T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ

FENOLİK İÇERİKLİ GIDA ATIK EKSTRAKTLARI VE PEYNİR ALTI SUYU TOZU İLE ZENGİNLEŞTİRİLMİŞ FONKSİYONEL İÇECEKLERİN GELİŞTİRİLMESİ

Eda FURTANA

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

GIDA MÜHENDİSLİĞİ

ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

HAZİRAN 2026

ANTALYA

T.C.

AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ

FENOLİK İÇERİKLİ GIDA ATIK EKSTRAKTLARI VE PEYNİR ALTI SUYU TOZU İLE ZENGİNLEŞTİRİLMİŞ FONKSİYONEL İÇECEKLERİN GELİŞTİRİLMESİ

Eda FURTANA

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

GIDA MÜHENDİSLİĞİ

ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

HAZİRAN 2026

ANTALYA

T.C.

AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

FENOLİK İÇERİKLİ GIDA ATIK EKSTRAKTLARI VE PEYNİR ALTI SUYU TOZU İLE ZENGİNLEŞTİRİLMİŞ FONKSİYONEL İÇECEKLERİN GELİŞTİRİLMESİ

Eda FURTANA

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

GIDA MÜHENDİSLİĞİ

ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Bu tez, TÜBİTAK Uluslararası PRIMA Programı tarafından 123N077 nolu proje ile desteklenmiştir.

HAZİRAN 2026

Evrak Tarih ve Sayısı: 01.07.2026-960

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

FENOLİK İÇERİKLİ GIDA ATIK EKSTRAKTLARI VE PEYNİR ALTI SUYU TOZU İLE ZENGİNLEŞTİRİLMİŞ FONKSİYONEL İÇECEKLERİN GELİŞTİRİLMESİ

Eda FURTANA

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

GIDA MÜHENDİSLİĞİ

ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Bu tez 29/06/2026 tarihinde jüri tarafından Oybirliği ile kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Ayhan TOPUZ (Danışman)

Prof. Dr. Zafer ERBAY

Doç. Dr. Muammer DEMİR

Bu belge, güvenli elektronik İmza ile imzalanmıştır.
Evrak sorgulaması https://turkiye.gov.tr/ebd?eK=5543&eD=BSDVFYK8YC&eS=960 adresinden yapılabilir. (PIN:63492)

ÖZET

FENOLİK İÇERİKLİ GIDA ATIK EKSTRAKTLARI VE PEYNİR ALTI SUYU TOZU İLE ZENGİNLEŞTİRİLMİŞ FONKSİYONEL İÇECEKLERİN GELİŞTİRİLMESİ

Eda FURTANA

Yüksek Lisans Tezi, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Ayhan TOPUZ
İkinci Danışman: Doç. Dr. Kübra Sultan ÖZDEMİR BİLİCİ

Haziran 2026; 120 sayfa

Bu çalışmada, zeytin yaprağı (*Olea europaea L.*, Domat çeşidi) ve üzüm posasından (*Vitis vinifera L.*) elde edilen fenolik içerikli ekstraktlar ile peynir altı suyu tozu bazlı fonksiyonel bir içecek sistemi geliştirilmesi amaçlanmıştır. Çalışma üç aşamadan oluşmaktadır: (i) I-Optimal Yanıt Yüzey Yöntemi (RSM) ile ekstraksiyon optimizasyonu, (ii) sıvı ve liyofilize toz formda formülasyon geliştirme ve karakterizasyonu, (iii) depolama stabilitesinin izlenmesi.

Ekstraksiyon optimizasyonunda etanol konsantrasyonu, sıcaklık ve süre bağımsız değişken olarak belirlenmiş; zeytin yaprağı için TEAC, üzüm posası için TMA yanıt değişkeni olarak seçilmiştir. Zeytin yaprağı modeli kabul edilebilir düzeyde uyum sergilerken ($R^2 = 0,769$; $F = 3,70$; $p = 0,027$), üzüm posası modeli çok yüksek açıklayıcılık göstermiştir ($R^2 = 0,9990$; $F = 478,53$; $p < 0,0001$). Optimum koşullar zeytin yaprağı için %40 etanol, 36 °C, 176 dk; üzüm posası için %78 etanol, 59 °C, 140 dk olarak belirlenmiş; her iki model de %5'in altında hata oranıyla doğrulanmıştır.

Elde edilen ekstraktlar ve peynir altı suyu tozuyla oluşturulan dört formülasyon (çilek aromalı/aromasız × zeytin yaprağı/üzüm posası ekstraktlı) pastörizasyon ve liyofilizasyon işlemlerine tabi tutulmuştur. Ekstrakt türünün renk, bulanıklık, sedimentasyon ve biyoaktif parametreler üzerinde anlamlı etkisi saptanmış ($p < 0,001$); çilek aroması ilavesinin anlamlı etkisi bulunmamıştır ($p > 0,05$). Sıvı formülasyonlar 4 °C'de 7 gün, toz formülasyonlar 25 °C'de 28 gün boyunca mikrobiyolojik güvenliklerini ve teknolojik özelliklerini korumuştur.

ANAHTAR KELİMELER: Antosiyanin, Depolama stabilitesi, Ekstraksiyon optimizasyonu, Fenolik bileşik, Fonksiyonel içecek, Liyofilizasyon, Peynir altı suyu tozu, Üzüm posası, Yanıt yüzey yöntemi, Zeytin yaprağı

JÜRİ: Prof. Dr. Ayhan TOPUZ

Prof. Dr. Zafer ERBAY

Doç. Dr. Muammer DEMİR

ABSTRACT

DEVELOPMENT OF FUNCTIONAL BEVERAGES ENRICHED WITH PHENOLIC-CONTAINING FOOD WASTE EXTRACTS AND WHEY POWDER

Eda FURTANA

Master's Thesis, Department of Food Engineering

Supervisor: Prof. Dr. Ayhan TOPUZ
Co-Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Kübra Sultan ÖZDEMİR BİLİCİ

June 2026; 120 pages

This study aimed to develop a functional beverage system based on whey powder enriched with phenolic-containing extracts obtained from olive leaves (*Olea europaea* L., Domat variety) and grape pomace (*Vitis vinifera* L.). The study consisted of three stages: (i) extraction optimization using I-Optimal Response Surface Methodology (RSM), (ii) formulation development and characterization in liquid and lyophilized powder forms, and (iii) monitoring of storage stability.

In the extraction optimization, ethanol concentration, temperature, and extraction time were determined as independent variables; TEAC was selected as the response variable for olive leaf, while TMA was chosen for grape pomace. The olive leaf model showed acceptable fit ($R^2 = 0.769$; $F = 3.70$; $p = 0.027$), while the grape pomace model demonstrated exceptionally high explanatory power ($R^2 = 0.9990$; $F = 478.53$; $p < 0.0001$). Optimum conditions were determined as 40% ethanol, 36 °C, and 176 min for olive leaf, and 78% ethanol, 59 °C, and 140 min for grape pomace; both models were validated with a relative error below 5%.

Four formulations (strawberry-flavored/unflavored × olive leaf/grape pomace extract) were developed using the obtained extracts and whey powder, and subsequently subjected to pasteurization and lyophilization processes. Extract type exerted a statistically significant effect on color, turbidity, sedimentation, and bioactive parameters ($p < 0.001$), whereas strawberry flavor addition had no significant effect ($p > 0.05$). Liquid formulations maintained their microbiological safety and technological properties throughout 7 days of storage at 4 °C, and powder formulations throughout 28 days of storage at 25 °C.

KEYWORDS: Anthocyanin, Extraction optimization, Functional beverage, Grape pomace, Lyophilization, Olive leaf, Phenolic compound, Response surface methodology, Storage stability, Whey powder

COMMITTEE: Prof. Dr. Ayhan TOPUZ

Prof. Dr. Zafer ERBAY

Assoc. Prof. Dr. Muammer DEMİR

ÖNSÖZ

Bu tez, gıda endüstrisinin önemli atık kaynakları olan zeytin yaprağı ve üzüm posasının peynir altı suyu tozu ile birleştirilerek fonksiyonel bir içecek sistemine dönüştürülmesini konu almaktadır. Tarımsal yan ürünlerin katma değerli ürünlere dönüştürülmesi hem bilimsel hem de çevresel sürdürülebilirlik açısından büyük önem taşımakta; bu çalışma, söz konusu potansiyeli sistematik bir araştırma çerçevesinde ortaya koymayı amaçlamaktadır.

Tezin her aşamasında bilimsel rehberliğini, sabrını ve değerli zamanını benimle paylaşan; zorlandığım anlarda gösterdiği anlayış ve manevi destekle yoluma devam etmemi kolaylaştıran danışmanım Prof. Dr. Ayhan TOPUZ'a içten teşekkürlerimi sunarım. Çalışmaya kattığı özgün bilimsel bakış açısının yanı sıra hiçbir zaman esirgemeyen ilgisi, sıcaklığı ve moral desteğiyle bu süreçte her daim yanımda olan ikinci danışmanım Doç. Dr. Kübra Sultan ÖZDEMİR BİLİCİ'ye de özellikle teşekkür ederim.

HPLC analizlerinin gerçekleştirilmesinde gösterdiği titiz ilgi ve katkılarından dolayı Dr. Öğr. Üyesi Neslihan TAŞ'a (Hacettepe Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi); laboratuvar olanaklarından yararlanmamı sağlayan Prof. Dr. Ahmet KÜÇÜKÇETİN ve Doç. Dr. Firüze ERGİN ZEREN'e (Akdeniz Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi); dondurarak kurutma cihazını kullanmama olanak sağlayan Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü'ne, başta Dr. Demet YILDIZ TURGUT ve Kimya Yüksek Mühendisi Orçun ÇINAR olmak üzere emeği geçen tüm çalışanlarına teşekkür ederim.

Bu tezin gerçekleşmesinde 123N077 numaralı proje ile desteğini sağlayan, TÜBİTAK Uluslararası PRIMA Programı'na tarafıma sağlanan burs desteği için ayrıca teşekkürlerimi sunarım.

Tez sürecinin zorlu anlarında yanımda olan, her türlü desteğini esirgemeyen arkadaşım Burak Mert ORUÇ'a içtenlikle teşekkür ederim.

Hayatımın her döneminde bana inanan, beni koşulsuzca destekleyen ve bu yolda yürüme cesaretini veren annem Sebahat FURTANA ve babam Ahmet FURTANA'ya sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Son olarak en büyük teşekkürü kendime... Yorulduğum, bunaldığım ve kendi emeğimin farkına varamadığım anlarda bile yoluma devam ettiğim için. Bu tezin sonuna ulaşırken ardımda yalnızca yazılmış sayfalar değil; sabırla, emekle ve inançla büyümüş bir ben bırakıyorum.

İÇİNDEKİLER

ÖZET i
ABSTRACT ii
ÖNSÖZ iii
AKADEMİK BEYAN viii
SİMGELER VE KISALTMALAR ix
ŞEKİLLER DİZİNİ xii
ÇİZELGELER DİZİNİ xiii
1. GİRİŞ 1
2. KAYNAK TARAMASI 5
2.1. Fonksiyonel gıdalar ve içecekler 5
2.2. Peynir altı suyu tozu ve kullanım alanları 8
2.2.1. Peynir altı suyunun tanımı ve bileşimi 8
2.2.2. Peynir altı suyu protein fraksiyonları 8
2.2.3. Peynir altı suyunun sağlık üzerindeki etkileri 9
2.2.4. Peynir altı suyunun içecek endüstrisinde kullanımı 9
2.3. Gıda atıkları ve değerlendirilmesi 11
2.3.1. Gıda atığının tanımı ve küresel boyutu 11
2.3.2. Gıda atıklarının değerlendirilme stratejileri 12
2.3.3. Meyve ve sebze atıklarının biyoaktif potansiyeli 12
2.4. Fenolik bileşikler ve antioksidan özellikleri 13
2.4.1. Fenolik bileşiklerin genel özellikleri ve sınıflandırılması 13
2.4.2. Fenolik bileşiklerin ekstraksiyonu 14
2.4.3. Toplam fenolik içeriğin belirlenmesi: Folin-ciocalteu yöntemi 15
2.4.4. Doğal antioksidan kaynakları ve biyolojik etkileri 16
2.4.5. DPPH yöntemi ile antioksidan kapasite tayini 17
2.4.6. Antosiyaninler 17
2.4.7. Fenolik bileşiklerin gıda endüstrisinde kullanımı 18
2.5. Zeytin yaprağı ve biyoaktif içeriği 19
2.5.1. Zeytin yaprağının önemi ve üretim potansiyeli 19
2.5.2. Zeytin yaprağının kimyasal bileşimi 20
2.5.3. Başlıca fenolik bileşikler: Oleuropein ve hidroksitirosol 21

2.5.4. Fenolik içeriğe etki eden faktörler 22
2.5.5. Zeytin yaprağının gıda ve endüstriyel uygulamaları 22
2.6. Üzüm posası ve biyoaktif içeriği 24
2.6.1. Üzüm posasının önemi ve üretim potansiyeli 24
2.6.2. Üzüm posasının kimyasal bileşimi 25
2.6.3. Başlıca fenolik bileşikler: Antosiyaninler ve polifenoller 26
2.6.4. Fenolik içeriğe etki eden faktörler 27
2.6.5. Üzüm posasının gıda ve endüstriyel uygulamaları 27
2.7. Ekstraksiyon yöntemleri 29
2.7.1. Ekstraksiyona etki eden faktörler 30
2.8. Dondurarak kurutma (Liyofilizasyon) 31
2.8.1. Liyofilizasyon ve diğer kurutma yöntemleri 32
2.9. Fonksiyonel içeceklerde kalite parametreleri 33
2.9.1. Isıl işlemin içecek kalitesine etkileri 34
2.9.2. Depolama stabilitesi ve fizikokimyasal değişimler 34
2.10. Bileşenlerin fonksiyonel içecekte birlikte kullanımı 35
3. MATERYAL VE METOT 37
3.1. Materyal 37
3.2. Hammaddelerin fizikokimyasal karakterizasyonu 37
3.2.1. Nem tayini 37
3.2.2. Su aktivitesi tayini 38
3.3. Ekstraksiyon optimizasyonu 38
3.3.1. Deney tasarımı: Yanıt yüzey yöntemi (RSM) 38
3.3.1.1. I-Optimal tasarım 38
3.3.1.2. Kuadratik model ve istatistiksel değerlendirme 40
3.3.2. Zeytin yaprağı ekstraksiyon optimizasyonu 41
3.3.2.1. Hammadde hazırlığı ve ekstraksiyon prosedürü 41
3.3.2.2. Bağımsız değişkenler, yanıt değişkeni ve gerekçeleri 41
3.3.2.3. I-Optimal deney tasarım matrisi 42
3.3.3. Üzüm posası ekstraksiyon optimizasyonu 43
3.3.3.1. Hammadde hazırlığı ve ekstraksiyon prosedürü 43
3.3.3.2. Bağımsız değişkenler, yanıt değişkeni ve gerekçeleri 43

3.3.3.3. I-Optimal deney tasarım matrisi 44
3.3.4. Optimum koşulların belirlenmesi ve doğrulanması 45
3.3.4.1. Yanıt yüzeyi ve kontur grafiklerinin oluşturulması 45
3.3.4.2. Sayısal optimizasyon ve istenebilirlik fonksiyonu 45
3.3.4.3. Model doğrulama 46
3.4. Fonksiyonel içecek formülasyonu 46
3.4.1. Formülasyon çalışmaları ve duyusal ön değerlendirme 46
3.4.2. Sıvı içecek üretimi 47
3.4.3. Toz içecek üretimi 48
3.5. Sıvı ve toz içeceklerin analizi 48
3.5.1. Fizikokimyasal analizler 48
3.5.1.1. pH tayini 48
3.5.1.2. Renk tayini (CIE L*, a*, b*) 49
3.5.1.3. Bulanıklık tayini (NTU) 49
3.5.1.4. Kuru madde ve nem tayini 49
3.5.1.5. Sedimentasyon indeksi 49
3.5.2. Toz ürün karakterizasyonu 49
3.5.2.1. Yığın yoğunluğu ve sıkıştırılmış yoğunluk 50
3.5.2.2. Carr indeksi ve hausner oranı 50
3.5.2.3. Çözünürlük 50
3.5.2.4. Islanabilirlik 51
3.5.3. Biyoaktif bileşen analizleri 51
3.5.3.1. Toplam fenolik madde tayini 51
3.5.3.2. Toplam monomerik antosiyanin tayini 51
3.5.3.3. DPPH serbest radikal süpürme aktivitesinin belirlenmesi 52
3.5.3.4. Fenolik profili tayini (HPLC-DAD) 52
3.5.4. Mikrobiyolojik analizler 53
3.5.4.1. Toplam aerobik mezofilik bakteri sayısı 53
3.5.4.2. Maya ve küf sayımı 53
3.6. Depolama stabilitesi 53
3.6.1. Sıvı içeceğin depolanması ve analiz takvimi 53
3.6.2. Toz içeceğin depolanması ve analiz takvimi 54

3.7. İstatistiksel analizler 54
4. BULGULAR VE TARTIŞMA 55
4.1. Hammaddelerin fizikokimyasal karakterizasyonu 55
4.1.1. Nem içeriği 55
4.1.2. Su aktivitesi 55
4.2. Ekstraksiyon optimizasyonu 55
4.2.1. Zeytin yaprağı ekstraksiyon optimizasyonu 55
4.2.1.1. Model uyumluluğu ve istatistiksel değerlendirme 56
4.2.1.2. Bağımsız değişkenlerin antioksidan kapasiteye etkileri 58
4.2.1.3. Yanıt yüzeyi ve kontur grafiklerinin değerlendirilmesi 61
4.2.1.4. Optimum koşulların belirlenmesi ve doğrulanması 67
4.2.1.5. Zeytin yaprağı ekstraktının fenolik profili 68
4.2.2. Üzüm posası ekstraksiyon optimizasyonu 70
4.2.2.1. Model uyum iyiliği ve istatistiksel değerlendirme 70
4.2.2.2. Bağımsız değişkenlerin TMA içeriğine etkileri 72
4.2.2.3. Yanıt yüzeyi ve kontur grafiklerinin değerlendirilmesi 75
4.2.2.4. Optimum koşulların belirlenmesi ve doğrulanması 80
4.2.2.5. Üzüm posası ekstraktının fenolik profili 81
4.3. Fonksiyonel içecek formülasyonunun sıvı ürün karakterizasyonu 82
4.3.1. Biyoaktif bileşen analizleri 83
4.3.1.1. Toplam fenolik madde içeriği 83
4.3.1.2. Toplam monomerik antosiyanin içeriği 84
4.3.1.3. Antioksidan kapasite (DPPH) 84
4.4. Depolama stabilitesi 85
4.4.1. Sıvı içeceğin depolama stabilitesi 85
4.4.1.1. Fizikokimyasal değişimler 85
4.4.1.2. Mikrobiyolojik değişimler 87
4.4.2. Toz içeceğin depolama stabilitesi 88
4.4.2.1. Fizikokimyasal değişimler 88
4.4.2.2. Mikrobiyolojik değişimler 91
5. SONUÇLAR 93
6. KAYNAKLAR 95

AKADEMİK BEYAN

Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum “Fenolik İçerikli Gıda Atık Ekstraktları ve Peynir Altı Suyu Tozu ile Zenginleştirilmiş Fonksiyonel İçeceklerin Geliştirilmesi” adlı bu çalışmanın, akademik kurallar ve etik değerlere uygun olarak yazıldığını belirtir, bu tez çalışmasında bana ait olmayan tüm bilgilerin kaynağını gösterdiğimi beyan ederim.

15/06/2026

Eda FURTANA

SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

a*	CIE L*a*b* renk uzayında kırmızılık (+) / yeşillik (−) değeri
a_w	Su aktivitesi
b*	CIE L*a*b* renk uzayında sarılık (+) / mavilik (−) değeri
BDE	Bağ ayrışma enerjisi (Bond Dissociation Energy)
C*	Kroma (renk doygunluğu)
D	Arzu edilebilirlik fonksiyonu (Desirability)
DF	Seyreltme faktörü
h°	Ton açısı
IP	İyonlaşma potansiyeli
KO	Kareler ortalaması
KT	Kareler toplamı
L*	CIE L*a*b* renk uzayında parlaklık değeri
MW	Molekül ağırlığı (Molecular Weight, g/mol)
pH	Hidrojen iyonu konsantrasyonu negatif logaritması
pI	İzoelektrik nokta
R^2	Determinasyon katsayısı
R^2adj	Düzeltilmiş determinasyon katsayısı
R^2pred	Tahmin edilen determinasyon katsayısı
SD	Standart sapma
VIF	Varyans artış faktörü
ΔA	Absorbans farkı
ΔE*	Toplam renk değişimi
ε	Molar absorptivite ($L \cdot mol^{-1} \cdot cm^{-1}$)
ρs	Sıkıştırılmış yoğunluk (g/mL)
ρy	Yığın yoğunluğu (g/mL)

Ondalık ayraç olarak virgül (,) kullanılmıştır (örn. 21,09). Birimler SI standardına göre belirtilmiştir.

