. Box-Behnken tasarım için kullanılan bağımsız değişkenler ve seviyeleri
 Table 2. Independent variables and their levels used for Box-Behnken design

Deney No <i>Experiment No</i>	Bağımsız değişkenler <i>Independent variables</i>			Bağımlı değişkenler <i>Dependent variables</i>	
	Örnek:Çözücü (g/mL) <i>Solid:Solvent</i> (g/mL)	Süre (dk) <i>Time</i> (min)	Güç (W) <i>Power</i> (W)	Likopen (mg/kg) <i>Lycopene</i> (mg/kg)	β -karoten (mg/kg) <i>β-carotene</i> (mg/kg)
1	1:30	20	60	165.67	11.47
2	1:50	35	60	197.12	12.95
3	1:50	20	90	187.39	13.04
4	1:10	20	90	140.71	10.27
5	1:30	35	30	162.87	11.55
6	1:30	5	90	138.33	10.12
7	1:30	20	60	159.36	10.86
8	1:30	20	60	164.18	11.54
9	1:10	35	60	153.94	10.55
10	1:30	5	30	131.82	10.10
11	1:30	35	90	175.58	11.92
12	1:50	20	30	173.06	11.95
13	1:10	20	30	120.23	9.13
14	1:10	5	60	122.25	9.22
15	1:50	5	60	168.18	11.57

Etil asetat-etil laktat çözümleri kullanılarak domates atıklarından likopen ekstraksiyonunun yapıldığı bir çalışmada, ultrason yöntemi ve geleneksel yöntem karşılaştırılmıştır. Box-Behnken tasarımında optimizasyon parametreleri olarak sıcaklık, etil asetat oranı, katı:çözgen oranı ve süre belirlenmiştir. Çalışmada en yüksek likopen miktarı 1334 $\mu\text{g/g}$ olarak tespit edilirken aynı koşullarda geleneksel ekstraksiyonda %9.4 daha az verim elde edildiği rapor edilmiştir (Silva vd., 2019). Civan ve arkadaşları (2019) tarafından yapılan başka bir çalışmada, acı biber salçası atığından elde edilen posadan karotenoid eldesinde ultrason destekli ekstraksiyon uygulanmıştır. Farklı sıcaklık (30, 40, 50, 60°C) ve sürenin (5, 10, 15, 20 dk) ekstraksiyon üzerine etkisinin incelendiği çalışmada, daha düşük enerji ile daha yüksek verimde karotenoid (182.90-184.60 mg/100 g) elde edildiği tespit edilmiştir.

Likopen ve β -karoten içeriklerine dayalı ekstraksiyon parametrelerinin varyans analizleri (ANOVA) ve regresyon katsayıları Çizelge 3 ve Çizelge 4'te gösterilmiştir. Uygulanan Box-Benkhen tasarımında likopen için uyumlu olan

model ikinci dereceden polinom olurken, β -karoten için doğrusal modelin uygun olduğu görülmüştür. Bağımsız değişkenlerin bağımlı değişkenler üzerinde önemli etkileri olduğu tespit edilmiştir. R^2 değerlerine bakıldığında likopen ve β -karoten için sırasıyla 0.9899 ve 0.9447 olarak belirlenmiştir. R^2 değerlerinin 1'e yakın olması, modelin yüksek bir F değerine sahip olması ve uyum eksikliğinin önemsiz çıkması modellerin verileri yeterince temsil ettiğini göstermektedir (Gençdağ vd., 2019). Çizelge 3 ve 4 incelendiğinde örnek:çözücü, süre ve güç parametrelerinin likopen ve β -karoten ekstraksiyonu üzerinde etkileri istatistiki açıdan önemli bulunmuştur. Ayrıca gücün likopen miktarı üzerine ikinci derece etkisinin de önemli olduğu görülmektedir.