Kısaltmalar

ABTS	2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit)
ANOVA	Varyans Analizi (Analysis of Variance)
AOAC	Resmi Analitik Kimyacılar Derneği (Association of Official Analytical Chemists)
AÜP	Aromasız – Üzüm Posası Ekstraktlı Fonksiyonel İçecek
AZY	Aromasız – Zeytin Yaprağı Ekstraktlı Fonksiyonel İçecek
BBD	Box-Behnken Tasarımı (Box-Behnken Design)
BHA	Bütillenmiş hidroksianisol (sentetik antioksidan)
BHT	Bütillenmiş hidroksitoluen (sentetik antioksidan)
CCD	Merkezi Kompozit Tasarım (Central Composite Design)
CI	Carr İndeksi (%)
CIE	Uluslararası Aydınlatma Komisyonu (Commission Internationale de l'Éclairage)
CV	Değişim Katsayısı (Coefficient of Variation, %)
ÇÜP	Çilek Aromalı – Üzüm Posası Ekstraktlı Fonksiyonel İçecek
ÇZY	Çilek Aromalı – Zeytin Yaprağı Ekstraktlı Fonksiyonel İçecek
DAD	Diyot Dizi Dedektörü (Diode Array Detector)
DMRT	Duncan Çoklu Karşılaştıma Testi (Duncan's Multiple Range Test)
DPPH	1,1-difenil-2-pikrilhidrazil serbest radikali
EFSA	Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi (European Food Safety Authority)
FAO	Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü (Food and Agriculture Organization)
FC	Folin-Ciocalteu reaktifi / yöntemi
GAE	Gallik Asit Eşdeğeri (mg gallik asit eşdeğeri)
GRAS	Genel Olarak Güvenli Kabul Edilen (Generally Recognized As Safe)
HDPE	Yüksek Yoğunluklu Polietilen (High-Density Polyethylene)

HPLC	Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (High Performance Liquid Chromatography)
HR	Hausner Oranı
HTST	Yüksek Sıcaklık Kısa Süre pastörizasyonu (High Temperature Short Time)
ISO	Uluslararası Standardizasyon Örgütü (International Organization for Standardization)
k.m.b.	Kuru madde bazında
KOB	Koloni Oluşturan Birim
LTLT	Düşük Sıcaklık Uzun Süre pastörizasyonu (Low Temperature Long Time)
MAE	Malvidin-3-glikozit Eşdeğeri
MP	Merkez Noktası (Center Point)
NTU	Nefelometrik Bulanıklık Birimi (Nephelometric Turbidity Unit)
OFAT	Tek Değişkenli Optimizasyon (One Factor at a Time)
PAS	Peynir Altı Suyu
PCA	Plate Count Agar (TAMB sayımı için)
PDA	Potato Dextrose Agar (maya-küf sayımı için)
RE%	Göreceli Hata Yüzdesi (Relative Error Percentage)
RSM	Yanıt Yüzey Yöntemi (Response Surface Methodology)
SD	Serbestlik Derecesi
TAMB	Toplam Aerobik Mezofilik Bakteri
TEAC	Trolox Eşdeğeri Antioksidan Kapasite (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity)
TFM	Toplam Fenolik Madde
TGK	Türk Gıda Kodeksi
UNEP	Birleşmiş Milletler Çevre Programı (United Nations Environment Programme)

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Fonksiyonel içeceklerin sınıflandırılması ve bu çalışmanın konumlandırılması 7

Şekil 4.1. Zeytin yaprağı ekstraktının TEAC değeri için A (su/etanol oranı) – B (sıcaklık) etkileşimine ait 3 boyutlu yanıt yüzeyi (üst) ve 2 boyutlu kontur grafiği (alt) 62

Şekil 4.2. Zeytin yaprağı ekstraktının TEAC değeri için A (su/etanol oranı) – C (süre) etkileşimine ait 3 boyutlu yanıt yüzeyi (üst) ve 2 boyutlu kontur grafiği (alt) 64

Şekil 4.3. Zeytin yaprağı ekstraktının TEAC değeri için B (sıcaklık) – C (süre) etkileşimine ait 3 boyutlu yanıt yüzeyi (üst) ve 2 boyutlu kontur grafiği (alt) 66

Şekil 4.4. Üzüm posası TMA değeri için A (etanol konsantrasyonu) – B (sıcaklık) etkileşimine ait 3 boyutlu yanıt yüzeyi (üst) ve 2 boyutlu kontur grafiği (alt) 76

Şekil 4.5. Üzüm posası TMA değeri için A (etanol konsantrasyonu) – C (süre) etkileşimine ait 3 boyutlu yanıt yüzeyi (üst) ve 2 boyutlu kontur grafiği (alt) 78

Şekil 4.6. Üzüm posası TMA değeri için B (sıcaklık) – C (süre) etkileşimine ait 3 boyutlu yanıt yüzeyi (üst) ve 2 boyutlu kontur grafiği (alt) 79

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1. Fonksiyonel gıdaların ürün ve bileşen bazlı sınıflandırılması 5

Çizelge 3.1. I-Optimal tasarımın klasik RSM tasarımlarına göre üstünlükleri 38

Çizelge 3.2. Nokta tipi açıklamaları 39

Çizelge 3.3. Zeytin Yaprağı ve Üzüm Posası Ekstraksiyon Optimizasyon Çalışmalarının Karşılaştırması 39

Çizelge 3.4. Kuadratik model parametrelerinin tanımları 40

Çizelge 3.5. Model uyum iyiliği değerlendirme kriterleri 40

Çizelge 3.6. Zeytin yaprağı ekstraksiyon optimizasyonunda bağımsız değişkenler, seçilen aralıklar ve bilimsel gerekçeleri 41

Çizelge 3.7. Zeytin yaprağı ekstraksiyon optimizasyonu — I-Optimal deney tasarım matrisi (n = 20) 42

Çizelge 3.8. Üzüm posası ekstraksiyon optimizasyonunda bağımsız değişkenler, seçilen aralıklar ve bilimsel gerekçeleri 44

Çizelge 3.9. Üzüm posası ekstraksiyon optimizasyonu — I-optimal deney tasarım matrisi (n = 20) 45

Çizelge 3.10. Fonksiyonel içecek formülasyonlarının bileşimi 47

Çizelge 3.11. Carr indeksi ve hausner oranı değerlerine göre toz akışkanlık sınıflandırması 50

Çizelge 3.12. Sıvı fonksiyonel içeceklerin depolama sürecindeki analiz parametreleri ve takvimi 54

Çizelge 4.1. Zeytin yaprağı TEAC yanıtı için kuadratik modelin ANOVA sonuçları 56

Çizelge 4.2. Zeytin yaprağı TEAC yanıtı için kuadratik model katsayıları ve istatistiksel önemi 57

Çizelge 4.3. Model uyumluluğu göstergeleri 58

Çizelge 4.4. Zeytin yaprağı örneğinin I-Optimal deneysel tasarımda elde edilen ekstraktlarının TEAC değerleri 59

Çizelge 4.5. Zeytin yaprağı ekstraksiyon optimizasyonu için model doğrulama sonuçları 67

Çizelge 4.6. HPLC-DAD analizinde taranan fenolik bileşik standartları ve zeytin yaprağı ekstraktında saptananlar 68

Çizelge 4.7. Optimum koşullarda elde edilen zeytin yaprağı ekstraktının fenolik bileşik içeriği 68

Çizelge 4.8. Üzüm posası TMA yanıtı için modelin ANOVA sonuçları 70

Çizelge 4.9. Üzüm posası TMA yanıtı için model katsayıları ve istatistiksel önemi 71

Çizelge 4.10. Model uyumluluğu özeti 72

Çizelge 4.11. I-Optimal tasarım kapsamında farklı ekstraksiyon koşullarında elde edilen üzüm posası TMA değerleri 73

Çizelge 4.12. Üzüm posası ekstraksiyon optimizasyonu — model doğrulama sonuçları 81

Çizelge 4.13. Optimize edilmiş ekstraksiyon koşullarında üzüm posasından elde edilen ekstrakların fenolik bileşik profili ve konsantrasyonları 81

Çizelge 4.14. Fonksiyonel içecek formülasyonlarının toplam fenolik madde içerikleri 83

Çizelge 4.15. Fonksiyonel içecek formülasyonlarının toplam monomerik antosiyanin içerikleri 84

Çizelge 4.16. Fonksiyonel içecek formülasyonlarının DPPH serbest radikal giderme aktivitesi 84

Çizelge 4.17. Sıvı fonksiyonel içeceklerin suda çözünür kuru madde (0. gün) ve pH değişimi (0–7. gün, 4 °C) 85

Çizelge 4.18. Sıvı fonksiyonel içeceklerin depolama süresince (0, 3 ve 7. gün, 4 °C) renk parametrelerindeki (CIE L*, a*, b*, h°, C*) değişimi 86

Çizelge 4.19. Sıvı fonksiyonel içeceklerin 4 °C depolama boyunca bulanıklık değişimi (NTU, 0–7. gün) 87

Çizelge 4.20. Sıvı fonksiyonel içeceklerin 4 °C depolama boyunca sedimentasyon indeksi değişimi (SI, %, 0–7. gün) 87

Çizelge 4.21. Sıvı fonksiyonel içeceklerin 4 °C depolama boyunca mikrobiyolojik analiz sonuçları (log KOB/mL) 88

Çizelge 4.22. Toz fonksiyonel içeceklerin 25 °C depolama boyunca yığın yoğunluğu (ρy) değişimi (g/mL, 0–28. gün) 88

Çizelge 4.23. Toz fonksiyonel içeceklerin 25 °C depolama boyunca sıkıştırılmış yoğunluk (ρs) değişimi (g/mL, 0–28. gün) 89

Çizelge 4.24a. Toz fonksiyonel içeceklerin 25 °C depolama boyunca Carr İndeksi (CI) değişimi (0–28. gün) 89

Çizelge 4.24b. Toz fonksiyonel içeceklerin 25 °C depolama boyunca akış sınıfı değişimi (Carr İndeksine göre, 0–28. gün) 89

Çizelge 4.24c. Toz fonksiyonel içeceklerin 25 °C depolama boyunca Hausner Oranı (HR) değişimi (0–28. gün) 90

Çizelge 4.25. Toz fonksiyonel içeceklerin 25 °C depolama boyunca çözünürlük (%) değişimi (0–28. gün) 90

Çizelge 4.26. Toz fonksiyonel içeceklerin 25 °C depolama boyunca ıslanabilirlik (s) değişimi (0–28. gün) 90

Çizelge 4.27. Toz fonksiyonel içeceklerin 25 °C depolama boyunca mikrobiyolojik analiz sonuçları (log KOB/g) 91

1. GİRİŞ

Küresel gıda üretim ve işleme endüstrileri, her yıl milyonlarca ton tarımsal ve işleme atığı üretmekte ve bu durum hem ekonomik hem de çevresel açıdan ciddi sorunlara neden olmaktadır. Birleşmiş Milletler Çevre Programı verilerine göre, yalnızca 2019 yılında yaklaşık 931 milyon ton gıda atığı oluşmuş; bu da doğal kaynakların verimsiz kullanımı ve sera gazı emisyonlarında artışla sonuçlanmıştır (UNEP, 2021). Özellikle meyve ve sebze işleme süreçlerinde ortaya çıkan kabuk, çekirdek, yaprak ve posa gibi yan ürünler, toplam atığın önemli bir bölümünü oluşturmaktadır. Bununla birlikte, bu materyallerin büyük kısmı, içerdiği yüksek düzeyde fenolik bileşikler, flavonoidler, antosiyaninler ve diğer biyoaktif maddeler sayesinde yüksek katma değerli ürünler için potansiyel bir hammadde olarak değerlendirilmektedir. Dolayısıyla, gıda endüstrisi yan ürünlerinin değerlendirilmesi, sürdürülebilir üretim ve fonksiyonel gıda geliştirme açısından giderek artan bir öneme sahiptir.

Son yıllarda artan tüketici bilinci, kronik hastalıklara yönelik farkındalığın yükselmesi ve sağlıklı beslenme eğilimlerinin güçlenmesi, fonksiyonel gıdalar ve fonksiyonel içeceklerin küresel gıda pazarında hızla büyüyen bir segment haline gelmesine yol açmıştır. Fonksiyonel gıdalar, temel besin öğelerinin ötesinde, içerdiği biyoaktif bileşenler aracılığıyla insan sağlığı üzerinde olumlu etkiler oluşturabilen ürünler olarak tanımlanmaktadır (EFSA, 2010; Regulation (EC) No 1924/2006).

Bu kapsamda, fonksiyonel içecekler hem kolay tüketilebilir olmaları hem de farklı biyoaktif bileşenlerle zenginleştirilebilme esneklikleri nedeniyle öne çıkmaktadır. Vitaminler, mineraller, fenolik bileşikler, prebiyotikler ve probiyotikler gibi çeşitli biyoaktif katkılar içeren fonksiyonel içecekler, yalnızca besin desteği sağlamakla kalmayıp, aynı zamanda antioksidan, antiinflamatuvar ve immünomodülatör etkiler gibi çeşitli sağlık yararları da sunmaktadır (Granato et al., 2020).

Fonksiyonel içecek geliştirilmesinde matriksin seçimi, ürünün teknolojik ve besinsel özellikleri açısından kritik öneme sahiptir. Peynir altı suyu (PAS) tozu, peynir üretimi sırasında elde edilen; yüksek biyolojik değerli proteinler, esansiyel amino asitler, mineraller ve laktoz içeren değerli bir yan üründür. β-laktoglobulin, α-laktalbumin, serum albumini ve laktoferrin gibi fraksiyonlardan oluşan peynir altı suyu proteinleri; yüksek çözünürlük, emülsifikasyon kapasitesi ve sindirim kolaylığı gibi üstün biyolojik ve teknolojik özellikler sunmakta; Kas protein sentezini uyarıcı etkisi, esansiyel amino asit profili ve immün sistem üzerindeki olumlu etkileriyle fonksiyonel bir bileşen olarak öne çıkmaktadır (Rs et al., 2015a). İyi çözünürlük özellikleri, taşıyıcı matriks oluşturma kapasitesi ve dondurarak kurutma sürecinde termal denatürasyona karşı görece direncini koruyabilmesi, peynir altı suyu tozunu fenolik bileşiklerle zenginleştirilmiş fonksiyonel içecek formülasyonları için ideal bir temel bileşen kılmaktadır; zira PAS proteini, fenolik bileşiklerle protein-polifenol etkileşimi aracılığıyla kompleks oluşturarak biyoaktif bileşenlerin stabilitesini ve biyoyararlanımını artırabilmektedir (Baba et al., 2021).

Bu çalışmada fonksiyonel bileşen kaynağı olarak seçilen ilk materyal, Türkiye'de yaygın olarak yetiştirilen *Olea europaea L.* (zeytin) bitkisinin yapraklarıdır. Zeytin

yaprakları, zeytinyağı ve zeytin işleme sanayisinin önemli bir yan ürünü olup, her yıl yüz binlerce ton atık olarak ortaya çıkmaktadır. Biyoaktif bileşenler kaynağı olan bu atık başta oleuropein olmak üzere hidroksitirozol, rutin, verbaskozit ve çeşitli flavonoidler gibi güçlü biyoaktif fenolik bileşikler bakımından zengindir. Oleuropein, güçlü antioksidan, antiinflamatuvar, antimikrobiyel ve kardiyoprotektif etkileriyle literatürde kapsamlı biçimde araştırılmış bir sekoiridoid glikozittir (Erbay & Icier, 2010). Zeytin yaprağı ekstraktlarının oksidatif strese karşı koruyucu etkisi ve fenoliklerin yüksek biyoyararlanımı, bu materyali fonksiyonel gıda sistemleri için değerli bir hammadde haline getirmektedir. Bu potansiyelin en verimli şekilde değerlendirilebilmesi için ekstraksiyon koşullarının bilimsel yöntemlerle optimize edilmesi gerekmektedir.

İkinci biyoaktif kaynak olarak üzüm posası (*Vitis vinifera L.*) değerlendirilmiştir. Üzüm posası, şarap ve meyve suyu üretimi sırasında elde edilen; kabuk, çekirdek ve sap artıklarını içeren önemli bir tarımsal yan üründür. Küresel ölçekte yılda yaklaşık 9–10 milyon ton üzüm posası oluşmakta olup, bu materyalin büyük çoğunluğu ya geri dönüştürülmekte ya da atık olarak bertaraf edilmektedir (Rockenbach et al., 2011). Özellikle koyu renkli üzüm çeşitlerinde, üzüm posası antosiyaninler ve polifenoller bakımından son derece zengindir. Antosiyaninler, güçlü antioksidan kapasiteleri, anti-inflamatuvar etkileri ve potansiyel kardiyoprotektif ve antikanserojenik özellikleri nedeniyle fonksiyonel gıda araştırmalarında yoğun ilgi gören doğal pigmentlerdir (He & Monica Giusti, 2010). Üzüm posasının bu değerli bileşen içeriği, onu fonksiyonel gıda üretiminde sürdürülebilir bir hammadde ve güçlü bir biyoaktif kaynak olarak öne çıkarmaktadır. Antosiyaninlerin yapısal stabilitesinin pH ve sıcaklığa karşı duyarlı olması nedeniyle (Castañeda-Ovando et al., 2009), ekstraksiyon koşullarının optimizasyonu bu çalışmanın temel odak noktalarından birini oluşturmuştur.

Bitkisel kaynaklı fenolik bileşiklerin ekstraksiyonunda, çözücü bileşimi, sıcaklık ve süre gibi faktörlerin verim ve bileşik stabilitesi üzerinde doğrudan etkili olduğu bilinmektedir. Geleneksel tek değişkenli optimizasyon yaklaşımları, faktörler arası etkileşimleri göz ardı ettiği ve çok sayıda deney gerektirdiği için günümüzde çok değişkenli istatistiksel yöntemlerle yer değiştirmiştir. Bu çalışmada, her iki hammadde için de ekstraksiyon optimizasyonu Yanıt Yüzey Yöntemi (RSM) ve I-Optimal Tasarım yaklaşımıyla gerçekleştirilmiştir. RSM, az sayıda deneyle faktör etkilerini ve etkileşimlerini matematiksel olarak modelleyerek global optimumun belirlenmesine olanak tanıyan güçlü bir deneysel tasarım aracıdır (Myers H Raymond, 2016). Bu sayede, hem yüksek biyoaktif bileşen verimine ulaşılmış hem de enerji ve çözücü kullanımı açısından sürdürülebilir ekstraksiyon koşulları belirlenmiştir.

Geliştirilen fonksiyonel içecek formülasyonları hem sıvı içecek hem de dondurarak kurutma (liyofilizasyon) yöntemiyle elde edilen toz formda değerlendirilmiştir. Liyofilizasyon, düşük işlem sıcaklığı sayesinde ısıya duyarlı biyoaktif bileşiklerin (fenolikler, antosiyaninler) degradasyonunu en aza indirirken, uzun raf ömrü ve kolay depolama olanağı sağlamaktadır. Toz formunda dönüştürülen formülasyonlar, tüketici kolaylığı, nakliye ve depolama avantajlarının yanı sıra, tüketime hazır sıvı içeceğe kıyasla farklı pazar segmentlerine hitap etme potansiyeline sahiptir. Depolama stabilitesi, sıvı formülasyonlar için 7 günlük depolama süresi, pastörize süt bazlı içeceklere yönelik TGK Mikrobiyolojik Kriterler Yönetmeliği (2009/6) kapsamında öngörülen tüketim penceresiyle uyumlu olup bu süre literatürde benzer soğuk depolama çalışmalarında da standart olarak benimsenmektedir (Ahmed et al., 2023). Toz

formülasyonlar için belirlenen .28 günlük depolama süresi ise liyofilize gıda tozlarında kısa dönem stabilite değerlendirmesi amacıyla akademik literatürde yaygın biçimde kullanılan standarttır (Gustavo V. Barbosa-Cánovas et al., 2005; Seth et al., 2017).

Bu tezde kullanılan bazı kavramlar aşağıda açıklanmaktadır. "Fonksiyonel içecek" terimi, temel beslenme ihtiyacını karşılamanın ötesinde, biyoaktif bileşen katkısıyla sağlık üzerinde ölçülebilir olumlu etkiler oluşturması beklenen içecek formülasyonlarını ifade etmektedir. "Fenolik ekstrakt" ifadesi, zeytin yaprağı veya üzüm posasından su-etanol karışımıyla gerçekleştirilen katı-sıvı ekstraksiyonu sonucu elde edilen ham ekstraktı tanımlamaktadır. "Optimum ekstraksiyon koşulları", RSM modeli temelinde TEAC (Trolox Eşdeğeri Antioksidan Kapasite) veya toplam monomerik antosiyanin (TMA) yanıtını maksimize eden faktör kombinasyonunu belirtmektedir. "Toz form" ise, sıvı formülasyonun liyofilizasyon yöntemiyle işlenmesiyle elde edilen ve suyla karıştırıldığında orijinal içeceği yeniden oluşturan anlık içecek tozunu ifade etmektedir.

Bu çalışmanın temel amacı, peynir altı suyu tozu bazlı bir fonksiyonel içecek matriksi üzerine optimize koşullarda elde edilen zeytin yaprağı ve üzüm posası fenolik ekstraktlarının ilave edilmesiyle sağlık destekleyici özellikler taşıyan, hem sıvı hem de toz formda fonksiyonel içecekler geliştirmektir. Bu genel amaç doğrultusunda, araştırmanın spesifik hedefleri aşağıda özetlenmiştir:

(i) Zeytin yaprağından fenolik bileşik ekstraksiyonunun (yanıt: TEAC) ve üzüm posasından antosiyanin ekstraksiyonunun (yanıt: TMA) I-Optimal RSM tasarımıyla optimize edilmesi;

(ii) Optimum koşullarda üretilen zeytin yaprağı ve üzüm posası ekstraktlarının HPLC-DAD ile fenolik profilinin belirlenmesi ve toplam fenolik madde içeriğinin saptanması;

(iii) Peynir altı suyu tozu matriksine farklı ekstrakt ilavesiyle dört fonksiyonel içecek formülasyonunun (çilek aromalı/aromasız × zeytin yaprağı/üzüm posası ekstraktlı) geliştirilmesi;

(iv) Geliştirilen sıvı ve toz formülasyonların pH, renk (CIELab), bulanıklık, sedimentasyon, akış özellikleri ve rehidrasyon parametreleri başta olmak üzere fizikokimyasal ve fiziksel karakterizasyonunun yapılması;

(v) Sıvı formülasyonların 4°C'de 7 gün ve toz formülasyonların 25°C'de 28 gün süreyle depolama stabilitesinin izlenerek fizikokimyasal değişimlerin belirlenmesi.

Çalışma, birden fazla özgün katkıyı bir arada sunması bakımından literatürdeki benzer çalışmalardan ayrışmaktadır. İlk olarak, zeytin yaprağı ve üzüm posasının ekstraksiyon optimizasyonu için I-Optimal RSM tasarımının birlikte kullanımı, farklı kimyasal yapılardaki iki hedef bileşik grubu (fenolikler ve antosiyaninler) için sistematik ve karşılaştırılabilir bir optimizasyon çerçevesi sunmaktadır. İkinci olarak, optimize edilen her iki ekstraktın peynir altı suyu tozu bazlı tek bir formülasyon sisteminde bir araya getirilmesi, bileşen-matriks etkileşimlerinin çok boyutlu biçimde incelenmesine olanak tanımaktadır. Üçüncü olarak, aynı formülasyonun hem sıvı hem de toz form olarak liyofilizasyonla hazırlanması ve her iki formun depolama stabilitesinin sistematik biçimde izlenmesi, ürünün farklı tüketim senaryolarına uyarlanabilirliğini değerlendirme

imkânı sağlamaktadır. Son olarak, Türkiye'de yaygın olarak yetiştirilen Domat çeşidi zeytin yaprağı ve Öküzgözü çeşidi üzüm posasının biyoaktif bileşen kaynağı olarak değerlendirilmesi, yurt içi tarımsal yan ürünlerin katma değerli ürünlere dönüştürülmesi açısından da özgün bir örnek oluşturmaktadır.

Tez beş ana bölümden oluşmaktadır. Birinci bölümde araştırmanın arka planı, amacı ve kapsamı aktarılmaktadır. İkinci bölümde fonksiyonel gıdalar ve içecekler, peynir altı suyu, gıda atıklarının değerlendirilmesi, zeytin yaprağı ve üzüm posasının biyoaktif içerikleri, RSM yöntemi ve liyofilizasyon teknolojisine ilişkin kaynak araştırması sunulmaktadır. Üçüncü bölüm kullanılan materyal ve metotları; dördüncü bölüm bulgular ile tartışmayı kapsamaktadır. Beşinci bölümde ise çalışmanın genel sonuçları özetlenmekte ve ilerideki araştırmalar için öneriler sunulmaktadır.

2. KAYNAK TARAMASI

2.1. Fonksiyonel gıdalar ve içecekler

Fonksiyonel gıdalar, yalnızca temel besin öğelerini sağlamakla sınırlı kalmayıp, içerdikleri biyoaktif bileşenler aracılığıyla insan sağlığı üzerinde olumlu etkiler oluşturabilen gıda ürünleri olarak tanımlanmaktadır (Hasler & Brown, 2009). Bu kavramın temelleri 1980'li yıllarda Japonya'da atılmış olup, günümüzde gıda bilimi ve teknolojisinin önemli araştırma alanlarından biri hâline gelmiştir. Fonksiyonel gıdalar; doğal yapısında biyoaktif bileşenler bulunduran konvansiyonel gıdalar, zenginleştirilmiş veya modifiye edilmiş ürünler, medikal gıdalar ve diyet takviyeleri gibi farklı kategoriler altında değerlendirilebilmektedir (Frakolaki et al., 2021; Kaur & Das, 2011). Bu sınıflandırma Çizelge 2.1.'de özetlenmiştir (Hasler, 2002; Kaur & Das, 2011).

Çizelge 2.1. Fonksiyonel gıdaların ürün ve bileşen bazlı sınıflandırılması

Kategori	Alt Grup	Açıklama
Fonksiyonel ürünler	Probiyotik gıdalar	Canlı mikroorganizmalar içeren ve bağırsak sağlığını destekleyen ürünler
	Prebiyotik gıdalar	Yararlı mikroorganizmaların gelişimini destekleyen bileşenler içeren ürünler
	Sinbiyotik gıdalar	Probiyotik ve prebiyotiklerin birlikte bulunduğu ürünler
	Yağ içeriği azaltılmış gıdalar	Yağ oranı düşürülerek daha sağlıklı hale getirilen ürünler
	Şeker içeriği azaltılmış gıdalar	Şeker miktarı azaltılmış veya alternatif tatlandırıcı içeren ürünler
	Tuz içeriği azaltılmış gıdalar	Sodyum miktarı düşürülmüş ürünler
Fonksiyonel bileşenler	Antioksidanlar	Oksidatif stresi azaltan bileşikler
	Antosiyaninler	Doğal pigment ve antioksidan özellik gösteren fenolik bileşikler
	Fitosteroller	Kolesterol düşürücü etkisi bulunan bitkisel steroller
	İzoflavonlar	Bitkisel kaynaklı fitoöstrojen bileşikler

Modern yaşam koşulları, bireylerin beslenme alışkanlıklarını önemli ölçüde değiştirmiştir. Yoğun iş temposu, yetersiz fiziksel aktivite ve düzensiz beslenme gibi faktörler sağlık üzerinde olumsuz etkiler oluştururken, bu durum tüketicilerin daha bilinçli seçimler yapmasına ve fonksiyonel gıdalara yönelmesine neden olmaktadır. Ayrıca sağlık otoriteleri ve medya aracılığıyla beslenme ile sağlık arasındaki ilişkinin daha fazla vurgulanması, fonksiyonel ürünlere olan talebi artıran önemli unsurlar arasında yer almaktadır (Granato et al., 2010). Bununla birlikte, fonksiyonel gıda geliştirme süreci; yalnızca bilimsel altyapı gerektiren bir süreç olmayıp, aynı zamanda tüketici beklentileri, pazar dinamikleri ve ürün kabul edilebilirliği gibi çok sayıda parametrenin birlikte değerlendirilmesini gerektiren karmaşık bir yapıya sahiptir (Betoret et al., 2011).

Fonksiyonel gıdalar geniş bir ürün yelpazesini kapsamaktadır. Bu ürünler; şekerleme, tahıl bazlı ürünler, bebek gıdaları, atıştırmalıklar, et ürünleri, hazır yemekler ve içecekler gibi farklı kategorilerde yer almaktadır (Ofori & Peggy, 2013). Bu kategoriler içerisinde fonksiyonel içecekler, gerek üretim teknolojisi açısından sağladıkları esneklik gerekse tüketici açısından sundukları pratiklik nedeniyle öne çıkmaktadır. Fonksiyonel içeceklerin yaygınlaşmasında; kolay tüketilebilir olmaları, farklı ambalaj ve porsiyon seçenekleri sunmaları, dağıtım kolaylığı sağlamaları ve hem raf ömrü uzun hem de soğuk zincir ürünlerine uygun olmaları gibi özellikler etkili olmaktadır (Augustin & Sanguansri, 2009; Wootton-Beard & Ryan, 2011).

Fonksiyonel içecekler, biyoaktif bileşenlerin taşınması ve korunması açısından uygun sistemler olarak değerlendirilmektedir. Bu ürünlerde sıklıkla vitaminler, mineraller, fenolik bileşikler, probiyotikler ve prebiyotikler gibi bileşenler kullanılmakta olup, bu bileşenlerin ürün içindeki dağılımı ve stabilitesi formülasyon açı-sından önemli bir parametre oluşturmaktadır (Granato et al., 2020). Özellikle fenolik bileşikler, antioksidan özellikleri nedeniyle fonksiyonel gıdaların geliştirilmesinde önemli bir yer tutmakta ve bu bileşenlerin doğal kaynaklardan elde edilmesi üzerine yapılan çalışmalar giderek artmaktadır (Rudra et al., 2015).

Bitkisel kaynaklı fonksiyonel içeceklerin geliştirilmesine yönelik çalışmalar incelendiğinde, genellikle farklı bitkisel materyallerin tek başına veya kombinasyon halinde kullanıldığı görülmektedir. Aloe vera, zencefil, Moringa oleifera ve papaya gibi bitkiler kullanılarak geliştirilen içecekler, bu yaklaşımın yaygın örnekleri arasında yer almaktadır (Naa et al., 2013; Ramachandran & Nagarajan, 2014; Vanajakshi et al., 2015; Wilson et al., 2017). Bununla birlikte, birden fazla bitkisel kaynağın birlikte kullanılması, ürünün toplam fitokimyasal içeriğini artırarak fonksiyonel özelliklerin güçlendirilmesine katkı sağlamaktadır (Badejo et al., 2014).

Fonksiyonel içecek formülasyonlarında yalnızca bitkisel kaynaklar değil, aynı zamanda hayvansal kökenli bileşenler de önemli bir rol oynamaktadır. Bu kapsamda peynir altı suyu (PAS), içerdiği yüksek kaliteli proteinler ve esansiyel amino asitler nedeniyle fonksiyonel gıda üretiminde yaygın olarak kullanılan bir bileşendir. Peynir altı suyu proteinlerinin antioksidan özellik gösterebildiği ve bağışıklık sistemi üzerinde olumlu etkiler oluşturduğu çeşitli çalışmalarla ortaya konulmuştur (Patel, 2015; Yiğit et al., 2023). Bu nedenle peynir altı suyu, özellikle içecek sistemlerinde uygun bir taşıyıcı matriks olarak değerlendirilmektedir. Bu bağlamda, peynir altı suyu bazlı sistemlerin fonksiyonel özelliklerinin artırılması amacıyla, biyoaktif bileşikler açısından zengin doğal kaynakların kullanımı önem kazanmıştır. Bu noktada, meyve ve sebze kaynaklı yan ürünler dikkat çeken alternatifler arasında yer almaktadır.

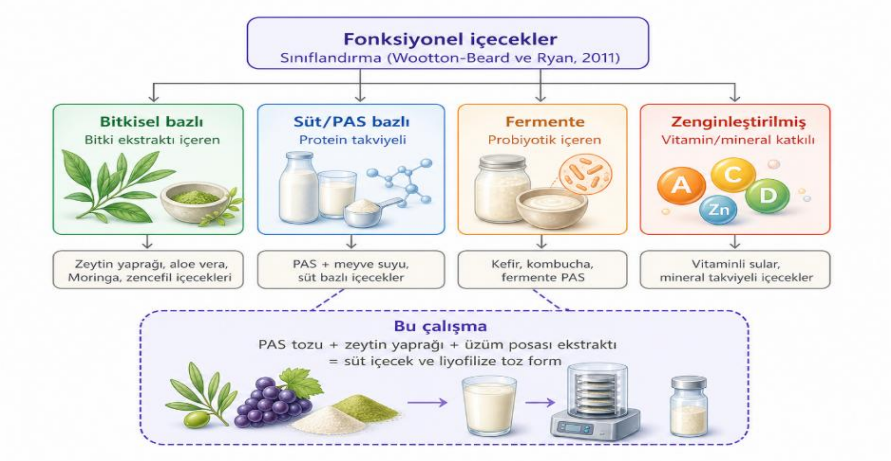
Meyve ve sebzeler insan beslenmesinde önemli bir yer tutmakta olup, artan nüfus ve değişen tüketim alışkanlıkları doğrultusunda üretimleri sürekli artış göstermektedir (Schieber et al., 2001; Vilariño et al., 2017) Ancak üretim ve işleme süreçlerinde ortaya çıkan kayıplar ve atıklar hem ekonomik hem de çevresel açıdan önemli sorunlara yol açmaktadır (Sagar et al., 2018). Dünya genelinde her yıl yaklaşık 1,3 milyar ton gıdanın kaybolduğu veya israf edildiği bildirilmektedir (FAO, 2014). Meyve ve sebzelerin yaprak, kabuk, çekirdek ve posa gibi kısımları genellikle atık olarak değerlendirilmekte olup, bu miktar toplam üretimin önemli bir kısmını oluşturmaktadır (Ajila et al., 2007, 2010).

Bu atıkların değerlendirilmesi, içeriklerindeki fenolik bileşikler ve diğer biyoaktif maddeler nedeniyle büyük önem taşımaktadır. Bitkisel atıkların fenolik bileşikler açısından zengin olması, bu materyallerin fonksiyonel gıda üretiminde alternatif hammadde olarak kullanılmasına olanak sağlamaktadır (Rudra et al., 2015). Bu doğrultuda, fenolik bileşiklerin geri kazanımı ve gıda sistemlerine entegrasyonu hem atık yönetimi hem de katma değerli ürün geliştirme açısından önemli bir yaklaşım olarak değerlendirilmektedir.

Son zamanlarda fonksiyonel gıdalar ve içecekler üzerine yapılan araştırmalar, yalnızca biyoaktif bileşenlerin varlığını belirlemekle sınırlı kalmayıp, bu bileşenlerin gıda matriksi içindeki davranışları, stabiliteleri ve biyoyararlanımları üzerine odaklanmaktadır. Bununla birlikte, biyoaktif bileşenlerin işleme ve depolama sırasında kararsızlık göstermesi, düşük biyoyararlanım ve doğal kaynaklardaki değişkenlik gibi bazı sınırlamalar hâlen devam etmektedir. Bu sorunların aşılması amacıyla mikroenkapsülasyon, nanoemülsiyon ve protein veya polimer bazlı taşıyıcı sistemler gibi ileri teknolojilerin geliştirilmiş olup, bu teknolojilerin fonksiyonel bileşenlerin korunmasında önemli potansiyel sunduğu belirtilmektedir (Ganea et al., 2025).

Tüm bu değerlendirmeler doğrultusunda, fonksiyonel gıdalar ve özellikle fonksiyonel içecekler, biyoaktif bileşenlerin etkin kullanımı, sürdürülebilir hammadde değerlendirme yaklaşımları ve ileri gıda işleme teknolojilerinin entegrasyonu ile gıda mühendisliği alanında önemli bir araştırma ve geliştirme alanı olarak öne çıkmaktadır.

Bu çalışmada, peynir altı suyu tozu temel matriks olarak seçilmiş; zeytin yaprağı ve üzüm posasından elde edilen fenolik ekstraktların ilavesiyle fonksiyonel bir içecek formülasyonu geliştirilmiştir (Şekil 2.1) ((Wootton-Beard & Ryan, 2011)' den uyarlanmıştır). Geliştirilen ürün hem sıvı içecek formu hem de dondurarak kurutma yöntemiyle toz form olarak değerlendirilmiş; böylece farklı tüketim ve depolama koşullarına uygun çok formatlı bir fonksiyonel ürün elde edilmesi hedeflenmiştir.



Şekil 2.1. Fonksiyonel içeceklerin sınıflandırılması ve bu çalışmanın konumlandırılması

2.2. Peynir altı suyu tozu ve kullanım alanları

2.2.1. Peynir altı suyunun tanımı ve bileşimi

Peynir altı suyu, sütün peynir mayası veya organik asitler ile işlem gördükten sonra peynir pıhtısının oluşumu sırasında ortaya çıkan ve ayrılan yeşilimsi-sarı renkteki sıvıdır (Mehra et al., 2021). Türk Gıda Kodeksi peynir tebliğine göre peynir altı suyu; pıhtı kesimi sonrasında pıhtıdan ayrılan ve teleme dışında kalan yeşilimsi-sarı renkteki sıvı olarak tanımlanmaktadır (TGK, 2015). Peynir altı suyunun bileşimi; kullanılan sütün bileşimine, peynir üretiminde uygulanan teknolojiye, pıhtılaştırma yöntemine (asit veya enzimatik), işlem sıcaklığına ve süreye bağlı olarak değişiklik gösterebilmektedir (Yüksel et al., 2019). Bu değişkenliğe rağmen genel olarak peynir altı suyunun çözünebilir proteinler, laktoz, mineraller ve vitaminler açısından zengin bir bileşime sahip olduğu bilinmektedir (Kurt, 1980).

Peynir altı suyunun yaklaşık %93–95 inin sudan oluşmasına rağmen, içerdiği besin öğeleri nedeniyle önemli bir değer taşıdığı belirtilmektedir. Özellikle laktoz ve protein içeriği bakımından süt bileşenlerinin önemli bir kısmını içermesi, bu yan ürünün gıda sistemlerinde yeniden değerlendirilmesini gerekli kılmaktadır (Mirzakulova et al., 2025) Bu bağlamda peynir altı suyu, yalnızca bir atık ürün olarak değil, aynı zamanda besin değeri yüksek ve fonksiyonel özelliklere sahip bir hammadde olarak ele alınmaktadır. Söz konusu özellikler, peynir altı suyunu gıda endüstrisinde çok yönlü ve yüksek potansiyele sahip bir bileşen konumuna taşımaktadır.

2.2.2. Peynir altı suyu protein fraksiyonları

Peynir altı suyu proteinleri, farklı moleküler yapıya ve biyolojik aktiviteye sahip majör ve minör protein fraksiyonlarından oluşmaktadır. Başlıca majör proteinler arasında β-laktoglobulin, α-laktalbümin, serum albümini ve immünoglobulinler yer alırken, laktoferrin, laktoperoksidaz ve lizozim gibi bileşenler minör protein fraksiyonlarını oluşturmaktadır. Bu proteinlerin her biri farklı fonksiyonel özellikler göstermekte olup, gıda sistemlerinde çok yönlü kullanım imkânı sunmaktadır (Pihlanto, 2011). Peynir altı suyu proteinde β-laktoglobulin, laktalbumin, serum albumini, immünoglobülinler, laktoferrin ve proteoz-pepton fraksiyonları bulundurmakta; aynı zamanda β-mikroglobulin, lizozim, insülin benzeri büyüme faktörü, diğer globulinler ve başka birçok küçük moleküllü protein de içermektedir (Alvarado Pérez et al., 2018)

Peynir altı suyu proteinleri, gıda endüstrisinde yüksek besleyici değere sahip fonksiyonel bileşenler olarak tanımlanmakta ve teknolojik özellikleri nedeniyle geniş bir kullanım alanı bulmaktadır. Bu proteinler: emülsifikasyon, yağ bağlama kapasitesi, kıvam artırma, köpük oluşturma, aroma bağlama ve jel oluşturma gibi önemli fonksiyonel özelliklere sahiptir (McClements, 1995) Bu özelliklerin temelinde proteinlerin su, yağ ve hava fazları ile olan etkileşimleri yer almakta olup, bu etkileşimler ürünün stabilitesi, tekstürü ve duyusal özellikleri üzerinde doğrudan etkili olmaktadır. Özellikle α-laktalbüminin yüksek emülsifiye etme ve köpürme kapasitesine sahip olduğu ve bu nedenle gıda formülasyonlarında önemli bir rol oynadığı bildirilmektedir (Jeličić et al., 2008).

Peynir altı suyu proteinlerinin fonksiyonel özellikleri, uygulanan proses koşullarına bağlı olarak değişim gösterebilmektedir. Özellikle ısıl işlemler sonucunda proteinlerin denatürasyonu ve agregasyonu gerçekleşmekte, bu durum jel oluşumu ve viskozite artışı gibi yapısal değişikliklere yol açmaktadır. Bu tür değişimler, peynir altı suyu proteinlerinin farklı gıda sistemlerinde istenilen teknolojik özellikleri sağlamasına olanak tanımaktadır (Rs et al., 2015b). Proses koşullarının kontrol altında tutulması, bu sayede ürün kalitesinin ve fonksiyonelliğinin güvence altına alınması açısından kritik önem taşımaktadır.

2.2.3. Peynir altı suyunun sağlık üzerindeki etkileri

Peynir altı suyunun insan sağlığına olumlu etkileri ve fonksiyonel özellikleri göz önünde bulundurulduğunda, değerlendirilmesinin önemi daha da artmaktadır. Geleneksel olarak peynir altı suyu proteini, sporcular ve vücut geliştirici bireyler için kas büyümesini teşvik etmek amacıyla kullanılsa da yapılan güncel çalışmalar klinik tedavilerde ve birçok sağlık sorununun üstesinden gelmek amacıyla kullanılmasını da gündeme getirmiş ve sağlığı iyileştirme ve sürdürmede kullanılabileceği ifade edilmiştir (Solak & Akin, 2012). Bu gelişmeler, peynir altı suyu proteininin tıbbi beslenme ürünlerinde de önemli bir bileşen olarak değerlendirilmesine zemin hazırlamaktadır.

Peynir altı suyu proteini sahip olduğu yüksek kalitede protein ve amino asitler sayesinde büyüme ve gelişme üzerinde olumlu etkiler sağlamaktadır (El-Aidie & Khalifa, 2024). Peynir altı suyunda bulunan kalsiyum, fosfor, laktoz ve serum proteinleri, peynir altı suyu proteininin besin değerini yükseltmekte, mineral maddelerin emilimine yardım etmekte ve sindirim sırasında ince bağırsaklarda istenilen asidik ortamı oluşturmaktadır (Tsai et al., 2000). Bu özellikler bir arada değerlendirildiğinde, peynir altı suyunun kemik sağlığı ve sindirim sistemi işlevleri üzerinde de dolaylı katkılar sağladığı görülmektedir.

İnflamatuar veya oksidatif stres kistik fibroz, pnömoni, diyabet, kanser, ateroskleroz, miyokardiyal enfarktüs, yaşlanma ve başka birçok dejeneratif hastalığın nedeni olmaktadır. Peynir altı suyu proteinlerinin bileşiminde yer alan laktoferrinin, enfeksiyon, iltihaplanma ve tümör gelişimi gibi patolojik durumlarda serum konsantrasyonunun belirgin biçimde arttığı bildirilmiştir.

Bu sebeple laktoferrinin tüketim miktarının artırılmasının destekleyici tedavi sağlayabileceği değerlendirilmiştir (Kowalczyk et al., 2022). Söz konusu bulgular, peynir altı suyu proteinlerinin yalnızca besleyici değil, aynı zamanda terapötik potansiyele sahip bileşenler olduğunu da ortaya koymaktadır.

2.2.4. Peynir altı suyunun içecek endüstrisinde kullanımı

Peynir altı suyunun değerlendirilmesi farklı fiziksel formlarda gerçekleştirilmektedir. Sıvı peynir altı suyu doğrudan hayvan beslenmesinde, maya üretiminde, içeceklerde ve pastacılık ürünlerinde kullanılabilmektedir. Bunun yanı sıra, peynir altı suyunun kurutulması ile elde edilen toz form daha geniş kullanım olanakları sunmaktadır. Toz peynir altı suyu hem insan hem de hayvan beslenmesinde yaygın olarak kullanılmakta olup, özellikle gıda sanayisinde fonksiyonel bir bileşen olarak değerlendirilmektedir. Minerali uzaklaştırılmış (demineralize) peynir altı suyu tozu, özellikle yüksek demineralizasyon düzeylerinde (%70–90) bebek beslenmesinde tercih

edilirken; peynir altı suyu protein konsantresi (WPC) ve izolatı (WPI) çeşitli gıda ürünlerinde katkı maddesi olarak kullanılmaktadır. Bu ürünler süt ürünleri, unlu mamuller ve et ürünlerinde de yaygın biçimde yer almaktadır (Zandona et al., 2021).

Bu farklı formlar içinde, peynir altı suyunun içecek sektöründeki kullanımı son yıllarda özellikle dikkat çeken bir uygulama alanı hâline gelmiştir. Peynir altı suyu proteinlerinin yüksek çözünürlüğe sahip olması, hafif tat profili ve dengeli besin bileşimi, bu bileşeni içime hazır ve süt bazlı içeceklerin geliştirilmesi için uygun kılmaktadır. Bu kapsamda peynir altı suyu, tek başına veya diğer bileşenlerle birlikte farklı içecek formülasyonlarında kullanılmaktadır. Peynir altı suyu içecekleri genel olarak dört ana grupta sınıflandırılmaktadır: meyve veya sebze suları ile hazırlanan içecekler, süt bazlı (fermente veya fermente olmayan) içecekler, susuzluk giderici gazlı içecekler ve alkollü içecekler. Özellikle meyve suyu ilaveli içeceklerde turunçgil ve tropik meyveler gibi bileşenlerin kullanılması, peynir altı suyuna özgü tat ve aroma özelliklerinin maskelenmesinde önemli bir rol oynamakta; ayrıca bu tür formülasyonlar ürünün besin değerinin artırılmasına da katkı sağlamaktadır (Akal et al., 2022).

Tarihsel açıdan değerlendirildiğinde, peynir altı suyunun içecek olarak kullanımı eski dönemlere kadar uzanmakta olup, günümüzde fonksiyonel içecek trendlerinin artmasıyla birlikte bu alandaki çalışmalar hız kazanmıştır. Bu alandaki ilk ticari örneklerden biri, İsviçre'de üretilen ve günümüzde de üretimi süren gazlı, fermente peynir altı suyu içeceği Rivella'dır. Bugüne kadar proteinlerinden arındırılmış, fermente edilmiş, sulandırılmış veya kurutulmuş farklı formlarda çok sayıda peynir altı suyu içeceği geliştirilmiş; son yıllarda ise peynir altı suyu bazlı fonksiyonel içeceklerin geliştirilmesi ve üretimi giderek yaygınlaşmıştır (Shraddha RC & Nalawade T, 2015).

Bu ticari çeşitlenmeye paralel olarak, peynir altı suyu içeceklerinin formülasyonlarında da önemli gelişmeler kaydedilmiştir. Bu içeceklere farklı oranlarda (yaklaşık %5–20 kuru madde aralığında) meyve konsantreleri ilave edilerek çeşitli ürünler geliştirilmiştir. Özellikle turunçgil ve tropikal meyve aromalarının kullanımı, peynir altı suyuna özgü istenmeyen tat ve aromaların maskelenmesinde etkili olmaktadır. Bunun yanı sıra elma, şeftali, armut, kayısı ve kiraz gibi meyve konsantreleri de formülasyonlarda yer almakta; antioksidan açısından zengin dut ve benzeri meyvelerin kullanımıyla ürünlerin fonksiyonel özellikleri güçlendirilmektedir (Jeličić et al., 2008).

Meyve bazlı katkıların ötesinde, peynir altı suyu içeceklerinde çikolata, vanilya, tahıllar ve bal gibi farklı bileşenler de kullanılabilmektedir. Ayrıca hipoalerjenik içeceklerin geliştirilmesinde patates veya soya protein izolatları gibi bitkisel protein kaynakları kullanılmakta; esansiyel yağ asitleri ve diyet lifleri ilavesiyle besin değeri artırılmış ürünler elde edilmektedir. Süt bazlı peynir altı suyu içecekleri ise peynir altı suyunun süt ile farklı oranlarda karıştırılmasıyla elde edilmekte olup, bu sistemlerde hem besin değeri hem de fonksiyonel özellikler geliştirilmektedir. Literatürde yer alan çalışmalar, peynir altı suyunun belirli oranlarda kullanılması durumunda içeceklerin duyusal özelliklerinin iyileştiğini ve tüketici kabulünün arttığını göstermektedir. Bunun yanı sıra, peynir altı suyunun fermente içeceklerde kullanımı mikrobiyal aktiviteyi destekleyerek ürünün fonksiyonel özelliklerinin geliştirilmesine katkı sağlamaktadır (Jeličić et al., 2008).

Formülasyon çeşitliliğinin yanında, duyusal kaliteyi iyileştirmeye yönelik katkı maddeleri de peynir altı suyu içeceklerinin geliştirilmesinde önemli bir yer tutmaktadır. Fonksiyonel ve/veya biyoaktif bileşenlerin takviyesi çeşitli çalışmalarda farklı araştırmacılar tarafından defalarca rapor edilmiş ve üretim için farklı şemalar önerilmiştir (Jeličić et al., 2008; Smithers, 2008). Duyusal özelliklerin iyileştirilmesi amacıyla tatlandırıcı, aroma verici ve lezzet geliştirici nitelikte çeşitli katkı maddeleri kullanılmakta; metal glukonat, sitrik asit, fruktoz, sükroz ve laktoz hidrolizatları gibi bileşenlerin ilavesi önerilmektedir. Bazı çalışmalarda CO_2 ilavesinin de istenmeyen tat ve kokuların maskelenmesinde etkili olduğu, bal kullanımının ise ürünlerin vitamin, mineral ve fitokimyasal içeriğini artırdığı belirtilmektedir (Jeličić et al., 2008).

Bununla birlikte, peynir altı suyu bazlı içecek üretiminde bazı teknolojik zorluklar da bulunmaktadır. Laktoz kristalizasyonu, ısıl işlem sırasında proteinlerin pıhtılaşması, yüksek viskozite nedeniyle ısı transferinin zorlaşması ve mineral içeriğine bağlı olarak oluşan istenmeyen tatlar bu zorluklar arasında yer almaktadır (Akal et al., 2022). Ancak bu problemlere rağmen, peynir altı suyunun sahip olduğu fonksiyonel özellikler bu bileşenin içecek sistemlerinde kullanımını cazip kılmaktadır. Sonuç olarak, peynir altı suyu ve özellikle peynir altı suyu tozu; besleyici içeriği, teknolojik fonksiyonel özellikleri ve farklı gıda sistemlerine kolaylıkla entegre edilebilmesi sayesinde gıda endüstrisinde geniş bir kullanım alanına sahiptir. Özellikle fonksiyonel içeceklerin geliştirilmesinde uygun bir matriks olarak değerlendirilmesi, bu bileşenin hem bilimsel hem de endüstriyel açıdan önemini artırmaktadır.

Bu bağlamda, mevcut çalışmada peynir altı suyu tozu fonksiyonel içecek formülasyonu için temel matriks bileşeni olarak tercih edilmiştir. İyi çözünürlük özellikleri ve taşıyıcı sistem oluşturma kapasitesi, zeytin yaprağı ve üzüm posası kaynaklı fenolik bileşiklerle kombinasyonunu uygun kılmaktadır. Ayrıca peynir altı suyu tozunun dondurarak kurutma sürecinde yapısal kararlılığını büyük ölçüde koruyabilmesi, toz ürün geliştirilmesi açısından da avantaj sağlamaktadır (Haas et al., 2024).