Bağımsız değişkenlerin likopen miktarı üzerine etkisi Şekil 3'te gösterilmiştir. Uygulanan ultrason gücünün artmasıyla birlikte likopen miktarının da belirli bir noktaya kadar artış gösterdiği, ardından azaldığı gözlenmiştir. Bir diğer bağımsız değişken olan örnek:çözücü oranları incelendiğinde, örnek miktarı ile çözücü hacmi arasındaki fark arttıkça verimin arttığı, en yüksek verimin 1:50 g/mL

oranında elde edildiği görülmektedir. Uygulama süresi ile likopen verimi arasındaki ilişki paralel olurken artışın belli bir süreden sonra azalarak devam ettiği görülmektedir. Domates atıklarından likopen ekstraksiyonunun ayçiçek yağı kullanılarak yapıldığı bir çalışmada ultrasonik güç, katı:çözgen oranı ve süre bağımsız değişkenler olarak belirlenmiş ve yanıt yüzey yöntemi uygulanmıştır. Çalışma sonuçlarına göre,

katı:çözgen oranı ekstraksiyon verimi üzerinde etkili bir parametre olmazken süre ve ultrasonik gücün ekstraksiyonu önemli oranda etkilediği vurgulanmıştır (Rahimi ve Mikani, 2019). Şekil 4'te ise bağımsız değişkenlerin β -karoten ekstraksiyonu üzerine etkileri görülmektedir. Ultrason gücü, süre ve örnek miktarı ile çözücü hacmi arasındaki fark arttıkça β -karoten veriminin doğrusal olarak arttığı belirlenmiştir.

Çizelge 3. Likopen içeriğine dayalı ekstraksiyon parametrelerinin optimizasyonu için ikinci dereceden polinom modeli varyans analizi (ANOVA).

Table 3. Analysis of variance (ANOVA) for the quadratic polynomial model for optimization of extraction parameters based on lycopene content.

Kaynak Source	Kareler Toplamı Sum of squares	Serbestlik Derecesi Degree of freedom	Kareler Ortalaması Mean squares	F-değeri F- value	p-değeri p- value	Sonuç Result
Model / Model	6334.99	9	703.89	54.69	0.0002	Önemli Significant
A-Örnek:Çözücü A- Solid:Solvent	3929.41	1	3929.41	305.28	< 0.0001	
B-Süre B-Time	1836.18	1	1836.18	142.66	< 0.0001	
C-Güç C-Power	322.58	1	322.58	25.06	0.0041	
AB	1.68	1	1.68	0.1303	0.7329	
AC	8.32	1	8.32	0.6466	0.4578	
BC	8.50	1	8.50	0.6602	0.4534	
A ²	0.2090	1	0.2090	0.0162	0.9036	
B ²	28.27	1	28.27	2.20	0.1984	
C ²	206.98	1	206.98	16.08	0.0102	
Kalan Residual	64.36	5	12.87			
Uyum eksikliği Lack of fit	45.29	3	15.10	1.58	0.4097	Önemsiz Not significant
Hata Pure error	19.07	2	9.53			
Düzeltilmiş toplam Correlated total	6399.35	14				

R²=0.9899, Ayarlanmış R² /Adjusted R² =0.9718, Tahmin edilen R² /Predicted R²=0.8801

Model denklemi/ Model equation=153.28 + 22.16A + 15.15B + 6.35C - 0.6475AB - 1.44AC + 1.46BC + 0.2379A² - 2.77B² - 7.49C²