2.3. Gıda atıkları ve değerlendirilmesi

2.3.1. Gıda atığının tanımı ve küresel boyutu

Gıda atığı, gıda işleme endüstrileri, evler ve konaklama sektörü dahil olmak üzere çeşitli kaynaklardan açığa çıkan biyolojik olarak parçalanabilir atıkları kapsamaktadır (Paritosh et al., 2017). 2019 yılında %61'i hanelerden, %26'sı gıda hizmetlerinden ve %13'ü perakendeden olmak üzere yaklaşık 931 milyon ton gıda atığı üretildiği tahmin edilmektedir (UNEP, 2021). Gıda israfının azaltılması, gelişmekte olan ülkelerin çoğunun açlık endeksi açısından kötü performans göstermesi ve yaklaşık 800 milyon insanın kronik açlıkla karşı karşıya kalması nedeniyle gıda sektörünün en kritik sürdürülebilirlik sorunlarından biridir (FAO, 2014). Bu veriler, gıda atığı yönetiminin yalnızca bir çevre meselesi olmadığını, aynı zamanda insani ve etik bir boyutu da barındırdığını açıkça ortaya koymaktadır.

Uygun olmayan atık yönetimi, çeşitli çevre sorunlarına ve sağlık tehlikelerine neden olmaktadır (Debnath et al., 2021). Organik gıda atıkları yüksek su ve besin içeriği nedeniyle hastalığa neden olan mikroorganizmalar için üreme alanı sağlar ve ciddi çevre ve sağlık sorunlarına yol açar (Bilal & Iqbal, 2019). Buna ek olarak, gıda atıkları sera gazı

emisyonlarına katkıda bulunmaktadır (Moult et al., 2018). Gıda kaybı ve israfı sadece sosyal veya çevresel bir sorun değil, aynı zamanda önemli bir ekonomik kaybı temsil etmekte ve küresel ekonomiye yılda 936 milyar dolara mal olmaktadır (Jamaludin et al., 2022). Bu boyutuyla değerlendirildiğinde, gıda atığının kontrolsüz birikimi hem halk sağlığını hem de ulusal ekonomileri doğrudan tehdit eden bir sorun olarak karşımıza çıkmaktadır.

2.3.2. Gıda atıklarının değerlendirilme stratejileri

Gıda atıklarının değerlendirilmesi sürdürülebilirlik açısından büyük önem taşımaktadır. Gıda atıklarının değerli ürünlere sürdürülebilir bir şekilde biyolojik olarak dönüştürülmesi hem ekonomik avantaj sağlamakta hem de çevrede ve çöplüklerde gıda atıklarının ayrışmasından kaynaklanan olumsuz etkileri azaltmaktadır (Bilal & Iqbal, 2019). Bu kapsamda gıda atıkları, etanol, metan, hidrojen, enzimler, biyopolimerler ve biyoplastikler gibi çeşitli katma değerli ürünlerin geliştirilmesi için mikrobiyal hammadde olarak kullanılabilmektedir (Rajkumar & Kurinjimalar, 2022). Söz konusu dönüşüm teknolojileri hem atık miktarını azaltmakta hem de doğal kaynak tüketimini sınırlandırarak döngüsel bir ekonomi anlayışının temellerini oluşturmaktadır.

Gıda geri kazanım hiyerarşisine göre, gıda atıklarının yönetiminde ilk adım atık oluşumunun önlenmesi, ikinci adım fazla gıdanın bağış yoluyla değerlendirilmesi olup, bunu hayvan yemi olarak kullanım, endüstriyel kullanım (biyoyakıt ve biyoürün üretimi), kompostlaştırma ve son olarak yakma veya depolama takip etmektedir. Bununla birlikte, gıda atıklarının hayvan beslenmesinde kullanılması, kompostlaştırılması, yakılması veya çöp sahalarına boşaltılması gibi yöntemler, toksik emisyonlar nedeniyle sürdürülebilir veya çevre dostu stratejiler olarak her zaman yeterli görülmemektedir (Gómez-García et al., 2021). Bu nedenle günümüzde araştırmacıların ilgisi daha yenilikçi ve çevre dostu değerlendirme yaklaşımlarına yönelmektedir.

Gıda atıklarının değerlendirilmesindeki güncel eğilim, yüksek katma değerli ürünlerin üretimi için alternatif hammaddelerin geliştirilmesine odaklanmaktadır (Oliver-Simancas et al., 2021). Gıda atıklarının ana içeriği, gıda sanayi atıkları ile birlikte hazırlık işlemleri sırasında atılan taze gıdalardan oluşmaktadır (Alvi et al., 2022). Bu atıklardan geri kazanılan bileşenler: proteinler ve polisakkaritler gibi makromoleküller ile vitaminler, antioksidanlar ve mikro besinler gibi düşük molekül ağırlıklı bileşikler olarak sınıflandırılmaktadır (Leichtweis et al., 2021). Katma değeri yüksek bileşenlerin geri kazanılmasında kurutma, homojenizasyon, partikül boyutunun küçültülmesi, ekstraksiyon, izolasyon ve saflaştırma gibi çeşitli teknolojiler kullanılmaktadır (Galanakis, 2012).

2.3.3. Meyve ve sebze atıklarının biyoaktif potansiyeli

Meyve ve sebze atıkları, gıda endüstrisinde üretilen atığın önemli bir kısmını (%42) oluşturmaktadır (Ganesh et al., 2022). Meyve ve sebze işleme prosesinde ham kütlenin %10–35'ini oluşturan posa şeklinde nispeten büyük miktarda atıklar ortaya çıkmaktadır (Gouw et al., 2017). Üreticiler tonlarca posayı doğrudan çöp sahalarına atmakta ve bu durum ciddi çevre sorunlarına neden olmaktadır (Laura et al., 2021). Meyve ve sebze atıkları dolaylı olarak toprak, su, enerji ve iş gücü gibi kaynakların israfına da yol açmaktadır (Venkat, 2011; Vilariño et al., 2017). Tüm bu olumsuz etkiler,

söz konusu atıkların daha verimli ve katma değerli biçimde değerlendirilmesini zorunlu kılmaktadır.

Meyve ve sebze işleme yan ürünleri, yüksek katma değerli biyoaktif bileşenler açısından zengin kaynaklardır (Kurek et al., 2022). Bu bileşenler arasında fenolikler, fenolik asitler, flavonoidler, tanenler, saponinler, terpenoidler ve alkaloidler yer almaktadır (Gyawali & Ibrahim, 2014). Bitki yan ürünlerinde hidrofilik (antosiyaninler, flavonoidler, C vitamini) ve lipofilik (karotenoidler, tokoferoller) antioksidan bileşenler bulunmaktadır (Kurek et al., 2022; Roselló-Soto et al., 2015). Fenolik bileşikler, sahip oldukları serbest hidroksil grupları sayesinde yüksek indirgeme gücüne sahip olup antioksidan özellik göstermekte ve aynı zamanda proteinlerle etkileşerek antimikrobiyal etki oluşturabilmektedir (Vaithiyanathan et al., 2011). Bu nedenle meyve ve sebze atıkları doğal biyoaktif bileşenlerin geri kazanımı açısından önemli bir potansiyele sahiptir.

Gıda atıkları, flavonoidler, fenolik asitler, β-karoten ve C vitamini gibi önemli miktarda biyoaktif bileşenler içermektedir (Alvi et al., 2022). Bu bileşikler antioksidan özellik göstermekte, anti-inflamatuar, antibakteriyel, antiviral ve antikanser etkiler sergileyebilmektedir (W. Zhang et al., 2024). Meyve ve sebze atıkları, enerji üretimi, kompostlaştırma gibi geleneksel yöntemlerin yanı sıra, fonksiyonel gıdalarda katkı maddesi olarak kullanım, biyoaktif bileşen ekstraksiyonu, yenilebilir film üretimi, nutrasötik uygulamalar ve gıda zenginleştirme gibi yenilikçi alanlarda da değerlendirilebilmektedir (Ganesh et al., 2022; Majerska et al., 2019). Bu kapsamda söz konusu atıklar, hem çevresel sürdürülebilirliğin sağlanmasına katkıda bulunmakta hem de gıda endüstrisinde katma değeri yüksek ürünlerin geliştirilmesine olanak tanımaktadır.

Hayvansal atıklar da benzer şekilde yüksek besin değerine sahip olup alternatif değerlendirme stratejileri gerektirmektedir (Plazzotta & Manzocco, 2019). Et işleme yan ürünleri protein açısından zengin olup fonksiyonel özellikler kazandırabilmektedir (Borrajo et al., 2019). Ayrıca süt endüstrisi yan ürünlerinden, özellikle peynir altı suyundan, laktoz ve değerli protein fraksiyonları elde edilebilmekte ve bu bileşenler çeşitli gıda uygulamalarında kullanılabilmektedir (Besediuk et al., 2024; Plazzotta & Manzocco, 2019). Sonuç olarak, gıda atıkları yalnızca çevresel bir sorun değil, aynı zamanda yüksek katma değerli bileşenlerin geri kazanımı için önemli bir kaynak olarak değerlendirilmektedir. Özellikle meyve ve sebze atıkları, içerdiği fenolik bileşikler ve diğer biyoaktif bileşenler sayesinde fonksiyonel gıda geliştirme çalışmalarında önemli bir potansiyele sahiptir.

Bu çalışmada üzüm posası ve zeytin yaprağı biyoaktif bileşen kaynağı olarak seçilmiştir. Her iki materyal de gıda/tarım sektöründe büyük miktarlarda atık olarak ortaya çıkmakta olup, fenolik bileşik içerikleri bakımından fonksiyonel içecek üretiminde değerlendirilmeye elverişlidir. Bu yaklaşım hem sürdürülebilir bir atık değerlendirme stratejisi sunmakta hem de geliştirilen ürünün antioksidan kapasitesini artırmaktadır.

2.4. Fenolik bileşikler ve antioksidan özellikleri

2.4.1. Fenolik bileşiklerin genel özellikleri ve sınıflandırılması

Fenolik bileşikler, bitki âleminde en bol bulunan ve en yaygın şekilde dağılım gösteren fitokimyasallardır; bitkilerin en fazla miktarda üretilen ikincil metabolitleri

arasında yer almaktadır (Dai & Mumper, 2010). Sağlık üzerindeki potansiyel faydaları nedeniyle en çok çalışılan doğal bileşikler arasında bulunmaktadır. Fenolik bileşikler, fenoller ve polifenoller terimleri; en az bir aromatik halka ve bu halkaya bağlı bir veya daha fazla hidroksil (–OH) grubu içeren, metil eterler, esterler ve glikozitler gibi fonksiyonel türevleri de kapsayan çok sayıda bileşiği ifade etmektedir. Günümüzde 8000'den fazla fenolik yapı tanımlanmış olup, bu bileşiklerin yapıları basit bir fenolik molekülden (örneğin fenol) yüksek molekül ağırlıklı kompleks polimerlere (örneğin tanenler) kadar geniş bir çeşitlilik göstermektedir (Dai & Mumper, 2010; Y. Zhang et al., 2022).

Fenolik bileşikler, bitkilerin normal büyüme süreçlerinde ve patojen saldırısı, ultraviyole (UV) radyasyon gibi çeşitli çevresel streslere yanıt olarak üretilmektedir (Dai & Mumper, 2010). Meyvelerdeki fenolik bileşik miktarı; olgunluk düzeyi, çeşit, iklim, toprak yapısı ve coğrafi konum gibi faktörlerden etkilenmektedir. Bu faktörlerin dikkate alınması, özellikle hammadde seçimi ve standardizasyonu açısından fonksiyonel gıda geliştirme çalışmalarında kritik bir öneme sahiptir. Bitkilerde bulunan fenolik bileşikler, kimyasal yapılarına ve içerdikleri karbon iskeletine göre başlıca fenolik asitler, flavonoidler, tanenler, stilbenler ve lignanlar olmak üzere çeşitli gruplara ayrılmaktadır (Y. Zhang et al., 2022). Çözünürlük açısından ise fenolik bileşikler genel olarak suda çözünebilenler (flavonoidler, fenolik asitler, fenilpropanoidler) ve suda çözünmeyenler (tanenler ve ligninler) şeklinde iki ana sınıfta değerlendirilebilmektedir.

Birçok çalışma, fenolik içerik ile antioksidan aktivite arasında güçlü bir ilişki olduğunu göstermiştir. Fenoliklerin antioksidan aktivitesi redoks özelliklerinden kaynaklanmakta olup, bu bileşiklerin tekil oksijen söndürücü, indirgen ajan ve hidrojen verici olarak görev yapabilmelerine dayanmaktadır. Fenolik bileşiklerin aromatik halkaya bağlı hidroksil (–OH) grupları, reaktif oksijen türlerini temizleyebilen güçlü hidrojen verici antioksidanlar olarak işlev görmekte ve serbest radikal oluşum zincirini kesmektedir; ayrıca metal iyonlarını şelatlayarak oksidatif sürecin hem başlangıç hem de ilerleme aşamasında etkili olabilmektedir (Vuolo et al., 2019). Bu bileşikler, bitki gelişimi ve savunma mekanizmaları gibi birçok işlevde rol oynamanın yanı sıra insan sağlığı üzerinde de olumlu etkiler göstermekte; anti-inflamatuar, antikanser, antimikrobiyal, antialerjik, antiviral, antitrombotik ve hepatoprotektif gibi çeşitli biyolojik ve farmakolojik özellikler sergilemektedir (Dai & Mumper, 2010).

2.4.2. Fenolik bileşiklerin ekstraksiyonu

Bitkisel materyallerden fenolik bileşiklerin ekstraksiyonu sırasında mumlar, lipitler, terpenler ve pigmentler gibi fenolik olmayan bileşenlerin uzaklaştırılması için çeşitli teknikler ve modifikasyonlar gereklidir (Castellano et al., 2012; Pandey & Rizvi, 2009). Genel olarak fitokimyasal ekstraksiyonunda en yaygın kullanılan çözücüler organik çözücüler ve bunların sulu karışımlarıdır. Ancak polifenol ekstraksiyonu için en uygun çözücünün hangisi olduğu hâlâ kesin olarak belirlenememiştir (Liu et al., 2000). Polifenoller farklı yapısal özelliklere sahip olduğundan (çok sayıda hidroksil grubu içermeleri, şekerler, asitler veya alkil grupları ile konjuge olmaları gibi), ekstraksiyon işlemi kullanılacak çözücüye göre değerlendirilip uyarlanmalıdır (Kumar & Goel, 2019).

Ekstraksiyon verimi, kullanılan çözücünün türü ve polaritesi, ekstraksiyon süresi, sıcaklık, örnek/çözücü oranı, kimyasal bileşim ve fiziksel özellikler gibi birçok faktörden etkilenmektedir. Fenolik bileşiklerin çözünürlüğü, bitki materyalinin kimyasal yapısına

ve kullanılan çözücünün polaritesine bağlıdır. Bitkisel materyaller, basit yapıdaki fenoliklerden (örneğin fenolik asitler, antosiyaninler) yüksek derecede polimerize bileşiklere (örneğin tanenler) kadar farklı yapı ve miktarlarda fenolik bileşikler içerebilir (Naczk & Shahıdı, 2004). Ayrıca fenolik bileşikler karbonhidratlar ve proteinler gibi diğer bitki bileşenlerine bağlı halde bulunabilir. Bu nedenle tüm fenolik bileşikleri kapsayan standart bir ekstraksiyon yöntemi bulunmamaktadır (Castellano et al., 2012; Liu et al., 2000). Metanol, etanol, aseton ve etil asetat gibi çözücüler genellikle su ile farklı oranlarda karıştırılarak kullanılmaktadır ve uygun çözücü seçimi polifenol ekstraksiyonunu önemli ölçüde etkilemektedir (Naczk & Shahıdı, 2004).

2.4.3. Toplam fenolik içeriğin belirlenmesi: Folin-ciocalteu yöntemi

Fenolik bileşik analizlerinde en yaygın kullanılan ve antioksidan kapasiteyle doğrudan ilişkilendirilen parametrelerin başında toplam fenolik içerik (TFİ) gelmektedir. TFİ tayininde en sık başvurulan yöntem Folin-Ciocalteu (FC) yöntemidir (Shahidi & Zhong, 2015). Bu yöntem başlangıçta Folin & Ciocalteu, 1927 tarafından protein analizinde, fenolik grup içeren tirozin aminoasidinin reaktifle verdiği reaksiyona dayalı olarak geliştirilmiş; ardından (Singleton et al., 1999) tarafından şaraptaki fenolik bileşenlerin analizi amacıyla uyarlanarak günümüzdeki yaygın kullanım biçimine kavuşturulmuştur.

FC yönteminin temel prensibi, fenolik bileşiklerin alkali koşullar altında FC reaktifini indirgemesine dayanmaktadır. FC reaktifinin kimyasal yapısı tam olarak aydınlatılamamış olmakla birlikte, fosfomolibdik/fosfotungstik asit komplekslerini içerdiği kabul edilmektedir. Bu kompleksler fenolik bileşikler ve diğer indirgen türler tarafından indirgenerek, molibden merkezinde elektron transferi gerçekleşmektedir (Mo+5'ten Mo+4'e). Oluşan mavi renkli kompleks, 750–765 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak ölçülebilmektedir (Singleton & Rossi, 1965). Bu nedenle FC yöntemi, indirgeme gücüne dayalı antioksidan kapasite ölçümüyle de ilişkilendirilmektedir. Sonuçlar gallik asit eşdeğeri (GAE) cinsinden ifade edilmekte olup, gallik asitin yanı sıra tannik asit, kateşin, kafeik asit, klorojenik asit ve vanilik asit eşdeğerleri de referans olarak kullanılabilmektedir (Gülçin, 2011).

FC yöntemi basit, tekrarlanabilir ve sağlam bir yöntem olarak değerlendirilmekle birlikte, pH, sıcaklık ve reaksiyon süresi duyarlılığı gibi çeşitli dezavantajları da bulunmaktadır (Karadag et al., 2009; Shahidi & Zhong, 2015). Reaksiyon, pH 10 değerinde gerçekleşmekte olup bu ortam sodyum karbonat ilavesiyle sağlanmaktadır. Söz konusu alkali koşullarda fenolik protonun ayrışması sonucunda oluşan fenolik anyon, FC reaktifinin indirgeme kapasitesi kazanmaktadır. (Singleton et al., 1999), analizin oda sıcaklığında yürütülmesini ve reaksiyon karışımındaki Na_2CO_3 konsantrasyonunun %3'ü aşmamasını önermiştir. Bunun yanı sıra reaksiyon ortamındaki alkol konsantrasyonunun %1'i geçmemesi gerektiği de belirtilmektedir; yüksek metanol konsantrasyonu ince çökeleklerin oluşumuna yol açarak ölçümleri olumsuz etkileyebilmektedir. (Carmona-Hernandez et al., 2021), Kolombiya'da yetişen passion meyvelerindeki polifenol miktarının belirlenmesinde FC analiz koşullarını optimize ettikleri çalışmalarında %3,5'lik sodyum karbonat konsantrasyonunun en uygun değer olduğunu saptamıştır. Daha düşük alkali konsantrasyonlarının TFİ değerlerini düşürdüğü, daha yüksek konsantrasyonların ise bulanıklığa yol açarak spektrofotometrik okumayı bozduğu rapor

edilmiştir. Ayrıca ışıktan korunmanın önemli olduğu, ısıtmanın ise gerekmediği ve oda sıcaklığında 90 dakikalık reaksiyon süresinin yeterli olduğu belirlenmiştir.

FC yönteminin en önemli sınırlılıklarından biri, reaktifin yalnızca polifenoller ile değil, askorbik asit, bazı amino asitler ve glikoz gibi fenolik olmayan organik maddelerle de reaksiyona girerek sonuçları olduğundan yüksek göstermesidir. Bu girişimi gidermek için çeşitli yaklaşımlar önerilmektedir: fenolik bileşiklerin saflaştırma kolonları ile kısmen arındırılması (Apak et al., 2016), girişim yapan bileşiklerin indirgeme kapasitesinin ölçülen fenolik içerikten çıkarılarak düzeltilmiş bir değer hesaplanması (López-Froilán et al., 2018) ve analiz öncesinde askorbat oksidaz/H_2O_2 gibi oksidatif ajanlarla girişim bileşiklerinin giderilmesi (Sánchez-Rangel et al., 2013). Öte yandan, yöntemde kullanılan metanol gibi toksik çözücüler de önemli bir kısıtlama oluşturmaktadır. (D. M. Pereira et al., 2009) tarafından yürütülen bir modifikasyon çalışmasında, metanol yerine etanol ve su gibi alternatif çözücülerin de kullanılabileceği gösterilmiştir. Uygun kalibrasyon eğrileri kullanıldığında, %40 metanol, %40 etanol ve su çözücüleriyle elde edilen gallik asit sonuçları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadığı rapor edilmiştir. Fenolik olmayan indirgeyici bileşiklere karşı gösterdiği reaktivite nedeniyle FC yöntemi, TFİ tayininin yanı sıra örneklerin toplam antioksidan kapasitesinin belirlenmesinde de bir araç olarak önerilmektedir.

2.4.4. Doğal antioksidan kaynakları ve biyolojik etkileri

Doğal kaynaklardan elde edilen antioksidan ve biyoaktif bileşiklere olan ilgi giderek artmaktadır. Meyve ve sebze açısından zengin diyetlerin kardiyovasküler hastalıklara karşı koruyucu etkisi birçok çalışmayla desteklenmiş; ayrıca Akdeniz diyetine sahip toplumlarda meme ve kolon kanseri gibi bazı kanser türlerinin daha düşük oranlarda görülmesi, bu diyetin zeytin ve zeytin ürünleriyle zengin olmasıyla ilişkilendirilmiştir. Bu koruyucu etkiler; antioksidan vitaminler, flavonoidler ve polifenoller gibi bileşiklerin varlığına bağlanmaktadır. Zeytin yaprağından elde edilen fenolik ve flavonoid bileşiklerin çeşitli biyolojik aktivitelere sahip olduğu; bu bileşiklerin zeytin yaprağının farmakolojik etkilerinden sorumlu olduğu veya bu etkileri sinerjik olarak desteklediği ifade edilmektedir (Şahin & Bilgin, 2018; Talhaoui et al., 2015).

Zeytin yaprağı ekstraktının başlıca bileşeni olan oleuropein; antimikrobiyal, antioksidatif, antiviral, antiaterojenik, kardiyoprotektif ve antihipertansif özelliklere sahip, sekoiridoid grubuna ait bir bileşiktir. Işık, yüksek sıcaklık, asit veya baz etkisiyle oleuropein hidroksitirozol ve elenolik aside parçalanmaktadır. Hem suda hem de yağda çözünebilen ve katekol yapısına sahip olan hidroksitirozolün kardiyovasküler hastalıklar ve metabolik sendrom üzerinde güçlü etkileri bulunmakta; bu nedenle farmasötik endüstri açısından yüksek ilgi gören bir molekül olarak öne çıkmaktadır (Talhaoui et al., 2015). Zeytin yaprağı ekstraktında bulunan başlıca fenolik bileşikler arasında oleuropein, hidroksitirozol, verbaskozit, luteolin türevleri (luteolin 7-O-glukozit ve luteolin 4′-O-glukozit) ve çeşitli fenolik asitler yer almaktadır. Oleuropein tüm genotiplerde baskın bileşen olup, ekstraktın toplam antioksidan kapasitesinin bileşenlerin bireysel katkılarının toplamından daha yüksek olması, fenolik bileşikler arasında sinerjik bir etkileşim bulunduğuna işaret etmektedir (Majerska et al., 2019).

Zeytin işleme atıklarından, özellikle zeytin karasuyundan düşük maliyetli fenolik ekstraktlar elde edilerek sentetik antioksidanlara (BHA, BHT) alternatif olarak kullanılabileceği belirtilmektedir. Zeytin kaynaklı hidroksitirozolün yenilebilir yağların

ve balık lipidi açısından zengin gıdaların stabilizasyonunda etkili olduğu; 10–100 ppm aralığındaki konsantrasyonlarda oksidatif stabiliteyi artırdığı, özellikle dondurulmuş balık kasında 50 ppm seviyesinin lipid oksidasyonunu geciktirmede en etkili düzey olduğu belirlenmiştir (Pazos et al., 2005). Bu bulgular, zeytin kaynaklı fenolik bileşiklerin hem gıda koruma hem de insan sağlığının desteklenmesi açısından önemli bir potansiyele sahip olduğunu ortaya koymakta; söz konusu bileşiklerin fonksiyonel gıda formülasyonlarında ve doğal antioksidan uygulamalarında değerlendirilmesine güçlü bir gerekçe sunmaktadır.

2.4.5. DPPH yöntemi ile antioksidan kapasite tayini

Antioksidan kapasitenin belirlenmesi için özellikle radikal giderme kapasitesine dayalı birçok yöntem geliştirilmiştir. En yaygın yöntemler antioksidanın belirli bir radikalle reaksiyona girmesine dayanır. Bu radikaller genellikle renkli olup spektrofotometrik olarak ölçülebilir; örneğin, DPPH ve ABTS yöntemleri bu gruba girmektedir (A. V. Ivanova et al., 2015). DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) radikali koyu mor renktedir ve indirgen maddelerle reaksiyona girdiğinde 515 nm'de absorbans azalır: $DPPH\bullet + InH \rightarrow DPPH^{-} + In\bullet + H^{+}$. Bu yöntem basit ve düşük maliyetli olduğu için yaygın olarak kullanılmaktadır. Ancak bazı dezavantajları mevcuttur; DPPH radikali, biyolojik sistemlerde bulunan daha reaktif radikallerden farklıdır ve bazı antioksidanlar peroksil radikallerle hızlı reaksiyon verirken DPPH ile daha yavaş reaksiyon gösterebilir. Bu nedenle DPPH yöntemi biyolojik sistemleri tam olarak temsil etmemektedir (Foti et al., 2004). Bu sınırlılıklara karşın, DPPH yöntemi hız, tekrarlanabilirlik ve pratikliği nedeniyle gıda analizlerinde standart bir referans yöntemi olarak kabul görmektedir.

2.4.6. Antosiyaninler

Antosiyaninler, antioksidan aktiviteye sahip ve düşük toksisiteleri nedeniyle doğal gıda renklendiricileri olarak umut vadeden bir fenolik bileşik sınıfıdır. Antosiyaninler, şeker grupları içeren antosiyanidinler olup büyük çoğunluğu 3-glikozit formundadır; şeker grupları genellikle antosiyanidinlere 3- veya 5-hidroksil pozisyonlarından bağlanmaktadır. Doğada yaygın olarak altı temel antosiyanidin bulunmaktadır: pelargonidin, siyanidin, peonidin, delfinidin, petunidin ve malvidin. Bunlar arasında siyanidin-3-glikozit doğada en yaygın olanıdır ve toplam monomerik antosiyanin miktarının hesaplanmasında referans olarak kullanılmaktadır (Khoo et al., 2017). Antosiyaninler; mor renkli reçel, içecek, yoğurt içeceği ve karışık meyve suyu üretiminde doğal gıda renklendiricisi olarak kullanılabilmekte olup, önceki çalışmalar fenolik antioksidanların —özellikle antosiyaninlerin— ekstraksiyonunun üzüm posasının değerlendirilmesi açısından uygulanabilir bir yol sunduğunu göstermektedir (Enaru et al., 2021).

Antosiyaninler, mor ve kırmızı tonlarda renk oluşumu nedeniyle özellikle kırmızı üzüm ve şarapların renginden sorumlu pigmentlerdir. Çoğu üzüm çeşidinde antosiyaninler yalnızca meyvenin kabuk kısmında yer almaktadır. Üzümde renk dönüşümünün başladığı ben düşme (veraison) aşamasında oluşmaya başlayan antosiyaninler, olgunlaşma süresince birikerek olgunluk anında maksimum düzeylerine ulaşmaktadır (da Silva et al., 2020). Üzümde bulunan en önemli antosiyanin pigmentleri delfinidin, siyanidin, petunidin, peonidin ve malvidin türevleridir; bu pigmentlerin miktarları çeşide göre farklılık göstermektedir. *Vitis vinifera* üzümlerinde antosiyanidin-3-O-monoglikozitler baskın form olup, siyah üzümlerde rengin temelini malvidin-3-O-

glukozit oluşturmaktadır; diglikozit yapıdaki antosiyaninler ise başlıca Amerikan türlerinde (örneğin *V. riparia, V. rupestris*) ve hibritlerde bulunmaktadır (Zhu et al., 2021).

Vitis vinifera üzümlerinde antosiyanin molekülüne bağlanan şeker büyük ölçüde glikozdur ve genellikle 3. karbon atomundaki (monoglikozitlerde) veya 3. ve 5. karbon atomlarındaki (diglikozitlerde) hidroksil gruplarına bağlanmaktadır. Antosiyanin bileşiklerinde antosiyanidinler ve şekerler dışında bazen üçüncü bir bileşik olarak p-kumarik, ferulik, kafeik veya sinapik asit gibi asiller de yer almakta; bu asiller 3. karbon atomuna bağlı şeker molekülünün 6. karbon atomuna asillenerek bağlanmaktadır. En yaygın antosiyaninler 3-O-glikozitler olup bunlar arasında malvidin-3-O-glukozit en fazla bulunan formdur. Ayrıca antosiyaninlerin suda çözünür olmaları, bu bileşiklerin sulu gıda ortamlarına kolaylıkla dahil edilebilmesini sağlamakta ve doğal renk maddesi olarak gıda teknolojisindeki kullanım potansiyellerini artırmaktadır (Enaru et al., 2021).

Antosiyanin pigmentlerinin stabilitesi; pigmentin yapısı ve konsantrasyonu, pH, sıcaklık, ışık, kopigmentlerin varlığı, metal iyonları, enzimler, oksijen, askorbik asit ve şekerler gibi çok sayıda faktör tarafından belirlenmektedir. Asidik koşullarda antosiyaninler kırmızı renk sergilerken, pH arttıkça renk maviye dönüşmektedir (Khoo et al., 2017). Genel olarak hidroksilasyon derecesinin artması stabiliteyi azaltırken, metilasyon derecesinin artması stabiliteyi yükseltmektedir; bu nedenle pelargonidin, siyanidin veya delfinidin bakımından zengin gıdaların rengi, petunidin veya malvidin bakımından zengin gıdalara kıyasla daha az stabildir. Açilleyici sübstitüentler taşıyan antosiyaninlerin işleme ve depolama süreçlerinde daha kararlı olduğu; bu gelişmiş stabilizasyonun açil gruplarının flavilium katyonuyla istiflenme (stacking) etkileşimine girerek su moleküllerinin nükleofilik saldırısına karşı duyarlılığı azaltmasına bağlandığı ortaya konmuştur (Enaru et al., 2021). Kopigmentasyon da antosiyanin renk ifadesinde önemli bir etken olup, flavonoidler ve sinamat asitleri gibi aromatik bileşiklerle gerçekleşen bu etkileşim hem absorbans artışına hem de stabilite kazanımına yol açmaktadır (Trouillas et al., 2016).

2.4.7. Fenolik bileşiklerin gıda endüstrisinde kullanımı

Bazı çalışmalar, fenolik bileşiklerin gıda endüstrisinde antioksidan olarak kullanımını rapor etmiştir. Farklı biyokütle kaynaklarından elde edilen fenolik bileşiklerin lipit oksidasyonunu önlemek ve ürünlerin raf ömrünü uzatmak amacıyla kullanıldığı bildirilmektedir. Örneğin; mango posası ve yerba mate ekstraktından elde edilen fenolik bileşiklerin palm yağı için antioksidan gıda ambalaj filmlerinde katkı maddesi olarak kullanımı (I. C. F. R. Ferreira et al., 2015), yer fıstığı kabuğu ekstraktından elde edilen fenoliklerin soya yağına eklenmesi (Lorenzo et al., 2018), kakao kabuğu ekstraktının palm olein yağında kullanımı (Teboukeu et al., 2018) ve biberiye ekstraktının kenevir tohumu yağında kullanımı (Moczkowska et al., 2020) bu uygulamalara örnek olarak verilebilir.

Mango posası ve yerba mate ekstraktı, manyok nişastasına eklenerek palmiye yağı ambalajında kullanılan antioksidan özellikli biyobazlı filmler üretilmiştir. Bu filmlerle paketlenen palm yağının 90 gün depolama süresi boyunca oksidasyon hızının azaldığı ve yüksek konsantrasyonda mango posası ve yerba mate ekstraktı içeren filmlerin palm yağının stabilitesini artırdığı belirlenmiştir (Ferreira et al., 2015). Bu bulgular, fenolik bileşik zengin atıkların gıda koruma teknolojilerinde doğrudan uygulanabilirliğini

göstermesi açısından önem taşımakta ve mevcut çalışmada benimsenen sürdürülebilir hammadde yaklaşımını destekler niteliktedir.

2.5. Zeytin yaprağı ve biyoaktif içeriği

2.5.1. Zeytin yaprağının önemi ve üretim potansiyeli

Zeytin ağacı (*Olea europaea L.*), Akdeniz ülkelerinde yetiştirilen en eski kültür bitkilerinden biri olup zeytinyağı tüketiminin sağlık üzerindeki olumlu etkileri nedeniyle son yıllarda dünya genelinde yetiştiriciliği giderek artış göstermektedir (Ghomari et al., 2019; Talhaoui et al., 2015). 2019–2020 yılları arasında dünya genelinde 3,1 milyon tondan fazla zeytinyağı üretildiği tahmin edilmekte olup Türkiye bu üretimde önde gelen ülkeler arasında yer almaktadır (IOC, 2021).

Zeytinin hasat ve işlenmesi sırasında zeytin yaprakları, zeytin posası ve zeytinyağı üretim atık suları gibi çeşitli yan ürünler oluşmaktadır. Bu yan ürünler arasında önemli bir yer tutan zeytin yaprakları, işlenen zeytinlerin yaklaşık %10'unu oluşturmaktadır (Martín-García et al., 2020; Vergara-Barberán et al., 2015). Bunun yanı sıra, zeytin ağaçlarının budanması sırasında ortaya çıkan biyokütlenin yaklaşık %25'ini de zeytin yaprakları meydana getirmektedir (Arslan & Özcan, 2011; Markhali et al., 2020). Bir hektarlık zeytinlikte gerçekleştirilen budama işlemleri sonucunda yaklaşık 1500 kg budama atığı oluşmakta ve bunun yaklaşık 375 kg'ını zeytin yaprağı oluşturmaktadır (Espeso et al., 2021). Bu veriler doğrultusunda, Türkiye genelinde yaklaşık 880 bin hektarlık zeytinlik alanlarda yıllık 1,3 milyon ton budama atığı oluştuğu ve bunun yaklaşık 330 bin tonunun zeytin yaprağı olduğu tahmin edilmektedir. İşleme sırasında oluşan yaprak kayıpları da göz önünde bulundurulduğunda, bu miktarın daha da arttığı öngörülmektedir.

Tüm bu veriler, zeytin yapraklarının yüksek katma değerli ürünlerin üretiminde kullanılabilecek önemli, sürdürülebilir ve ekonomik bir hammadde kaynağı olduğunu açıkça ortaya koymaktadır (Ali Salık et al., 2021). Nitekim zeytin yaprağı, düşük maliyetli, yenilenebilir ve bol miktarda bulunabilen yapısıyla sanayi açısından da giderek artan bir öneme sahip olmakta, günümüzde bitki çayı ve gıda takviyesi olarak ticari ürünlere dönüştürülerek kurutulmuş yaprak, toz, ekstrakt ve tablet formlarında değerlendirilmektedir (Papoti & Tsimidou, 2009; Talhaoui et al., 2015). Öte yandan, zeytinyağı üretimi sırasında zeytinle birlikte işletmeye gelen yapraklar genellikle endüstriyel olarak yeterince değerlendirilmeyerek yan ürün olarak ayrılmakta; kurutularak yakıt veya hayvan yemi olarak kullanılmaktadır (Ranalli et al., 2003). Oysa zeytin yaprağının doğal koruyucular, gıda takviyeleri, kozmetikler ve nutrasötikler gibi biyoaktif bileşikler açısından zengin ürünlerin geliştirilmesinde önemli bir kaynak olarak değerlendirilebileceği bilinmektedir (Şahin & Bilgin, 2018).

Tarihsel süreç içinde de zeytin yaprağının tıbbi alanda önemli bir yere sahip olduğu görülmektedir. Akdeniz bölgesinin ve barışın sembolü olarak tanınan zeytin yaprağı, eski zamanlardan beri geleneksel tıpta yaygın biçimde kullanılmış; tarih boyunca ateş ve sıtma gibi hastalıkların tedavisinde başvurulan bitkisel kaynaklardan biri olmuştur (Al-Azzawie & Alhamdani, 2006). Günümüzde de çeşitli hastalıkların tedavisi ve önlenmesinde tamamlayıcı ve alternatif tıp uygulamaları kapsamında değerlendirilmeye devam edilmekte; içerdiği biyoaktif bileşenler sayesinde sağlık üzerine olumlu etkiler

gösteren zeytin yaprağının terapötik potansiyeli, son yıllarda ikincil metabolitler ve biyoaktif bileşikler üzerine yürütülen bilimsel çalışmalarla da giderek daha güçlü biçimde desteklenmektedir (Afacan et al., 2025).

2.5.2. Zeytin yaprağının kimyasal bileşimi

Zeytin yaprağı, kimyasal bileşimi açısından dikkat çekici ve çok yönlü bir yapıya sahiptir. Ortalama olarak %46,24–49,75 oranında su, %37,14–42,58 oranında karbonhidrat, %5,04–7,61 oranında protein, %1,05–1,30 oranında yağ ve %2,86–4,45 oranında kül içermektedir (Boudhrioua et al., 2009). Karbonhidrat fraksiyonu içerisinde glukoz, fruktoz, miyoinositol, galaktoz, galaktinol, sükroz, rafinoz, stakiyoz ve nişasta gibi çeşitli bileşenler yer almakta; mineral içeriği bakımından ise potasyum, manganez, magnezyum ve bakır açısından zengin bir profile sahip olduğu belirtilmektedir (Souilem et al., 2017). Bu besinsel zenginlik, zeytin yaprağını farklı endüstriyel uygulamalar için değerli bir kaynak haline getirmektedir.

Biyoaktif bileşikler açısından da son derece zengin bir içeriğe sahip olan zeytin yaprağında sekoiridoidler (oleuropein, ligstroside, dimethyloleuropein ve oleoside), flavonoidler (apigenin, kaempferol, luteolin), fenolik bileşikler (kafeik asit, tirozol, hidroksitirozol), karotenoidler, tokoferoller ve klorofil başlıca bileşikler olarak sıralanmaktadır (Ali Salık et al., 2021). Bu zengin bileşik profili, zeytin yaprağının fonksiyonel özelliklerini belirleyen temel unsurdur. Söz konusu bileşikler, hidroksitirosol, tirosol, kateşin ve kafeik asit gibi fenolik bileşikleri de kapsamakta olup bu bileşikler sayesinde zeytin yaprağı son yıllarda önemli bir doğal kaynak olarak giderek daha fazla dikkat çekmektedir (Martín-García et al., 2020).

Fenolik bileşikler bakımından zengin olan bu yapısıyla zeytin yaprağının antioksidan, antifungal ve antibakteriyel özellikler gibi çeşitli biyolojik aktivitelere sahip olduğu bildirilmektedir (A. P. Pereira et al., 2007a). Bu özellikler sayesinde zeytin yaprağı, fonksiyonel değeri yüksek biyoaktif bileşenlerin doğal bir kaynağı olarak değerlendirilmekte; sağlıklı, güvenli ve ekonomik bir antioksidan kaynağı olarak gıda sistemlerinde kullanılarak ürünlerin duyusal ve besinsel özelliklerini korumakta ve raf ömrünü uzatmaktadır (Bouaziz et al., 2008; Boudhrioua et al., 2009; Jemai et al., 2009). Bunlara ek olarak zeytin yaprağının lipid profili üzerinde düzenleyici etkiler gösterdiği, kanser tedavisine destek olabileceği, hipertansiyonun kontrolüne katkı sağlayabileceği ve inflamatuar süreçleri baskılayabileceği de bildirilmektedir (Faccioli et al., 2021).

Bununla birlikte, birçok doğal üründe olduğu gibi zeytin yaprağı ekstraktının kimyasal kompozisyonu, zeytinin yetiştiği bölge, toprağın yapısı, çeşit özellikleri ve kullanılan ekstraksiyon yöntemine bağlı olarak önemli ölçüde değişkenlik gösterebilmektedir (Sudjana et al., 2009). Bu nedenle, bileşiklerin farklı koşullar altındaki stabilitesi ve çözünürlük özelliklerinin korunması, uygun ekstraksiyon yöntemlerinin seçilmesi açısından kritik bir öneme sahiptir. Bu bileşiklerden maksimum düzeyde yararlanılabilmesi, uygun ekstraksiyon yöntemlerinin seçilmesine ve bileşiklerin çözünürlük özelliklerinin korunmasına bağlı olup, bu kapsamda zeytin yaprağı, doğal koruyucular, gıda takviyeleri, kozmetikler ve nutrasötikler gibi biyoaktif bileşikler açısından zengin ürünlerin geliştirilmesinde önemli bir kaynak olarak değerlendirilmektedir (Şahin & Bilgin, 2018).

2.5.3. Başlıca fenolik bileşikler: Oleuropein ve hidroksitirosol

Bu bileşikler arasında oleuropein, zeytin yapraklarında en yaygın bulunan ve hem sofralık zeytinlere hem de doğal zeytinyağına karakteristik acı tadı veren başlıca fenolik bileşiktir (Irakli et al., 2018). Oleuropein, ilk olarak *Olea europaea L.* meyvesinden Bourquelot ve Ventilesco (1908) tarafından izole edilmiş; kimyasal yapısı ise daha sonra Panizzi ve arkadaşları tarafından ayrıntılı biçimde tanımlanmıştır (Bourquelot et al., 1908; Panizzi et al., 1960). Yapısal olarak 3,4-dihidroksifeniletanol (hidroksitirosol) ile β-glukozilat elenolik asidin heterosiklik esterinden oluşan oleuropein, zeytin ağaçlarında bulunan sekoiridoid grubunun acı bileşeni olarak 5 üyeli iridoid halkasından oluşan karakteristik bir yapıya sahiptir (Aouidi et al., 2012; Benavente-García et al., 2000b; Le Tutour & Guedon, 1992). İridoidler, monoterpenlerden (C10) türeyen ve bisiklik geraniol yapısının katlanmasıyla oluşan halka sistemleri ile karakterize edilmekte olup bu yapısal özellikler oleuropeinin biyolojik aktivitesinin temelini oluşturmakta ve fonksiyonel önemini artırmaktadır (Aouidi et al., 2012; Servili et al., 2009).

Geniş spektrumlu biyolojik aktivitelere sahip olan oleuropein, antimikrobiyal, antioksidatif ve antiaterojenik özellikleri ile öne çıkmaktadır. Yüksek antioksidan potansiyeline sahip olan bu bileşik, özellikle 5-lipoksigenaz enzimini inhibe ederek antiinflamatuvar etki göstermektedir. Bunun yanı sıra, kan basıncını düşürücü etkisiyle hipotansif aktivite sergilemekte, LDL oksidasyonunu inhibe ederek ve aynı zamanda trombosit ile kan hücresi agregasyonunu azaltarak kardiyoprotektif özellik göstermektedir. Oleuropeinin ayrıca hipoglisemik etkisi ile kan şekeri düzeylerini düşürdüğü, antihipertansif etkisi kapsamında vazodilatör özellik göstererek hipertansiyon tedavisinde potansiyel rol oynadığı da bildirilmektedir(Ficarra et al., 1991; Le Tutour & Guedon, 1992; O'Dowd et al., 2004; Visioli et al., 2002).

Oleuropeinin hidrolizi sonucunda antimikrobiyal özellik gösteren çeşitli bileşikler oluşmakta olup bu degradasyonun başlıca ürünlerinden biri hidroksitirosoldür. Hidroksitirosol, kateşol ve etanol bileşenlerinden oluşan bir yapı sergilemekte ve güçlü antioksidan özellikleri başta olmak üzere birçok biyolojik aktivite göstermektedir (Briante et al., 2002) Söz konusu bileşiğin insan eritrositlerini oksidatif hasara karşı koruduğu, insan promonosit hücrelerinde süperoksit anyon üretimini azalttığı ve peroksinitrit kaynaklı hücresel zararları inhibe ettiği bildirilmektedir (Visioli et al., 2002). Yaprakta bulunan oleuropein, zamanla β-glukozidaz enziminin anahtar rolü oynadığı biyokimyasal yollara bağlı olarak degrade olmakta ve bu süreçte hidroksitirosol başta olmak üzere çeşitli biyoaktif ürünler açığa çıkmaktadır (Aguilar et al., 1997; Briante et al., 2002, 2004).

Zeytin yaprağında en çok bulunan ve biyoaktif özellik gösteren bileşenler oleuropein ve rutin olarak tanımlanmış olmakla birlikte (Al-Azzawie & Alhamdani, 2006; Benavente-García et al., 2000a; Ranalli et al., 2003), zeytin yaprağından ekstrakte edilen fenolik bileşikler genel olarak incelendiğinde bu bileşiklerin birbirinden farklı kimyasal gruplar altında sınıflandırıldığı görülmektedir. Bu kapsamda oleuropeosidlerden oleuropein ve verbaskosid; flavonlardan luteolin-7-glikozidi, apigenin-7-glikozidi, diosmetin-7-glikozidi, luteolin ve diosmetin; flavonollerden rutin; flavan-3-ollerden kateşin; fenolik bileşiklerden ise tirosol, hidroksitirosol, vanilin, vanilik asit ve kafeik asit tanımlanmıştır. Zeytin yaprağında en yüksek oranda bulunan bileşiklerin sırasıyla oleuropein (%24,54), hidroksitirosol (%1,46), luteolin-7-glikozidi

(%1,38), apigenin-7-glikozidi (%1,37), verbaskosid (%1,11), tirosol (%0,71), vanilik asit (%0,63), diosmetin-7-glikozidi (%0,54), kafeik asit (%0,34) ve luteolin (%0,21) olduğu; vanilin, rutin ve diosmetin (%0,05) ile kateşin (%0,04) gibi bileşiklerin ise daha düşük oranlarda bulunduğu belirlenmiştir (Brenes et al., 1999). Bu bileşikler arasında yer alan verbaskosid ise hidroksitirosol ve kafeik asidin konjuge glikozidi olup hidroksitirosol aynı zamanda oleuropein yapısında da bulunmaktadır.

2.5.4. Fenolik içeriğe etki eden faktörler

Zeytin yaprağındaki fenolik bileşiklerin içeriği, birbiriyle bağlantılı pek çok faktörün etkisiyle şekillenmektedir. (Fabbri et al., 2008) tarafından yürütülen kapsamlı bir çalışmada fenolik bileşik içeriği üzerinde zeytin çeşidi, yaprak yaşı, dal tipi, hasat zamanı ve yaprakların toplandığı yerin deniz seviyesinden yüksekliğinin etkileri incelenmiştir. Elde edilen bulgulara göre fenolik bileşiklerin, özellikle sekoiridoidlerin ve flavonol ve flavon glikozitlerin içeriği zeytin çeşidine göre belirgin farklılıklar göstermektedir. Ayrıca oleuropein miktarının yaprağın yaşı ve ait olduğu dalın gelişim düzeyine (zayıf, orta, kuvvetli) bağlı olarak değiştiği de belirlenmiştir.

Farklı hasat dönemlerinde toplanan zeytin yapraklarındaki oleuropein miktarlarının değişimini araştıran çalışmalarda ise genetik faktörlerin yapraklardaki oleuropein içeriğini önemli oranda etkilediği bulunmuştur. Ekim ayında toplanan yapraklardaki oleuropein miktarının mart ayında toplanan yapraklara kıyasla daha düşük olduğu belirlenmiş olup, bu durumun söz konusu glikozidin sonbaharda yüksek degradasyon hızına ve yeşil genç sürgünlerin düşük üretim kapasitesine bağlı olduğu ileri sürülmektedir (Ranalli et al., 2006). Bunların yanı sıra oleuropein miktarını kültür, nicel yöntemler ve toplama periyodundan bağımsız olarak renk/yaş faktörünün de etkilediği; koyu yeşil yaprakların gelişme dönemi boyunca daha yüksek miktarda oleuropein içerdiği belirlenmiştir. Yeşilimsi sarı ve tamamen sarı dökülme dönemindeki yaprakların en düşük oleuropein düzeylerini sergilediği gösterilmiş; en yüksek oleuropein konsantrasyonu ise kasım ayında toplanan yapraklarda gözlemlenmiştir (Fabbri et al., 2008; Ranalli et al., 2006).