Domates atıklarından karotenoid ekstraksiyonunun optimizasyonu

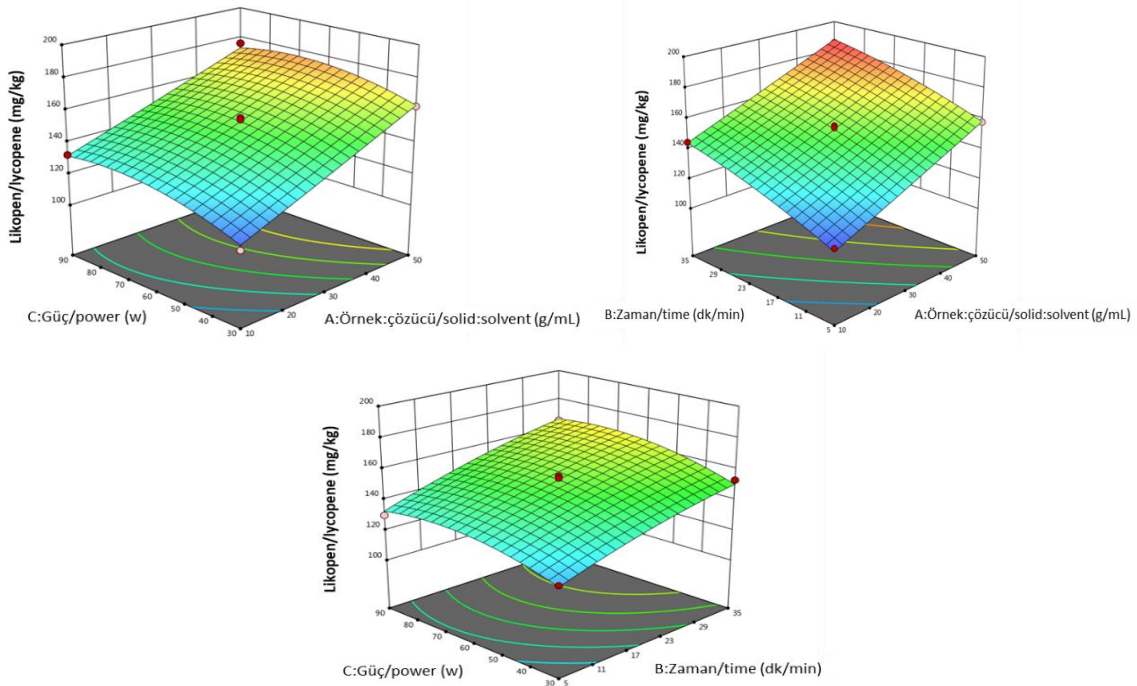
Çizelge 4. β -karoten içeriğine dayalı ekstraksiyon parametrelerinin optimizasyonu için doğrusal model varyans analizi (ANOVA).

Table 4. Analysis of variance (ANOVA) for the linear model for optimization of extraction parameters based on β -carotene content.

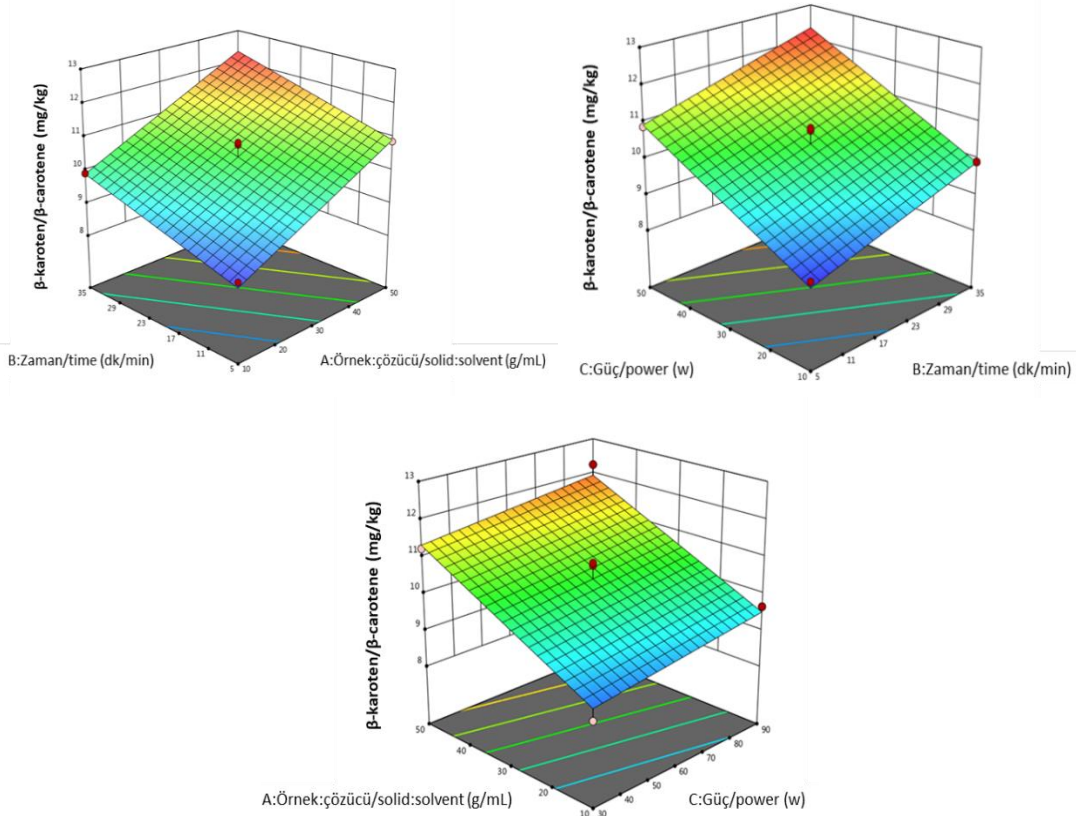
Kaynak Source	Kareler Toplamı Sum of squares	Serbestlik Derecesi Degree of freedom	Kareler Ortalaması Mean squares	F-değeri F- value	p-değeri p-value	Sonuç Result
Model / Model	16.48	3	5.49	62.62	< 0.0001	Önemli Significant
A-Örnek:Çözücü A- Solid:Solvent	11.79	1	11.79	134.39	< 0.0001	
B-Süre B-Time	3.93	1	3.93	44.86	< 0.0001	
C-Güç C-Power	0.7565	1	0.7565	8.63	0.01351	
Kalan Residual	0.9647	11	0.0877			
Uyum eksikliği Lack of fit	0.7182	9	0.0798	0.6476	0.7349	Önemsiz Not significant
Hata Pure error	0.2465	2	0.1232			
Düzeltilmiş toplam Correlated total	17.44	14				