Antioksidan potansiyeli açısından da benzer bir örüntü dikkat çekmekte; yeşil yaprakların daha yüksek antioksidan aktivite sergilediği belirtilmektedir (Ranalli et al., 2006). Tüm bu bulgular hasat zamanının, yaprak yaşının ve çeşit özelliklerinin zeytin yaprağından elde edilecek biyoaktif bileşik verimi üzerinde belirleyici bir rol oynadığını açıkça ortaya koymakta; dolayısıyla bu faktörlerin hammadde seçiminde ve üretim planlamasında mutlaka göz önünde bulundurulması gerektiğine işaret etmektedir.

2.5.5. Zeytin yaprağının gıda ve endüstriyel uygulamaları

Zeytin yaprağının bu kadar ilgi görmesinin temel nedenlerinden biri, fenolik bileşikler bakımından zengin olması ve buna bağlı olarak güçlü biyolojik aktivitelere sahip bulunmasıdır. Bu doğrultuda, özellikle zeytin yetiştiriciliğinin yaygın olduğu ülkelerde son yıllarda zeytin yaprağındaki fenolik bileşiklerin belirlenmesine ve bu bileşiklerin farklı endüstriyel alanlarda değerlendirilmesine yönelik çalışmaların arttığı görülmektedir. Zeytin yaprağının birçok farklı kullanım alanı bulunmaktadır. Yağ üretimi sırasında fenolik bileşikler bakımından fakirleşmiş aşırı olgun zeytinlerde aromayı geliştirmek, oksidasyonu geciktirmek ve elde edilen zeytinyağının stabilitesini artırmak

amacıyla %2–3 oranında zeytin yaprağı ilavesi yapılabilmektedir (Ranalli et al., 2003). Ayrıca zeytin yaprağı ekstraktları tablet formuna getirilerek diyetetik ürünler ve gıda takviyeleri olarak pazarlanmakta; bunun yanı sıra zeytin yapraklarından yaklaşık kuru ağırlığın %3'ü oranında geri kazanılabilen oleanolik asidin fonksiyonel gıdaların geliştirilmesinde kullanılabileceği bildirilmektedir (Briante et al., 2002; Guinda et al., 2015).

Zeytinyağı ve bitkisel yağ üretimine yönelik uygulamalar incelendiğinde de dikkat çekici sonuçlar elde edildiği görülmektedir. Salta ve ark. (2007), polifenollerce zenginleştirmek amacıyla zeytinyağı, ayçiçek yağı, palmiye yağı ve bitkisel katı yağlara zeytin yaprağı ekstraktı ilave etmiş; ekstraktların söz konusu yağların radikal süpürme aktivitesi ve oksidatif stabilitesinin artırılmasına katkıda bulunduğunu tespit etmiştir. Araştırıcılar ayrıca zeytin yaprağı ekstraktlarının polifenol miktarını etkileyen hasat zamanı ve ekstraksiyon yöntemi gibi faktörlerden bağımsız olarak bitkisel yağlar gibi yaygın tüketimi olan ürünlerin besinsel özelliklerinin iyileştirilmesi amacıyla özellikle Akdeniz ülkelerinde kullanılabileceğini vurgulamıştır. Benzer şekilde (Bouaziz et al., 2008), oleuropein ve hidroksitirosol bakımından zengin zeytin yaprağı ile zenginleştirilen rafine zeytin ve kabuk yağlarının oksidatif bozulmaya karşı belirgin direnç gösterdiğini ve stabilitelerinin arttığını ortaya koymuş; zeytin yaprağı ekstraktlarının mükemmel antioksidanlar olduğunu ve sentetik antioksidanlar için güçlü bir alternatif oluşturabileceğini ifade etmiştir.

(Malheiro et al., 2014) ise geç hasat edilen Cobrançosa çeşidi zeytinlerden yağ ekstraksiyonu sırasında ağırlıkça farklı miktarlarda (%1, %2,5, %5 ve %10; w/w) zeytin yaprağı kullanımının zeytinyağlarının kalitesi ve bileşimi üzerine etkisini incelemiştir. Çalışmada zeytin yaprağı eklenmesiyle zeytinyağlarının asitlik ve peroksit değerlerinde hafif artış görülürken oksidasyona karşı direncin önemli ölçüde geliştiği tespit edilmiştir. Ayrıca %10 oranında yaprak ilavesinin yapraklardaki α-tokoferol içeriği nedeniyle yağlardaki E vitamini miktarını yaklaşık %30 oranında artırdığı belirlenmiştir. Araştırıcılar bunlara ek olarak yağ ekstraksiyonu sırasında yaprak ekleme işleminin zeytinyağlarının özelliklerini ve kompozisyonunu her bir grubun ayrılıp sınıflandırılmasını mümkün kılacak şekilde değiştirdiğini de ortaya koymuştur.

Enkapsülasyon teknolojisi alanında da zeytin yaprağı ekstraktlarının kullanımına yönelik önemli bulgular elde edilmiştir. (Mourtzinos et al., 2007) tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada oleuropein bakımından zengin zeytin yaprağı ekstraktlarının beta-siklodekstrin yardımıyla enkapsülasyonunun yaprak ekstraktında bulunan polifenollerin sulu ortamda çözünürlüğünü artırdığı tespit edilmiştir. Ayrıca oksidatif koşullar altında yapılan diferansiyel taramalı kalorimetre çalışmalarında, beta-siklodekstrin ile enkapsülasyonun zeytin yaprağını oksitlenmeye karşı koruduğu da saptanmıştır. Bu bulgu, enkapsülasyon teknolojisinin zeytin yaprağı bileşiklerinin stabilitesini artırarak gıda ve ilaç endüstrilerinde kullanımını kolaylaştırabileceğine işaret etmektedir.

Fonksiyonel gıda üretimi alanında da zeytin yaprağı ekstraktlarının kullanımına yönelik çeşitli çalışmalar yürütülmüştür. (Palmeri et al., 2016) organik durum buğdayı unu ve zeytin yaprağı ekstraktı ilave edilerek hazırlanan krakerlerin, ekstrak yerine su kullanılarak hazırlanan kontrol grubuna kıyasla daha yüksek fenolik içeriğe sahip olduğunu ve antioksidan aktivite gösterdiğini tespit etmiştir. Araştırıcılar, zeytin yaprağı

ekstraktlarının hem fonksiyonel bileşenler içermesi hem de ürünlerin raf ömrünü uzatması nedeniyle kraker üretiminde alternatif olarak kullanılabileceğini vurgulamıştır. Süt ürünleri alanında ise (Zoidou et al., 2017) hem oleuropeinin saf formunu hem de kurutulmuş zeytin yaprağını ilave ederek fonksiyonel süt ve yoğurt ürünleri geliştirmiştir. Çalışmada oleuropeinin ısıl işlem ve fermantasyon sırasında kararlı halde bulunduğu tespit edilmiş; elde edilen yoğurtların laktik asit bakterileri, pH ve asitlik bakımından kontrol yoğurduna benzer özellikler gösterirken viskozite ve su tutma kapasitesi yönünden daha iyi sonuçlar sergilediği gözlemlenmiştir. Yeni ürünün aynı zamanda geleneksel olanlara benzer kabul edilebilir tat, renk ve doku özelliklerine sahip olduğu da belirtilmiştir.

Diğer gıda ürünlerinde de zeytin yaprağı ekstraktının koruyucu etkisi araştırılmış ve olumlu sonuçlar elde edilmiştir. (Eraslan, 2017) tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada salçalarda kimyasal koruyucu kullanımına alternatif olarak ticari zeytin yaprağı ekstraktının kullanımının salçaların mikrobiyolojik özelliklerine etkisi araştırılmıştır. Salça örneklerindeki toplam mezofilik aerobik bakteri, maya ve küf sayılarının zeytin yaprağı ekstraktı ilavesiyle belirgin şekilde azaldığı saptanmıştır. Araştırıcı, farklı oranlarda zeytin yaprağı ekstraktı ilavesinin mikrobiyolojik kaliteyi iyileştirdiğini ve raf ömrü üzerine de olumlu etki sağladığını belirtmiştir.

Tüm bu çalışmalar bir bütün olarak değerlendirildiğinde, zeytin yaprağı ekstraktının geniş bir uygulama yelpazesinde fonksiyonel değeri yüksek, güvenli ve ekonomik bir doğal antioksidan ve antimikrobiyal kaynak olarak kullanılabileceği anlaşılmaktadır. Zeytin yaprağı kimyasal bileşimi ve biyoaktif özellikleri sayesinde yüksek katma değerli ürünlerin geliştirilmesinde kullanılabilecek, maliyeti düşük ve sürdürülebilir bir hammadde kaynağı niteliği taşımaktadır (Nunes et al., 2016). Özellikle Akdeniz ülkelerinde yetiştiricilik artışıyla paralel olarak artan zeytin yaprağı üretimi ve bu kaynağın geniş biyoaktif bileşik profili, zeytin yaprağını sağlık, gıda güvenliği ve endüstriyel sürdürülebilirlik açısından gelecek vaat eden bir hammadde olarak konumlandırmaktadır (Ali Salık et al., 2021).

2.6. Üzüm posası ve biyoaktif içeriği

2.6.1. Üzüm posasının önemi ve üretim potansiyeli

Üzüm, çeşitli ve kolayca değerlendirilebilen yöntemleri, geniş iklim ve toprak uyumu, çok yıllık yapısı ve kolay çoğaltılabilmesi nedeniyle dünyada en fazla yetiştirilen meyvelerden biri olmaya devam etmektedir (Rockenbach et al., 2011). En fazla bağ alanına sahip ülkeler arasında İspanya, Fransa, İtalya, Çin ve Türkiye ilk sıralarda yer alırken, toplam üretim açısından Çin, ABD, İtalya, İspanya ve Fransa ön plandadır. 2014 FAO verilerine göre, dünya genelinde toplam bağ alanı 7.124.512 hektar olup, üzüm üretimi ise 74.499.856 tona ulaşmıştır (FAOSTAT, 2014). Bu miktarın yaklaşık %80'inin şarap üretiminde kullanıldığı bilinmektedir (Pinelo et al., 2006).

Türkiye, 467.093 hektarlık bağ alanıyla dünya bağ alanlarında %6,6'lık pay ile beşinci sırada, 4.175.356 tonluk üzüm üretimiyle ise %5,6'lık pay ile altıncı sırada yer almaktadır (FAOSTAT, 2014; TÜİK, 2015). Türkiye bağ alanlarının %52,8'i sofralık, %36,4'ü kurutmalık ve %10,8'i şıralık-şaraplık çeşitlerden oluşmaktadır (TÜİK, 2015; FAO, 2015). Bu üretim hacmiyle Türkiye hem sofralık hem de kurutmalık üzüm üretimi

bakımından küresel ölçekte belirleyici bir konuma sahipken, Fransa ve İspanya şaraplık, İtalya sofralık ve şaraplık, ABD ile Çin ise sofralık ve kurutmalık üzüm üretiminde öne çıkmaktadır (FAOSTAT, 2014). Bu büyük üretim hacmi, beraberinde ciddi miktarda işleme yan ürününün oluşmasına zemin hazırlamakta; bu yan ürünlerin başında ise üzüm posası (cibre) gelmektedir.

Üzüm posası (cibre), şarap, meyve suyu, pekmez, pestil ve benzeri ürünlerin üretimi sırasında üzümün parçalanıp preslenmesi sonucunda arta kalan kabuk, çekirdek, sap ve etli doku gibi kısımların karışımından oluşan bir yan üründür (Güler ve Tokuşoğlu, 2010). Üzüm posası, hasat edilen üzümün yaklaşık %20'sini oluşturmakta (Tseng & Zhao, 2012) olup üzüm cinsine ve işleme şekline göre %15-25 oranında değişen cibre içeriğinin %50'si kabuk, %25'i çekirdek ve %25'i salkım iskeletinden meydana gelmektedir (Gezginç & Ersoy, 2022). Yalnızca California eyaletinde yılda yaklaşık 122.000 ton kuru üzüm posası üretildiği bilinmekte olup bu rakam, küresel ölçekte söz konusu yan ürünün ne denli büyük hacimli bir atık sorunu yarattığını gözler önüne sermektedir (Zheng et al., 2012).

Üzüm posası, şarap fabrikalarının temel atık ürünü olması nedeniyle bağcılık endüstrisi bu yan ürünün bertarafı konusunda ciddi bir sorunla karşı karşıya kalmaktadır (Doymaz & Akgün, 2009; Ferrer et al., 2001). Geleneksel olarak toprak düzenleyici veya gübre üretimi amacıyla kullanılan posanın bünyesindeki yüksek fenolik bileşik içeriği nedeniyle çimlenme sürecini olumsuz etkilediğine dair bulgular mevcuttur (Negro et al., 2003). Hayvan yemi stoğu (Rockenbach et al., 2011) ve yenilenebilir enerji kaynağı (Celma et al., 2007; Encinar et al., 1997) olarak değerlendirilmesi de mevcut kullanım alanları arasında yer almakla birlikte, bu uygulamaların sınırlı pazar kapasiteleri nedeniyle atığın yalnızca küçük bir bölümünü karşılayabildiği görülmektedir (Cardona et al., 2010). Son yıllarda yürütülen çalışmalar ise üzüm posasının faydalı biyolojik özelliklere sahip polifenoller bakımından son derece zengin bir kaynak olduğunu ortaya koymuş; bu özelliği sayesinde bilimsel arenada giderek artan bir ilgi görmesini sağlamıştır (Yu & Ahmedna, 2013). Bu bağlamda, üzüm posasına katma değer kazandıracak alternatif değerlendirme yöntemlerine olan ihtiyaç her geçen gün artmaktadır.

2.6.2. Üzüm posasının kimyasal bileşimi

Üzüm posasının kimyasal bileşimi, atık türü, üzüm çeşidi, yetiştirme ortamı, işleme yöntemi ve üretim tekniği gibi pek çok faktöre bağlı olarak önemli farklılıklar göstermektedir (Jin et al., 2017). Kırmızı şarap üretiminde tüm üzüm kütlesinin fermantasyona tabi tutulması, buna karşın pembe ve beyaz şaraplarda yalnızca suyun fermente edilmesi, posanın bileşimi üzerinde belirleyici bir etki bırakmaktadır (Beres et al., 2017; Jin et al., 2017). Kuru ağırlık bazında değerlendirildiğinde üzüm posasının %1,73-9,10 oranında kül, %3,57-14,17 oranında protein, %1,14-13,90 oranında yağ, %17,28-88,70 oranında toplam diyet lifi ve %12,20-40,53 oranında karbonhidrat içerdiği görülmektedir. Toplam polifenolik içerik ise kuru maddede %0,28-8,70 düzeyinde seyretmektedir. Mineral içeriği bakımından potasyum (1184-2718 mg/100 g), kalsiyum (91-961 mg/100 g), magnezyum (92-644 mg/100 g) ve demir (5-5468 mg/100 g) başlıca mineraller olarak öne çıkmaktadır.

Üzüm posasının en önemli bileşenleri arasında diyet lifleri, polifenolik bileşikler, doğal boyar maddeler ve mineraller sayılmaktadır. Kırmızı üzüm posalarında diyet lifi baskın bileşen olarak öne çıkarken, beyaz posalarda çözünür şeker içeriği ön plana çıkmaktadır. Kırmızı şarap üretiminde fermantasyon sırasında mayalar tarafından tüketilen şekerlerin kırmızı posalarda düşük düzeyde kalmasının aksine, beyaz üzüm posalarında glukoz (%26,34 g/100 g'a kadar) ve fruktoz (%8,91 g/100 g'a kadar) içeriğinin belirgin biçimde daha yüksek olduğu bildirilmekte ve bu özelliğin zenginleştirilmiş ürünlerde tatlılık artırıcı olarak değerlendirilebileceği ifade edilmektedir (Gao et al., 2017; Jin et al., 2017). İnsolübl lifler olan selüloz ve hemiselülozdan oluşan diyet lifi fraksiyonunun bir kısmının fenolik maddelerle kimyasal bağ oluşturarak antioksidan diyet lifleri meydana getirdiği ve bu sayede posanın radikal süpürme potansiyelini önemli ölçüde artırdığı bildirilmektedir (Mildner-Szkudlarz et al., 2013).

Üzüm çekirdekleri ise yaklaşık %40 lif, %10-20 lipid, %10 protein ve geri kalan kısmı şeker, polifenolik bileşikler ile minerallerden oluşmakta; genel olarak ezmeden sonra üzümlerin %13,5-14,5'ini çekirdek oluşturmakta ve bu oran aşırı durumlarda %20'ye kadar çıkabilmektedir (Doymaz & Akgün, 2009). Üzüm çekirdeğinin en önemli bileşeni olan yağ, başta linoleik ve oleik asit olmak üzere doymamış yağ asitleri bakımından zengin bir profil sergilemekte; E vitamini, steroller ve antioksidan ile antikarsinojenik aktiviteye sahip diğer biyoaktif bileşikler de bu yağın işlevsel değerini artırmaktadır (Matthäus, 2008). Potasyumun ise kan basıncını düşürücü ve idrar yoluyla kalsiyum atılımını azaltarak osteoporoz riskini düşürücü etkisiyle öne çıktığı, üzüm posasının bu mineral açısından iyi bir kaynak teşkil ettiği bildirilmektedir. Bununla birlikte, üzüm posasının potansiyel olarak sağlığa zararlı okratoksin A içerebileceği de göz ardı edilmemelidir; ancak analiz edilen örneklerdeki düzeylerin (yaklaşık 0,07 µg/kg) Avrupa Birliği'nin belirlediği 2 µg/kg sınır değerinin çok altında kaldığı ve insan sağlığı açısından tehdit oluşturmadığı değerlendirilmektedir.

2.6.3. Başlıca fenolik bileşikler: Antosiyaninler ve polifenoller

Üzüm, meyveler içerisinde fenolik maddeler açısından en zengin kaynaklardan birini oluşturmakta olup üzüm posası da bu fenolikleri yoğun olarak içermektedir (Meyer et al., 1998). Aromatik bir halka çevresinde bir ya da birden fazla hidroksil (-OH) grubu içeren bileşikler olarak tanımlanan fenolik bileşikler (polifenoller), ürünün aroma, lezzet ve renk gibi özellikleri üzerinde belirleyici etkilere sahip olmalarının yanı sıra antioksidan ve enzim regülatörü olarak işlev görmekte; gıda bileşenlerinin oksidatif stabilitesi ve mikrobiyal güvenliği bakımından da kritik bir öneme sahip bulunmaktadır (Tokuşoğlu, 2016). Üzümde fenolik bileşikler, karbonhidratlar ve meyve asitlerinden sonra en önemli üçüncü grubu oluşturmaktadır (Singleton, 1987).

Üzüm ve şaraplardaki polifenolik bileşikler flavonoidler ve non-flavonoidler olmak üzere iki ana grupta sınıflandırılmaktadır. Flavonoidler, antosiyaninleri, flavan-3-olleri (flavanoller), yoğunlaşmış tanenleri ve flavonolleri kapsarken, non-flavonoidler fenolik asitleri ve stilbenleri içermektedir (Andjelkovic et al., 2013; V. Ivanova & Stefova, 2011) . Bu bileşik gruplarının her birinin kompozisyonu, üzüm çeşitlerinin bireysel karakteristiklerini belirlemekte ve elde edilen şarabın tat, renk ve ağız hissini doğrudan etkilemektedir. Kırmızı şaraplar toplam 1500-2500 mg/L fenolik bileşik içermekte olup sağlık koruyucu etkileri büyük ölçüde bu fenolik bileşiklerin antioksidan aktivitesine bağlanmaktadır (Frankel et al., 1993). Üzüm posasındaki baskın polifenolik

bileşikler ise şu şekilde sıralanabilir: antosiyaninler (yalnızca kırmızı üzüm posalarında), kateşinler, flavanol glikozitler, fenolik asitler, alkoller ve stilbenler (Rockenbach et al., 2011).

2.6.4. Fenolik içeriğe etki eden faktörler

Üzüm posasındaki fenolik bileşiklerin içeriği ve kompozisyonu, çeşit özellikleri, üzümün yetiştirildiği koşullar, üretimin yapıldığı yer, üzümün olgunluk derecesi ve uygulanan işleme tekniği gibi çok sayıda faktörün etkisi altında şekillenmektedir (García-Beneytez et al., 2003). Polifenoller, özellikle büyüme ve olgunlaşmanın erken dönemlerinde meyve ve kabuk dokularında birikmekte; dolayısıyla hasat zamanı ile olgunluk derecesi bu bileşiklerin konsantrasyonunu doğrudan etkilemektedir. Üzüm çeşidine bağlı olarak kırmızı ve beyaz üzüm posaları arasında da belirgin farklılıklar gözlemlenmektedir: antosiyaninler yalnızca kırmızı üzüm posasında bulunurken, flavanoller beyaz posanın baskın biyoaktif bileşeni olmaktadır.

Şarapçılık tekniği de posanın fenolik profilini doğrudan belirleyen önemli bir etkendir. Kırmızı şarap üretimindeki maserasyon ve fermantasyon aşamaları, beyaz şarap üretimiyle karşılaştırıldığında kabuktaki antosiyaninlerin ve çekirdekteki tanenlerin büyük bölümünün şaraba geçmesine imkân tanımakta; bu nedenle kırmızı şarap üretiminden elde edilen posa beyaz şarap posasına kıyasla daha düşük fenolik içerik sergilemektedir. Buna karşılık, yetersiz ekstraksiyon nedeniyle kırmızı posada kalan fenolik bileşikler de hâlâ önemli miktarda kalmaya devam etmekte ve bu posayı değerli bir kaynak konumuna taşımaktadır (Rockenbach et al., 2011; Schieber et al., 2001). Öte yandan üzüm markına ilişkin yapılan çalışmalarda, fenolün türüne bağlı olarak 0,27-9,66 mg/L arasında değişen miktarlarda gallik asit, furfural, kateşin, vanilik asit ve epikateşin gibi polifenolik bileşiklerin bulunduğu ortaya konmuştur (Alonso et al., 2002).

Fenolik bileşiklerin ekstraksiyonunda kullanılan yöntem de elde edilen içerik ve aktivite üzerinde belirleyici rol oynamaktadır. Çekirdek ve kabuk fraksiyonlarının birbirinden farklı fenolik profil sergilemesi, değerlendirme amacına göre uygun fraksiyonun seçilmesini zorunlu kılmaktadır. Kırmızı üzüm çekirdeği ekstresinin fenolik içerik bakımından kabuğunkinden daha zengin olması (Negro et al., 2003), ancak antioksidan aktivitenin kabuk ekstraktlarında daha yüksek seyretmesi (Shaker, 2006), bu iki fraksiyonun birbirini tamamlayan nitelikler taşıdığına işaret etmekte ve her iki kaynağın bir arada değerlendirilmesinin sinerjik faydalar sağlayabileceğini düşündürmektedir. Bu bağlamda standardize ekstraksiyon protokollerinin geliştirilmesi, üzüm posasının tutarlı ve güvenilir biçimde değerlendirilmesi açısından kritik bir öneme sahiptir (Rousseaux & Schachter, 2003).

2.6.5. Üzüm posasının gıda ve endüstriyel uygulamaları

Üzüm posasının zengin fenolik ve antosiyanin içeriği, bu biyoaktif bileşiklerin çok yönlü işlevsel özellikleriyle birleşerek geniş bir uygulama yelpazesinin önünü açmaktadır. Son yıllarda yürütülen çok sayıda araştırma, üzüm posası ekstraktlarının fonksiyonel gıda geliştirme, doğal renklendirici üretimi, antimikrobiyal etki ve ambalajlama gibi çeşitli alanlarda etkin biçimde kullanılabileceğini ortaya koymuştur. Bu çalışmalar, üzüm posasından elde edilen polifenolik bileşiklerin doğrudan gıda ürünlerine dahil edilmesinin hem fenolik bileşik konsantrasyonunu artırdığını hem de antioksidan

potansiyeli yükselttiğini, dolayısıyla tüketici sağlığı ve ürün kalitesinin korunması açısından somut faydalar sağladığını göstermektedir.

Fırıncılık ve şekerleme ürünleri alanında dikkat çekici sonuçlar elde edilmiştir. Üzüm posası ekstraktıyla zenginleştirilen bisküvilerin kontrol buğday bisküvileriyle karşılaştırıldığında daha yüksek toplam fenolik içerik sergilediği ve DPPH ile ABTS radikallerine karşı daha güçlü antioksidan aktivite gösterdiği belirlenmiştir (Mildner-Szkudlarz et al., 2013). Benzer sonuçlar ekmek formülasyonlarında da gözlemlenmiş; %5 ve %10 oranında üzüm posası ekstraktıyla zenginleştirilen ekmeğin in vitro sindirim sonrasında bile geleneksel ekmekle kıyaslandığında belirgin biçimde daha yüksek demir iyonu indirgeyici antioksidan güç sergilediği ortaya konmuştur (Nagarajaiah et al., 2018). Üzüm çekirdeği unundan elde edilen fenolik bileşiklerle zenginleştirilen erişte, tahıl barları ve kreplerin ise yüksek antioksidan aktivite ile birlikte tüketici kabulü açısından da olumlu değerlendirildiği bildirilmiştir (Gao et al., 2017).

Antosiyanin bakımından zengin üzüm posası ekstraktlarının şekerleme üretimindeki kullanımına yönelik önemli bulgular da elde edilmiştir. (Trentin et al., 2024), kolin klorür, asetik asit ve sitrik asitten oluşan doğal ötektik çözücü sistemiyle üzüm posasından yüksek verimli antosiyanin ekstraksiyonu gerçekleştirmiş; kuru üzüm posasının gramı başına 60 μg sianidin-3-glukozit eşdeğeri ile elde edilen ekstrakt, jöleli şekerleme formülasyonlarına %2,5-10 oranında katılmıştır. Bu eklemenin ürünlerin rengini ve antioksidan özelliklerini iyileştirmenin yanı sıra raf ömrünü de belirgin biçimde uzattığı görülmüştür: kontrol örneklerinde 20. Günde gözlemlenen fungal büyüme en yüksek ekstrakt konsantrasyonunda 40. Güne, asetik asit bazlı ötektik karışım içeren örneklerde ise 60 güne ertelenmiştir. Bu bulgular, doğal antosiyanin kaynaklı renklendirici ve koruyucu kullanımının şekerleme sektöründe uygulanabilir ve etkili bir yaklaşım olduğuna açıkça işaret etmektedir.

Süt ürünleri alanında da üzüm posasının fenolik ve antosiyanin bileşiklerinin işlevsel etkilerini araştıran çeşitli çalışmalar yürütülmüştür. (Rațu et al., 2023) üzüm kabuğu tozunu peynir formülasyonlarına ekleyerek Caciotta peynirinde antioksidan aktiviteyi artırmak için en az %1,6 oranında üzüm posası kullanılması gerektiğini saptamıştır. (Pasini Deolindo et al., 2019) ise Vitis labrusca kabuğu ve çekirdeğinden elde edilen polifenol bakımından zengin ekstraktları Petit Suisse peynirine ilave etmiş; çekirdek ekstraktının 3637 ± 4 mg askorbik asit eşdeğeri/100 g ile en yüksek antioksidan aktiviteyi gösterdiğini, zenginleştirilmiş peynirin 28 günlük depolama boyunca bu değerleri büyük ölçüde koruduğunu ve duyusal değerlendirmede %73 kabul oranına ulaşıldığını bildirmiştir. Çekirdek ekstraktı içeren peynirin ayrıca anjiyotensin dönüştürücü enzim aktivitesini %77 oranında inhibe ederek antihipertansif potansiyel taşıdığı da vurgulanmıştır. (Barbaccia et al., 2019) ise %1 oranında üzüm posası tozu içeren taze koyun sütü peynirinin simüle sindirim sırasında artan protein içeriği ve antioksidan aktivite sergilediğini ortaya koymuştur.

Yoğurt ve fermente süt ürünleri üzerinde yürütülen çalışmalar, üzüm posası polifenoliklerinin bu ürünlerin işlevselliğini belirgin biçimde iyileştirdiğini göstermektedir. Üzüm posasının *L. acidophilus* ve *S. thermophilus*'un fermantasyon sürecini kolaylaştırdığı, laktik asit sentezini artırdığı ve fermantasyon süresini kısalttığı bildirilmektedir. 60 g/kg konsantrasyonunda unfermente üzüm posası eklenen tam yağlı yoğurt örneklerinde kontrol yoğurduna kıyasla antioksidan içeriğinde belirgin artış

gözlenmiş; starter suşların (*Streptococcus thermophilus ve Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus*) üzüm posasının varlığında canlılığını koruduğu belirlenmiştir. Bununla birlikte, zenginleştirilmiş yoğurtların organoleptik profilinin kontrol yoğurtuna kıyasla daha düşük kabul puanı aldığı ve bu bağlamda formülasyonun iyileştirilmesi gerektiği de ifade edilmiştir. Üzüm posasından elde edilen pektik bileşiklerle zenginleştirilen yoğurtlarda depolama süresince probiyotik canlılığının arttığı, ayrıca sineresisin azaldığı bildirilmektedir (Dos Santos Martins et al., 2025; Savarolyia et al., 2026).

Et ve balık ürünlerindeki uygulamalar da dikkat çekici sonuçlar ortaya koymuştur. Üzüm çekirdeği ekstraktının kuru fermente domuz boyun etinde lipid hidroliz süreçlerini ve serbest yağ asidi içeriğini azalttığı, *Enterobacteriaceae* sayısını düşürdüğü ve probiyotik bakteri büyümesini sınırlamadığı bildirilmiştir (Libera et al., 2020) Soğutulmuş kuzu etinde bir haftalık depolama süresince üzüm posası ekstraktının raf ömrünü uzattığı, lipid peroksidasyonunu ve et renginin bozulmasını azalttığı ortaya konmuştur (Rondeau et al., 2013). Balık ürünlerinde ise (Cilli et al., 2020), %1 ve %2 oranında üzüm posası unu katılmış somon burger formülasyonlarının depolama süresince lipid oksidasyonunu belirgin biçimde azalttığını; %2'lik ilavenin sentetik antioksidan bütillenmiş hidroksitoluen ile karşılaştırılabilir düzeyde antioksidan etki gösterdiğini ve duyusal değerlendirmede genel tüketici kabulü açısından tatmin edici bulunduğunu tespit etmiştir.

Üzüm posasından elde edilen fenolik bileşikler, aktif gıda ambalajlama sistemleri alanında da yenilikçi uygulamalara konu olmaktadır. Üzüm posası ekstraktlarının antimikrobiyal özellikleri, süperkritik emprenye yöntemiyle doğal jüt kumaşlara başarıyla aktarılmış; elde edilen aktif ambalaj materyalinin *Escherichia coli, Staphylococcus aureus* ve *Pseudomonas aeruginosa*'ya karşı etkili antibakteriyel kapasite sergilediği ortaya konmuştur (Cejudo-Bastante et al., 2021). (Raschip et al., 2020) ise Feteasca Neagră ve Merlot çeşitlerinden elde edilen ekstraktı ksantan gum ve polivinil alkolden oluşan buz kalıplı 3B kriyojellere dahil ederek E. coli, S. Typhimurium ve L. monocytogenes'e karşı etkili antimikrobiyal aktivite elde etmiştir. (Nogueira et al., 2022) Arrowroot nişastası filmlerine üzüm posası ekstraktı ekleyerek filmlerin fiziksel özelliklerini iyileştirmiş; ekstraktın polimer zincir etkileşimlerini azaltan plastikleştirici işlev gördüğünü bildirmiştir.

Tüm bu çalışmalar bir bütün olarak değerlendirildiğinde, üzüm posasının zengin fenolik ve antosiyanin içeriği sayesinde fonksiyonel gıda geliştirme, doğal renklendirici üretimi, antimikrobiyal etki ve aktif ambalajlama gibi çok çeşitli endüstriyel uygulamalara elverişli, değerli ve sürdürülebilir bir hammadde olduğu açıkça anlaşılmaktadır. Üretilen büyük miktardaki bu atık malzemenin katma değerli ürünlere dönüştürülmesi hem çevresel yükün azaltılması hem de bağcılık ve şarapçılık endüstrisinin ekonomik sürdürülebilirliğinin desteklenmesi açısından kritik bir öneme sahiptir.

2.7. Ekstraksiyon yöntemleri

Ekstraksiyon, bitkisel veya hayvansal materyallerden biyoaktif bileşiklerin seçici bir çözücü yardımıyla ayrılması işlemi olarak tanımlanmaktadır. Elde edilen bu biyoaktif bileşenler farmasötik, gıda ve kozmetik endüstrilerinde yaygın biçimde kullanılmaktadır

(Moure et al., 2001). Meyve ve sebze atıklarından polifenollerin eldesinde de başvurulan temel yöntem ekstraksiyondur (Khoddami et al., 2013). Ekstraksiyon sürecinde hem denge koşulları hem de kütle transfer hızı belirleyici iki temel etkendir (Shi et al., 2005). Katı bir matriksten fenolik maddelerin çözücüye aktarılması iki aşamada gerçekleşir: ilk aşamada çözücü bitki matriksindeki kapiller ve boşluklara osmotik kuvvetlerle sızarak fenolik bileşikleri çözdürür ve iç konsantrasyon artarak bir konsantrasyon gradyanı oluşturur; ikinci aşamada ise çözünmüş polifenoller bitki matriksinden dış çözücü ortamına difüze olur (Shi et al., 2005). Etkili bir ekstraksiyon için bu iki aşamanın da optimize edilmesi büyük önem taşımaktadır.

Uygulanan ekstraksiyon yöntemi, hedeflenen biyoaktif bileşiklere göre farklılık gösterebilmekte; ekstraksiyon verimi ve biyoaktivite de büyük ölçüde seçilen çözücüye bağlı olarak değişmektedir (Hernández et al., 2009; Moure et al., 2001). Etkili bir ekstraksiyon verimliliği için seçilen yöntemin yanı sıra katı-sıvı oranı, çözücünün fizikokimyasal özellikleri, hammaddenin partikül boyutu, pH, süre ve sıcaklık gibi işlem koşullarının da optimize edilmesi gerekmektedir (Poojary et al., 2017). Geleneksel ekstraksiyon yöntemleri (katı-sıvı ekstraksiyonu, sıvı-sıvı ekstraksiyonu ve diğer çözücü bazlı yöntemler) uzun ekstraksiyon süresi, fazla çözücü kullanımı ve görece düşük verimlilik gibi dezavantajlara sahip olmakla birlikte (Cai et al., 2021; Trigo et al., 2020), basit ekipman gereksinimleri ve düşük işletme maliyetleri nedeniyle pratikte hâlâ en yaygın kullanılan yöntemler arasındaki yerini korumaktadır.

Günümüzde yüksek enerji maliyetleri, CO2 emisyonları ve çevresel kaygılar nedeniyle etkili ve çevreci ekstraksiyon tekniklerine olan ilgi giderek artmaktadır (Sagar et al., 2018). Bu bağlamda ultrason destekli ekstraksiyon, mikrodalga destekli ekstraksiyon, basınçlı sıvı ekstraksiyonu, süperkritik akışkan ekstraksiyonu, enzim destekli ekstraksiyon ve darbeli elektrik alan destekli ekstraksiyon gibi yöntemler gıda endüstrisinin gündemine girmiş ve yaygınlaşmaya başlamıştır (Ameer et al., 2017; Nawaz et al., 2006). Bu teknikler, özellikle çözücü ve enerji tüketimini azaltmaları ile kısa sürede yüksek verim sağlamaları nedeniyle literatürde yeşil kimya (green chemistry) kapsamında değerlendirilmektedir (Boukroufa et al., 2015; Ding et al., 2015; Ivanovic et al., 2014). Yeşil kimya kavramı 1987 yılında ortaya çıkmış olup insan sağlığı ve çevre üzerine olumsuz etki eden atıkların, çözücülerin ve kimyasalların tüketimini azaltabilecek veya tamamen ortadan kaldırabilecek kimyasal teknik ve yöntemlerin tasarlanmasını hedeflemektedir (Erökten, 2006).

2.7.1. Ekstraksiyona etki eden faktörler

Ekstraksiyon verimi ve kalitesi, kullanılan yöntemden bağımsız olarak çözücü türü, sıcaklık, pH, partikül boyutu ve katı-sıvı oranı gibi işlem parametrelerinden doğrudan etkilenmektedir. Doğru bir ekstraksiyon tasarımı için bu parametrelerin birlikte değerlendirilmesi ve optimize edilmesi büyük önem taşımaktadır (Moure et al., 2001; Shi et al., 2005)

Çözücü seçimi ekstraksiyonun en kritik parametresi olup hedef bileşiğin çözünürlüğü doğrudan kullanılan çözücünün türüne bağlıdır. İdeal bir ekstrakt çözücüsünün toksin içermemesi, yüksek kapasite ve dağılım katsayısına sahip olması, çözünenlere karşı seçici olması, kolay geri kazanılabilmesi, stabil ve inert olması, çevre dostu, ucuz, yanıcı ve patlayıcı olmaması gerekmektedir (Moure et al., 2001). Gıda katkı

maddesi veya biyolojik materyal üretiminde kullanılacak çözücüler için bu özellikler daha da kritik bir önem kazanmaktadır (ICSU-UNIDO, 2006). Fenolik bileşikler polar yapıda olduğundan polar çözücüler ekstraksiyon için tercih edilmekte; hidroalkolik karışımlar fenolik bileşiklerin çözünürlüğü açısından en elverişli ortamı sağlamaktadır. Farklı bitki materyallerinden yapılan çalışmalar, %50 etanol konsantrasyonunun fenolik ekstraksiyonunda genellikle maksimum verim sağladığını ortaya koymaktadır (Galan et al., 2017; Gharekhani et al., 2012; Pan et al., 2003).

Sıcaklık, ekstraksiyon hızını artırırken çözücü viskozitesini düşürmektedir; fenolik bileşiklerin difüzyon katsayısını ve hücre duvarı geçirgenliğini artırmaktadır. Ancak sıcaklığın artırılması, termolabil bileşenlerin denatürasyonuna yol açabileceğinden her bileşiğin bozunma sıcaklığının altında çalışmak zorunludur (Moure et al., 2001; Shi et al., 2005). Ortam pH'ının da fenoliklerin çözünürlüğünü doğrudan etkilediği bilinmektedir; örneğin zeytin posasından fenoliklerin ekstraksiyonunda maksimum çözünürlük pH 4'te elde edilmektedir (Moure et al., 2001). Partikül boyutunun küçültülmesi, mekanik kırma veya öğütme yoluyla yüzey alanını artırarak ve difüzyon yolunu kısaltarak ekstraksiyon verimini artırmaktadır. Bununla birlikte, partiküllerin aşırı küçültülmesi kanallaşma sorunlarına ve verim kayıplarına yol açabilmektedir (Bosiljkov et al., 2017). Katı-sıvı oranı yüksek tutulduğunda, çözücüde fenolik konsantrasyonu düşük kalmakta ve bu durum büyük bir konsantrasyon gradyanı oluşturarak difüzyonu hızlandırmaktadır (Shi et al., 2005). Tüm bu parametrelerin birlikte ve sistematik biçimde değerlendirilmesi, ekstraksiyonun hem verim hem de kalite açısından optimize edilmesi için vazgeçilmez bir gerekliliktir.

Bu doğrultuda, mevcut çalışmada zeytin yaprağı ve üzüm posasından fenolik bileşiklerin geri kazanımında geleneksel çözücü ekstraksiyonu (GÇE/su banyosu) yöntemi benimsenmiştir. Literatürde zeytin yaprağı fenoliklerinin, özellikle oleuropein ve hidroksitirosol gibi sekoiridoid bileşiklerin, su banyosu ortamında etanol-su karışımıyla etkin biçimde ekstrakte edilebildiği ve elde edilen ekstraktların yüksek antioksidan aktivite sergilediği bildirilmektedir (Şahin & Bilgin, 2018). Üzüm posasından fenolik ve antosiyanin bileşiklerinin ekstraksiyonunda da benzer çözücü sistemlerinin başarıyla kullanıldığı görülmekte; etanol konsantrasyonu, sıcaklık ve çözücü-katı oranının birlikte optimize edilmesiyle yüksek fenolik içerik ve antioksidan kapasite elde edilebildiği rapor edilmektedir (Khoddami et al., 2013; Rockenbach et al., 2011). GÇE yöntemi, maserasyon veya sokselet gibi geleneksel alternatiflere kıyasla daha kısa sürede daha yüksek verim sağlaması, özel ekipman gerektirmemesi ve ısıya duyarlı bileşiklerin kontrollü sıcaklık koşullarında işlenmesine olanak tanıması nedeniyle bu çalışmada tercih edilen yöntem olmuştur. Antosiyanin gibi ısıya duyarlı pigmentlerin korunabilmesi açısından da su banyosundaki kontrollü ısıtma ortamı, sokselet gibi yüksek kaynama noktasında çalışan yöntemlere kıyasla belirgin bir avantaj sunmaktadır (Azman et al., 2020).

2.8. Dondurarak kurutma (Liyofilizasyon)

Liyofilizasyon olarak da adlandırılan dondurarak kurutma, gıdanın önce dondurulması ve ardından içindeki suyun düşük basınç altında doğrudan süblimleştirilmesiyle gerçekleştirilen bir dehidrasyon yöntemidir (Oetjen & Haseley, 2007). Dondurma ile birlikte uygulanan düşük basınç kombinasyonu sayesinde su, sıvı fazdan geçmeksizin doğrudan buza dönüşerek uzaklaştırılmaktadır. Başarılı bir

liyofilizasyon işlemi için kurutma odasındaki basıncın suyun üçlü nokta basıncının (610 Pa) altında tutulması gerekmektedir (Oetjen & Haseley, 2007). Dondurarak kurutma yöntemi, daha hassas ve pahalı biyoaktif bileşenlerin işlenmesinde tercih edilen yaygın bir yöntem olup sıcaklığa duyarlı bileşiklerin korunması açısından belirgin üstünlükler sunmaktadır. Yüksek enkapsülasyon verimi ve düşük çalışma sıcaklığı gibi avantajlarının yanı sıra yüksek enerji tüketimi ve uzun kurutma süresi gibi dezavantajlara da sahiptir (Horszwald et al., 2013).

Günümüzde dondurarak kurutma; gıda maddeleri ve farmasötikler (aşı, protein, peptit, kolloidal taşıyıcı gibi) dahil olmak üzere yüksek değerli ürünlerin kurutulması ve stabilitesinin artırılmasında önemli bir endüstriyel işlem haline gelmiştir (Abdelwahed et al., 2006b). Bu yöntemin gıda kurutmada tercih edilmesinin başlıca nedenleri arasında uzun raf ömrüne ve gelişmiş rehidrasyon özelliklerine sahip yüksek kaliteli ürünler elde edilmesi sayılmaktadır (Weimar et al., 2012). Gıdalar yapısında doğal olarak vitamin ve protein gibi ısıya duyarlı bileşenler içerdiğinden, bu tür biyomateryallerin yüksek sıcaklıkta kurutulması termal ayrışma, oksidasyon veya enzimatik esmerleşmeye yol açabilmektedir (Oetjen & Haseley, 2007). Liyofilizasyon ise düşük sıcaklık ortamında gerçekleşmesi sayesinde bu istenmeyen reaksiyonları en aza indirerek ürünün besinsel ve duyusal niteliklerini korumaktadır (Abdelwahed et al., 2006b). Bununla birlikte, yüksek üretim maliyeti ve enerji tüketimi nedeniyle liyofilizasyon uygulaması ağırlıklı olarak katma değeri yüksek ürünlerle sınırlı kalmaktadır (Abdelwahed et al., 2006b; Horszwald et al., 2013).

2.8.1. Liyofilizasyon ve diğer kurutma yöntemleri

Dondurarak kurutma (liyofilizasyon), renk, lezzet, besinsel değer ve biyoaktif bileşik içeriği gibi kalite parametrelerinin çok iyi düzeyde korunduğu, rehidrasyon ve doku özelliklerinin taze ürüne yakın olduğu yüksek kaliteli ürünler elde edilmesini sağlamaktadır (Voda et al., 2012). İşlem çok düşük sıcaklıkta gerçekleştiğinden dondurularak kurutulmuş gıdalarda taze ürünlerin aroma ve doku özellikleri büyük ölçüde korunmakta, gözenekli yapı oluşmasına izin verilmektedir (Pisano et al., 2011). Bu özellikleriyle liyofilizasyon, gıda çözeltilerinin ve biyoaktif maddelerin kurutulmasında kalite referans yöntemi olarak kabul edilmekte ve diğer kurutma yöntemlerinin performansının değerlendirilmesinde kıyaslama standardı olarak kullanılmaktadır (Ratti, 2013).

Bununla birlikte, liyofilizasyonun bazı önemli dezavantajları da söz konusudur. Ürünün dondurulması, dondurulmuş numunelerin süblimasyonunu sağlamak için ısıtılması ve dehidrasyon odasındaki basıncın düşürülmesi oldukça yüksek enerji tüketimi gerektirmektedir (Donsì et al., 2001). Liyofilizasyon işlemleri birkaç saatten birkaç güne kadar uzayabilen süreler içinde tamamlanabilmekte; bu durum enerji maliyetini daha da artırmaktadır (Schössler et al., 2012). Kurutma raflarındaki yüzey sıcaklığının homojen olmaması aynı partideki ürünler arasında sıcaklık farklılıklarına neden olarak eşit kaliteye sahip ürün elde edilmesini güçleştirebilmektedir (Fonte et al., 2016). Nihai toz ürün elde etmek için dondurularak kurutulmuş ürünlerin öğütülmesi gerekmekte; yüksek higroskopiklik gösteren ürünlerde ise öğütme sırasında ortam neminden etkilenme riski nedeniyle oldukça kuru ortam koşullarının sağlanması zorunlu hale gelmektedir. Kurutulmuş örneğin %2-3'ten yüksek nem içeriğine sahip olması öğütme ekipmanlarında tıkanmaya yol açabilmektedir (Barbosa-Cánovas & Vega-Mercado, 1996).

Kurutma yöntemi seçimi, hammadde özellikleri, arzu edilen son ürün kalitesi ve ekonomik faktörler bir arada değerlendirilerek yapılmalıdır (Gong et al., 2007). Püskürtmeli kurutma, hızlı kurutma süresi, yüksek verim ve sürekli çalışma imkânı gibi avantajları nedeniyle liyofilizasyona yaygın bir alternatif olarak öne çıkmaktadır (A., 1953). Püskürtmeli kurutmayla toz, granül veya aglomerat formunda, farklı partikül boyutu dağılımına sahip, serbest akışlı ve küresel yapılı partiküller üretilebilmektedir (Nindo et al., 2007). Bununla birlikte, liyofilizasyon ile karşılaştırıldığında toz ürünlerin besinsel ve aroma özelliklerinin daha iyi korunduğu bildirilmektedir (Duan et al., 2016). Dolayısıyla liyofilizasyon, yüksek işlem maliyetine rağmen besinsel ve işlevsel kalite gereksinimlerinin ön planda tutulduğu, ısıya duyarlı biyoaktif bileşenlerin işleneceği ve raf ömrü uzun, yüksek katma değerli ürünlerin üretiminde hâlâ en tercih edilen kurutma yöntemi konumunu korumaktadır (Abdelwahed et al., 2006a; Hsu et al., 2003)

Bu bağlamda, zeytin yaprağı ve üzüm posası ekstraktları ile peynir altı suyu tozu içeren fonksiyonel içecek formülasyonunun toz formuna dönüştürülmesinde liyofilizasyon yöntemi öncelikli tercih olarak değerlendirilmektedir. Söz konusu formülasyonun üç temel bileşeni ısıl işleme karşı farklı düzeylerde duyarlılık sergilemektedir. Peynir altı suyu proteinleri, yüksek sıcaklığa maruz kaldığında denatürasyon ve agregasyona uğrayarak emülsifikasyon ve çözünürlük gibi işlevsel özelliklerini yitirebilmekte; bu durum içeceğin hem teknolojik hem de besinsel kalitesini olumsuz etkileyebilmektedir (Shraddha RC & Nalawade T, 2015). Zeytin yaprağında bulunan oleuropein ve hidroksitirosol gibi fenolik bileşikler ise ısıl işlem ve oksidatif koşullara karşı duyarlı olup yüksek sıcaklık uygulamalarında aktivite kayıplarına uğrayabilmektedir (Mourtzinos et al., 2007). Üzüm posasından elde edilen antosiyaninler de ısı ve ışığa karşı yüksek hassasiyet gösteren bileşikler arasında yer almakta; işleme sırasındaki termal yük arttıkça renk ve biyolojik aktivite kayıpları hızlanmaktadır (Castañeda-Ovando et al., 2009).