$R^2=0.9447$, Ayarlanmış R^2 / Adjusted $R^2=0.9296$, Tahmin edilen R^2 / Predicted $R^2=0.9021$

Model denklemi/ Model equation= $10.42 + 1.21A + 0.7012B + 0.3075C$



Şekil 3. Ultrason uygulamasına ait bağımsız değişkenlerin likopen miktarı üzerine etkileri
Figure 3. The effects of independent variables belonging ultrasound treatment on the lycopene content



Şekil 4. Ultrason uygulamasına ait bağımsız değişkenlerin β -karoten miktarı üzerine etkileri
Figure 4. The effects of independent variables belonging ultrasound treatment on the β -carotene content

SONUÇ

Bu çalışmada bir fabrikadan temin edilen domates atığından karotenoid ekstraksiyonunda geleneksel ve ultrason destekli yöntemler kullanılmıştır. Ayrıca ekstraksiyon parametrelerinin optimizasyonu için Box-Behnken tasarımı uygulanmıştır. En yüksek likopen ve β -karoten verimi örnek:çözücü oranının 1:50, sürenin 35 dk ve gücün 60 W olduğu koşullarda elde edilmiştir. Ultrason uygulamasının karotenoid ekstraksiyonunda kullanılması, zaman ve enerjiden tasarruf sağladığı ancak yüksek verim elde edebilmek için uygun parametre seçiminin önemli olduğu sonucuna varılmıştır. Ayrıca, elde edilen likopen ve β -karoten miktarları karşılaştırıldığında domates kabuğunda likopen miktarının çok daha fazla olduğu, belirlenecek parametrelerde bu durumun göz önünde bulundurulması gerektiği düşünülmektedir.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma Sakarya Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 2021-9-33-77 proje numarası ile desteklenmiştir.

ÇIKAR ÇATIŞMASI BEYANI

Bu makalede yazarların arasında herhangi bir çıkar çatışmasının olmadığını beyan ederiz.

YAZAR KATKISI

İnci Cerit: Çalışmanın planlanması ve yürütülmesi, laboratuvar analizleri, sonuçların analizi ve yorumlanması, makalenin yazımı, Eda Nur Erdem: Laboratuvar analizleri, Mahmut Yıldırım: Laboratuvar analizleri, Mehmet Emin Dursun: Laboratuvar analizleri, Sercan Tekgöl: Laboratuvar analizleri, Zeynep Kaya: Laboratuvar analizleri, Omca Demirkol: Çalışmanın planlanması ve yürütülmesi, sonuçların yorumlanması

KAYNAKLAR

- Ashraf, W., Latif, A., Lianfu, Z., Jian, Z., Chenqiang, W., Rehman, A., ... Karim, A. (2022). Technological advancement in the processing of lycopene: a review. *Food Reviews International*, 38(5): 857-883. doi: 10.1080/87559129.2020.1749653
- Azabou, S., Sebü, H., Taheur, F. B., Abid, Y., Jridi, M., Nasri, M. (2020). Phytochemical profile and antioxidant properties of tomato by-products as affected by extraction solvents and potential application in refined olive oils. *Food Bioscience*, 36: 100664. doi: 10.1016/j.fbio.2020.100664
- 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. doi:10.1007/s00217-006-0335-8
- Carreira-Casais, A., Otero, P., Garcia-Perez, P., GarciaOliveira, P., Pereira, A. G., Carpena, M., 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. doi: 10.3390/ijerph18179153
- Cascant, M.M., Breil, C., Garrigues, S., de la Guardia, M., Fabiano-Tixier, A.S., Chemat, F. (2017). A green analytical chemistry approach for lipid extraction: computation methods in the selection of green solvents as alternative to hexane. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 409: 3527-3539. doi: 10.1007/s00216-017-0323-9
- Civan, M., Kumcuoğlu, S., Tavman, Ş. (2019). Acı biber salçası atıklarından ultrason destekli ekstraksiyon işlemiyle karotenoid ekstraksiyonu. *Akademik Gıda*, 17(3): 351-361. doi: 10.24323/akademik-gida.647717
- da Silva Lima, R., Nunes, I. L., Block, J. M. (2020). Ultrasound-assisted extraction for the recovery of carotenoids from guava's pulp and waste powders. *Plant Foods for Human Nutrition*, 75: 63-69. doi: 10.1007/s11130-019-00784-0
- Dolatabadi Z., Elhami Rad A.H., Farzaneh V., Akhlaghi Feizabad S.H., Estiri S.H. and Bakhshabadi H. (2016). Modeling of the lycopene extraction from tomato pulps. *Food Chemistry*, 190:968. doi: 10.1016/j.foodchem.2015.06.069
- Durmuş, M., Yetgin, Ö., Abed, M. M., Haji, E. K., Akcay, K. (2018). Domates bitkisi, besin içeriği ve sağlık açısından değerlendirmesi. *International Journal of Life Sciences and Biotechnology*, 1(2): 59-74. doi: 10.38001/ijlsb.482443
- FAO, 2020. Alıntılanma adresi: <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL>
- Gençdağ, E., Görgüç, A., Birişik, M., Genç, E., Başkurt, C., Yılmaz, F. M. (2019). Kırmızı pancar suyu üretiminde enzim ön uygulaması: işlem koşullarının meyve suyu verimi, betanin miktarı, toplam fenolik madde ve antioksidan kapasite üzerine etkisi. *GIDA*, 44(4). doi: 10.15237/gida.GD19053
- Gheonea, I., Aprodu, I., Circiumaru, A., Râpeanu, G., Bahrim, G. E., Stănciuc, N. (2021). Microencapsulation of lycopene from tomatoes peels by complex coacervation and freeze-drying: Evidences on phytochemical profile, stability and food applications. *Journal of Food Engineering*, 288: 110166. doi: 10.1016/j.jfoodeng.2020.110166
- Goula, A. M., Ververi, M., Adamopoulou, A., Kaderides, K. (2017). Green ultrasound-assisted extraction of carotenoids from pomegranate wastes using vegetable oils. *Ultrasonics sonochemistry*, 34: 821-830. doi: 10.1016/j.ultsonch.2016.07.022
- Ho, K. K., Ferruzzi, M. G., Liceaga, A. M., San Martín-González, M. F. (2015). Microwave-assisted extraction of lycopene in tomato peels: Effect of extraction conditions on all-trans and cis-isomer yield, *LWT-Food Science and Technology*, 62(1): 160-168. doi: 10.1016/j.lwt.2014.12.061
- Isik, F., Yapar, A. (2017). Effect of tomato seed supplementation on chemical and nutritional properties of tarhana. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 11(2): 667- 674. doi: 10.1007/s11694-016-9436-7
- Khalid, M., Bilal, M., Iqbal, H. M., Huang, D. (2019). Biosynthesis and biomedical perspectives of carotenoids with special reference to human health-related applications. *Biocatalysis and*

- Agricultural Biotechnology*, 17: 399-407. doi: 10.1016/j.bcab.2018.11.027
- Kalogeropoulos, N., Chiou, A., Pyriochou, V., Peristeraki, A., Karathanos, V. T. (2012). Bioactive phytochemicals in industrial tomatoes and their processing byproducts. *LWT-Food Science and Technology*, 49(2): 213-216. doi: 10.1016/j.lwt.2011.12.036
- Kunthakudee, N., Sunsandee, N., Chutvirasakul, B., Ramakul, P. (2020). Extraction of lycopene from tomato with environmentally benign solvents: Box-Behnken design and optimization. *Chemical Engineering Communications*, 207(4): 574-583. doi: 10.1080/00986445.2019.1610882
- 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. doi: 10.1016/j.ultsonch.2012.07.005
- Martínez-Hernández, G. B., Castillejo, N., Artés-Hernández, F. (2019). Effect of fresh-cut apples fortification with lycopene microspheres, revalorized from tomato by-products, during shelf life. *Postharvest Biology and Technology*, 156: 110925. doi: 10.1016/j.postharvbio.2019.05.026
- Munde, P. J., Muley, A. B., Ladole, M. R., Pawar, A. V., Talib, M. I., Parate, V. R. (2017). Optimization of pectinase-assisted and tri-solvent-mediated extraction and recovery of lycopene from waste tomato peels. *Biotechnology*, 7(3): 1-10. doi: 10.1007/s13205-017-0825-3
- Rahimi, S., Mikani, M. (2019). Lycopene green ultrasound-assisted extraction using edible oil accompany with response surface methodology (RSM) optimization performance: Application in tomato processing wastes. *Microchemical Journal*, 146: 1033-1042. doi: 10.1016/j.microc.2019.02.039
- Saini, R. K., Keum, Y. S. (2018). Carotenoid Extraction Methods: A Review of Recent Developments. *Food Chemistry*, 240: 90-103. doi: 10.1016/j.foodchem.2017.07.099
- Silva, Y., Ferreira, T. A., Celli, G. B., Brooks, M. S. (2019). Optimization of lycopene extraction from tomato processing waste using an eco-friendly ethyl lactate-ethyl acetate solvent: a green valorization approach. *Waste and Biomass Valorization*, 10(10): 2851-2861. doi: 10.1007/s12649-018-0317-7
- Strati, I. F., Oreopoulou, V. 2014. Recovery of carotenoids from tomato processing by-products—a review. *Food Research International*, 65: 311-321. doi: 10.1016/j.foodres.2014.09.032
- Umair, M., Jabbar, S., Nasiru, M. M., Lu, Z., Zhang, J., Abid, M., Zhao, L. (2021). Ultrasound-assisted extraction of carotenoids from carrot pomace and their optimization through response surface methodology. *Molecules*, 26(22): 6763. doi: 10.3390/molecules26226763
- Yılmaz, T., Kumcuoglu, S., Tavman, S. (2017). Ultrasound-Assisted extraction of lycopene and β -carotene from tomato-processing Wastes. *Italian Journal of Food Science*, 29(1): 186-194.
- Yogita, B. W., Dipak, D. P. (2017). An experimental design approach for optimization of spectrophotometric method for estimation of cefixime trihydrate using ninhydrin as derivatizing reagent in bulk and pharmaceutical formulation, *Journal of Saudi Chemical Society*, 21: 101–111. doi: 10.1016/j.jscs.2013.11.001