Liyofilizasyon, bu üç bileşenin birlikte işlenmesinde ısıya duyarlı yapılarını en az düzeyde bozarak toz formuna geçişi sağlaması nedeniyle öne çıkmaktadır. Düşük sıcaklıkta gerçekleşen süblimleşme mekanizması sayesinde hem protein fraksiyonlarının fonksiyonel bütünlüğü hem de fenolik bileşiklerin antioksidan aktivitesi büyük ölçüde korunabilmektedir. Rehidrasyon sonrasında elde edilen ürünün taze içeceğe yakın özellikler sergilemesi, liyofilize toz formunun kullanım kolaylığı ve raf ömrü avantajıyla birleşerek bu yöntemi fonksiyonel içecek geliştirme çalışmaları açısından uygun bir seçenek haline getirmektedir. Nitekim liyofilizasyonun fenolik bileşikler açısından zengin bitkisel ekstraktların ve süt bazlı fonksiyonel bileşenlerin birlikte işlenmesinde kalite korumasını ön planda tutan bir yöntem olarak fonksiyonel gıda araştırmalarındaki kullanımı giderek yaygınlaşmaktadır (Hsu et al., 2003; Schössler et al., 2012).

2.9. Fonksiyonel içeceklerde kalite parametreleri

Fonksiyonel bir içeceğin başarısı, yalnızca biyoaktif bileşen içeriğiyle değil, aynı zamanda üretim sürecinden raf ömrünün sonuna kadar bu bileşenlerin stabilitesinin korunmasıyla da doğrudan ilişkilidir. İçeceklerin depolama, işleme ve tüketim süreçleri boyunca kimyasal, fiziksel, renk ve mikrobiyolojik değişimlere uğrayabileceği bilinmekte olup bu değişimlerin kontrol altına alınması ürün kalitesinin güvence altına alınması açısından kritik önem taşımaktadır (Touati et al., 2016). Özellikle fenolik bileşikler, antosiyaninler ve proteinler gibi biyofonksiyonel bileşenler hem ısıl işlem hem

de depolama koşullarına karşı farklı düzeylerde duyarlılık sergilemektedir. Bu nedenle fonksiyonel içeceklerin geliştirilmesinde kalite parametrelerinin ve raf ömrü stabilitesinin birlikte değerlendirilmesi gerekmektedir.

2.9.1. Isıl işlemin içecek kalitesine etkileri

Pastörizasyon, gıda ve içeceklerde raf ömrü stabilitesini sağlamak amacıyla yaygın biçimde uygulanan bir ısıl işlem tekniğidir. Düşük sıcaklık uzun süre (LTLT) ve yüksek sıcaklık kısa süre (HTST) pastörizasyonu bu amaçla en sık kullanılan yöntemler arasında yer almaktadır (Vasantha Rupasinghe & Juan, 2012). Isıl işlemlerin içecek kalitesi üzerindeki etkileri araştırmacılar tarafından kapsamlı biçimde incelenmiş; genel eğilim, yüksek sıcaklıkta uzun süre uygulamalarının içeceklerdeki antioksidan aktiviteyi azalttığı yönündedir (Bansal et al., 2015). Yüksek sıcaklık kısa süreli uygulamalarının ise karışık içeceklerdeki askorbik asit içeriğini düşürdüğü bildirilmektedir (Vegara et al., 2013). Karotenoidlerin de yüksek sıcaklıkta kısa süre işlemine maruz kaldığında toplam fenolik içerikle birlikte azaldığı rapor edilmiştir (Jiménez-Aguilar & Grusak, 2017). Ilımlı sıcaklık uzun süre uygulamasının ise içeceklerdeki flavonoid içeriğini olumsuz etkilediği görülmektedir (Saikia et al., 2015). Benzer şekilde yüksek sıcaklık uzun süre işleminin protein içeriği ve toplam çözünür katı madde (TSS) değeri üzerinde de azaltıcı etkiler bıraktığı belirlenmiştir (Deboni et al., 2013; Khandpur & Gogate, 2015). Genel bir değerlendirme yapıldığında, içecek kalitesinin yüksek sıcaklıkta uzun süre ısıl işlemden en fazla olumsuz etkilendiği görülmektedir (Santhirasegaram et al., 2015).

Peynir altı suyu proteinleri açısından değerlendirildiğinde ise ısıl işlemlerin, özellikle β-laktoglobulin ve α-laktalbümin gibi fraksiyonlar üzerinde denatürasyon ve agregasyon etkisi gösterdiği bilinmektedir. Bu süreçte proteinlerin fonksiyonel özellikleri; viskozite, jel oluşumu ve emülsiyon stabilitesi açısından değişim göstermektedir (Havea et al., 2002). Öte yandan, peynir altı suyu bazlı içeceklerde uygulanan ısıl işlemin, protein yapısındaki bu değişimlerle birlikte fenolik bileşiklerle olan etkileşimleri de etkileyebileceği unutulmamalıdır. Protein-polifenol komplekslerinin oluşumu hem biyoyararlanımı hem de antioksidan kapasiteyi doğrudan etkileyebilmektedir. Bu nedenle pastörizasyon koşullarının dikkatlice optimize edilmesi hem protein fraksiyonlarının hem de biyoaktif bileşiklerin içecekte etkinliğini koruyabilmesi bakımından büyük önem taşımaktadır.

2.9.2. Depolama stabilitesi ve fizikokimyasal değişimler

Fonksiyonel bir içeceğin uzun süreli tüketim için güvenli ve stabil kalabilmesi, ürün geliştirme sürecinin temel hedeflerinden birini oluşturmaktadır. Depolama süresince içeceklerde çeşitli kimyasal, renk ve mikrobiyolojik değişimlerin meydana gelebildiği bilinmekte olup bu değişimlerin düzeyi; ürünün formülasyonuna, ambalaj tipine ve depolama koşullarına bağlı olarak farklılık göstermektedir (Touati et al., 2016).

Fenolik bileşikler açısından ise özellikle flavonoidlerin okside olarak kahverengi pigment oluşturduğu ve bu reaksiyonun peroksidaz ve oksidaz enzimleri tarafından katalizlendiği bilinmektedir (Pourcel et al., 2007). Klorofil, depolama sırasında fenofitin oluşumuna bağlı olarak yeşil rengin kaybolmasına ve zeytin yeşili/kahverengimsi bir renk dönüşümüne yol açabilmekte; ısı ve asit bu bozunmayı hızlandırmaktadır (Boon et al., 2010). Antosiyaninlerin stabilitesi ise depolama sürecinde birçok faktörün etkisiyle

şekillenmektedir. Suda çözünür kırmızı-mor pigmentler olan antosiyaninler pH'a bağımlı bileşikler olup yüksek pH ortamlarında bozunma hızlanmaktadır (Landi et al., 2015). Metal ambalajlarda depolanan içeceklerde antosiyaninlerin Cu, Fe, Sn ve Al gibi metallerle kompleks oluşturabildiği bilinmekte; bu nedenle metal ambalajların organik iç kaplama ile korunması önerilmektedir (Landi et al., 2015). Karotenoidler ise oksidasyon ve oto-oksidasyon mekanizmalarıyla bozunmakta; bu süreçteki bozunma hızı antioksidan ve prooksidan varlığına, sıcaklığa ve ışığa bağlı olarak değişmektedir (Boon et al., 2010). Zeytin yaprağı ekstrakt bileşenlerinden olan oleuropein ve hidroksitirozol gibi fenoliklerin de depolama sürecinde ısı ve pH etkisiyle aktivite kaybına uğrayabileceği göz önünde bulundurulmalı; bu bileşiklerin stabilitesini koruyacak formülasyon stratejileri geliştirilmelidir.

Mikrobiyolojik stabilite açısından ise içeceklerin depolama boyunca güvenli kalabilmesi için su aktivitesi, pH, besin içeriği ve doğal antimikrobiyal bileşenler gibi içsel faktörlerin yanı sıra sıcaklık, bağıl nem ve ambalaj koşulları gibi dışsal faktörlerin de gözetilmesi gerekmektedir (Boon et al., 2010). Pastörizasyon, pH ayarı ve izin verilen koruyucu kullanımı başlıca mikrobiyolojik kontrol önlemleri arasında yer almakta olup pek çok çalışmada bu uygulamalar sayesinde depolama süresi boyunca mikrobiyolojik büyümenin kontrol altında tutulabildiği gösterilmiştir (Azeredo et al., 2016; Kregiel, 2015; Stratford et al., 2013). Bunun yanı sıra zeytin yaprağı ve üzüm posası kaynaklı fenolik bileşiklerin doğal antimikrobiyal özellikleri, peynir altı suyu bazlı formülasyonlarda yüksek protein içeriğinden kaynaklanabilecek mikrobiyolojik riskleri dengeleme potansiyeli taşımaktadır.

2.10. Bileşenlerin fonksiyonel içecekte birlikte kullanımı

Fonksiyonel içecek geliştirme çalışmalarında, farklı biyoaktif kaynaklarının bir arada kullanılması ürünün besleyici değerini ve işlevsel özelliklerini artırma potansiyeli taşıyan yaklaşımlar arasında yer almaktadır. Bu bağlamda zeytin yaprağı ve üzüm posası gibi agro-endüstriyel atık kaynaklarından elde edilen fenolik bileşiklerin peynir altı suyu tozu gibi işlevsel bir süt bazlı bileşenle bir araya getirilmesi hem sürdürülebilir atık yönetimi hem de yüksek besinsel ve biyofonksiyonel değere sahip ürün geliştirme açısından anlamlı bir yaklaşım olarak öne çıkmaktadır (Rudra et al., 2015; Schieber et al., 2001).

Peynir altı suyu tozu, yüksek kaliteli protein içeriği, esansiyel amino asit profili ve emülsifikasyon, köpük oluşturma ile jel oluşturma gibi işlevsel özellikleriyle içecek sistemleri için uygun bir matriks sağlamaktadır (Shraddha RC & Nalawade T, 2015). Öte yandan, peynir altı suyu proteinlerinin antioksidan peptitler üretebilme kapasitesi ve immün sistem üzerindeki olumlu etkileri, bu bileşeni fonksiyonel içecekler için değerli bir bileşen konumuna taşımaktadır (Isleten & Karagul-Yuceer, 2006). Bununla birlikte, peynir altı suyuna özgü işlemsel tat-koku profili, doğrudan tüketimde tüketici kabulünü sınırlayabilmekte; bu durum duyusal maskeleme stratejilerinin geliştirilmesini zorunlu kılmaktadır.

Zeytin yaprağı ekstraktı, sekoiridoidler (özellikle oleuropein), flavonoidler ve fenolik asitler gibi güçlü antioksidan ve antimikrobiyal bileşenler açısından son derece zengin bir doğal kaynaktır (Ali Salık et al., 2021). Bu bileşenlerin antioksidan, anti-inflamatuvar, antihipertansif ve antimikrobiyal etkileri kapsamlı bilimsel çalışmalarla

desteklenmektedir (Visioli & Galli, 1998). Üzüm posası ise özellikle kırmızı çeşitlerde bulunan antosiyaninler, flavanoller, flavonol glikozitler, fenolik asitler ve resveratrol gibi çok sayıda biyoaktif bileşik içermekte ve hem doğal boya madde potansiyeli hem de güçlü antioksidan kapasitesiyle ürüne işlevsel bir renk ve fonksiyonellik katmaktadır (Rockenbach et al., 2011; Trentin et al., 2024).

Bu üç bileşenin bir arada değerlendirilmesinin, birbirini tamamlayan mekanizmalar aracılığıyla sinerjik bir etki oluşturabileceği öngörülmektedir. Peynir altı suyu proteinleri, biyoaktif fenolik bileşikler için koruyucu bir taşıyıcı matriks işlevi görerek bu bileşiklerin stabilitesini destekleyebilecektir. Protein-polifenol etkileşimleri, fenolik bileşiklerin işleme ve depolama sürecindeki biyoyararlanımını olumlu yönde etkileyebilmektedir (Ganea et al., 2025; McClements, 1995). Öte yandan zeytin yaprağı ve üzüm posasının antimikrobiyal özellikleri, peynir altı suyu içeriğinin yüksek protein varlığıyla ortaya çıkabilecek mikrobiyolojik riskleri dengeleme potansiyeli taşımakta; bu durum ürünün hem güvenliğine hem de raf ömrüne katkı sağlayabilmektedir.

Formülasyona çilek aroması eklenmesi ise birden fazla işleve hizmet etmektedir. Bunun yanı sıra çilek gibi kırmızı meyve aromalarının antosiyanin kaynaklı kırmızı-mor rengi tamamlaması, ürünün görsel çekiciliğini de desteklemektedir. Meyve aromalarının fonksiyonel içeceklerde duyusal maskeleme aracı olarak kullanımı literatürde yaygın biçimde önerilmekte olup tüketici kabulü üzerinde belirleyici bir etkiye sahip olduğu bilinmektedir (Djurić et al., 2004a).

Tüm bu bileşenlerin bir arada kullanıldığı peynir altı suyu bazlı fonksiyonel içecek formülasyonuna ilişkin kapsamlı bir çalışma literatürde henüz yer almamaktadır. Bu durum, söz konusu çalışmanın özgün bir araştırma boşluğunu doldurma ve bu bileşenlerin birleşik etkisine yönelik ilk veriler arasında yer alma potansiyeli taşıdığına işaret etmektedir. Çalışmanın zeytin yaprağı ve üzüm posası ekstraktlarının peynir altı suyu bazlı içecek matriksi içinde stabilitesi, antioksidan aktivitesi, duyusal özellikleri ve raf ömrü üzerindeki etkilerini bir bütün olarak ortaya koyacak nitelikte olması beklenmektedir.

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Materyal

Bu çalışmada hedef ürünün temel bileşeni olarak ticari bir firmadan satın alınan %70 demineralize peynir altı suyu tozu (PST-70, protein: %6,5, laktoz: %75, Katkı Dünyası, Türkiye) kullanılmıştır. Bitkisel biyoaktif bileşen kaynağı olarak zeytin yaprağı (*Olea europaea L.*) ve üzüm posası (*Vitis vinifera L.*) kullanılmıştır.

"Domat" çeşidinin zeytin ağacı yaprakları İzmir Zeytin Araştırma Enstitüsü'nün koleksiyon ağaçlarından nisan ayında toplanmıştır. Zeytin yaprağı hasat zamanı literatür bilgilerine göre karar verilmiştir. Literatürde zeytin yaprağının ilkbahar hasat döneminde oleuropein ve toplam fenolik bileşenlerce daha zengin olduğu bildirilmiştir (Ranalli et al., 2006). Toplanan yapraklar herhangi bir kurutma işlemine tabi tutulmaksızın doğrudan laboratuvar tipi öğütücü ile homojen hale getirilmiş ve elde edilen öğütülmüş yapraklar, ekstraksiyon denemelerinde kullanılıncaya kadar oksidasyonu önlemek amacıyla hava almayan kaplarda muhafaza edilmiştir.

Üzüm posası, Döhler firmasından (İzmir, Türkiye) kuru formda temin edilmiştir. Temin edilen posalar, nem alımını ve oksidatif bozulmayı önlemek amacıyla analizler gerçekleştirilene kadar vakumlu, hava almayan torbalarda oda sıcaklığında (25 ± 2°C) karanlık ortamda muhafaza edilmiştir. Ekstraksiyon öncesinde homojen bir yapı elde etmek ve antosiyaninler ile diğer fenolik bileşiklerin ekstraksiyon verimini artırmak amacıyla laboratuvar tipi öğütücü ile öğütülerek işleme alınmıştır.

Formülasyon aşamasında tekstür düzenleyici olarak ksantan gam, duyusal maskeleme ve lezzet dengesi amacıyla çilek aroması (Alfasol, Türkiye) ile B9 vitamini (folik asit, Sigma-Aldrich, Darmstadt, Almanya) ve B12 vitamini (kobalamin, Sigma-Aldrich, Darmstadt, Almanya) kullanılmıştır. Analizlerde kullanılan tüm kimyasallar analitik ve mikrobiyolojik saflıkta olup IsoLab, Sigma-Aldrich (Darmstadt, Almanya) ve Merck (Darmstadt, Almanya) firmalarından temin edilmiştir.

3.2. Hammaddelerin fizikokimyasal karakterizasyonu

Bu çalışmada hammadde olarak kullanılan zeytin yaprağı ve üzüm posasının fizikokimyasal özellikleri, nem ve su aktivitesi parametreleri açısından belirlenmiştir. Söz konusu analizler, her iki hammaddenin de bileşim ve kalite özelliklerinin ortaya konması ile sonraki işlem basamaklarının optimizasyonu açısından temel referans verilerini oluşturmaktadır.

3.2.1. Nem tayini

Zeytin yaprağı ve üzüm posası örneklerinin nem içerikleri hızlı nem tayin cihazı (DBS 60-3, KERN & Sohn GmbH, Balingen, Almanya) kullanılarak belirlenmiştir. Bu amaçla tartım kabına yaklaşık 3 g örnek tartılarak cihazın halojen lamba desteği ile kontrollü biçimde kurutulmuştur. Kurutma süresince örneklerde meydana gelen kütle kaybı izlenmiş; sabit ağırlığa ulaşıldığında nem miktarı (%) otomatik olarak hesaplanmıştır.

3.2.2. Su aktivitesi tayini

Zeytin yaprağı ve üzüm posası örneklerinin su aktivitesi (a_w) değerleri, kalibre edilmiş su aktivitesi ölçüm cihazı (Aqualab 4TE, Decagon Devices, ABD) kullanılarak belirlenmiştir. Her bir hammaddeden yaklaşık 1–2 g örnek ölçüm kabına yerleştirilmiş; cihaz içerisinde denge koşullarına ulaşılmasının ardından a_w değeri okunmuştur. Ölçümler oda sıcaklığında (≈25 °C) üç paralelli olarak gerçekleştirilmiştir.

3.3. Ekstraksiyon optimizasyonu

Zeytin yaprağı ve üzüm posasından fenolik bileşik ve antosiyanin ekstraksiyonunun optimizasyonu, Yanıt Yüzey Yöntemi (Response Surface Methodology, RSM) uygulanarak gerçekleştirilmiştir. Bu kapsamda her iki hammadde için de ekstraksiyon koşulları sistematik biçimde incelenmiş; en yüksek yanıt değerini sağlayan optimum parametreler belirlenmiştir. Ekstraksiyon öncesinde zeytin yaprağı ve üzüm posası örneklerinin nem ve kuru madde içerikleri belirlenerek tüm hesaplamalar kuru madde bazında yürütülmüştür.

3.3.1. Deney tasarımı: Yanıt yüzey yöntemi (RSM)

Yanıt Yüzey Yöntemi (RSM), bağımsız değişkenlerin yanıt değişkeni üzerindeki bireysel ve etkileşimli etkilerini matematiksel-istatistiksel modeller aracılığıyla tanımlayan çok değişkenli bir optimizasyon stratejisidir (Myers H Raymond, 2016). Geleneksel OFAT (one factor at a time) yaklaşımının aksine, RSM tüm faktörleri eşzamanlı değerlendirerek faktörler arası etkileşimleri de açıklığa kavuşturmakta; bu sayede hem deney sayısı önemli ölçüde azaltılmakta hem de süreç hakkında daha kapsamlı ve güvenilir bilgi elde edilmektedir (Box & Draper, 1987).

3.3.1.1. I-Optimal tasarım

Bu çalışmada deney tasarımı, Design-Expert yazılımı (Stat-Ease Inc., Minneapolis, ABD, v.22) kullanılarak I-Optimal Tasarım (I-Optimal Design) yaklaşımıyla oluşturulmuştur. l-Optimal Tasarım, tahmin varyansını deney bölgesi genelinde minimize eden bilgisayar destekli bir algoritmik tasarım yöntemidir (Walsh et al., 2024). Bu yaklaşımın tercih edilmesinin temel nedenleri Çizelge 3.1'de açıklanmaktadır.

Çizelge 3.1. I-Optimal tasarımın klasik RSM tasarımlarına göre üstünlükleri

Kriter	Box-Behnken (BBD)	Merkezi Kompozit (CCD)	I-Optimal
Tasarım yapısı	Sabit şema (köşe noktaları yok)	Eksenel + merkezi noktalar	Algoritmik, esnek
Deney bölgesi	Küresel / sınırlı	Küresel / kübik	Küresel veya kübik, standart dışı
Faktör sınırları	Eşit aralıklı olmalı	Eşit aralıklı olmalı	Herhangi sınır değeri
Köşe noktaları	Yok	Var (eksenel)	Dahil edilir
Tahmin varyansı kriteri	D-optimal ile benzer	D-optimal ile benzer	Minimum I-kriteri (ortalama tahmin varyansı)
Kuadratik model uyumu	İyi	İyi	Çok iyi (özellikle iç bölgede)

I-Optimal Tasarım'da minimize edilen I-kriteri Denklem (3.1)'de tanımlanmaktadır:

$$I = \int_{\chi} \mathrm{Var}[\hat{y}(x)]\, dx / V(\chi) \quad (3.1)$$

Bu ifadede χ deney bölgesini, $\mathrm{Var}[\hat{y}(x)]$ belirli bir x noktasındaki tahmin varyansını ve $V(\chi)$ deney bölgesinin hacmini göstermektedir (Goos & Jones, 2011).

I-Optimal Tasarım algoritması tarafından oluşturulan deney matrisinde, noktalar işlevlerine göre dört farklı kategoriye ayrılmaktadır. Bu kategorilerin tanımları ve modele katkıları Çizelge 3.2'de özetlenmektedir. Merkez noktaları (MP) aynı faktör kombinasyonunda birden fazla kez tekrarlanarak saf deneysel hatanın ve yetersiz uyumun (lack of fit) güvenilir biçimde tahmin edilmesine olanak tanımaktadır. Köşe noktaları ise faktörlerin ±1 uç düzeylerinin birleştiği noktalarda modelin sınır tahmin yeteneğini belirlerken; yüz noktaları doğrusal ve etkileşim etkilerini, iç noktalar ise kuadratik etkilerin tahminini desteklemektedir.

Çizelge 3.2. Nokta tipi açıklamaları

Sembol	Açıklama
MP	Tekrarlı merkez noktası — aynı faktör kombinasyonu birden fazla deney sırasında uygulanır; saf deneysel hatanın ve yetersiz uyumun (lack of fit) tahmin edilmesini sağlar
Köşe	İki veya üç faktörün ±1 uç düzeyinde birleştiği nokta; modelin sınır tahmin yeteneğini belirler
Yüz	Bir faktörün ±1, diğerlerinin ara değerde olduğu nokta; doğrusal ve etkileşim etkilerini destekler
İç	Tüm faktörlerin ara değerlerde olduğu iç bölge noktası; kuadratik etkilerin tahminini güçlendirir

Bu çalışmada zeytin yaprağı ve üzüm posası ekstraksiyonu için ayrı ayrı yürütülen optimizasyon çalışmaları hem tasarım yapısı hem de yanıt değişkeni bakımından birbirinden farklılaşmaktadır. Her iki çalışmada da bağımsız değişkenler, deney sayısı, faktör aralıkları ve katı/çözücü oranı ortak tutularak karşılaştırılabilir bir optimizasyon çerçevesi oluşturulmuştur. Temel farklılıklar hedef bileşik, yanıt değişkeni, analiz yöntemi ve çözücü bileşimine ilişkin özel koşullarda yoğunlaşmaktadır. Bu iki çalışma arasındaki parametrik karşılaştırma Çizelge 3.3'de ayrıntılı biçimde sunulmaktadır.

Çizelge 3.3. Zeytin Yaprağı ve Üzüm Posası Ekstraksiyon Optimizasyon Çalışmalarının Karşılaştırması

Parametre	Zeytin Yaprağı	Üzüm Posası
Hedef bileşik	Fenolik bileşikler	Antosiyaninler
Yanıt değişkeni	TEAC (mg Trolox/100 g KM)	TMA (mg MAE/100 g KM)
Analiz yöntemi	DPPH• radikal giderme	pH diferansiyel yöntemi
Tasarım tipi	I-Optimal (kuadratik)	I-Optimal (kuadratik)
Deney sayısı	20	20
Merkez noktası tekrarı	n = 4 (deney 3,12,17,19)	n = 4 (deney 3,5,12,14)
Etanol aralığı (A)	%0–100 (v/v)	%0–100 (v/v)
Sıcaklık aralığı (B)	30–60°C	30–60°C
Süre aralığı (C)	30–180 dk	30–180 dk
Merkez noktası (süre)	105 dk	105 dk
K/Ç oranı	1:10 (g/mL)	1:10 (g/mL)
Asit ilavesi	Yok	%0,1 HCl (v/v)
Paralel sayısı	n = 2	n = 2

KM: kuru madde; MAE: malvidin-3-glukozit eşdeğeri; K/Ç: katı/çözücü.

3.3.1.2. Kuadratik model ve istatistiksel değerlendirme

Her iki hammadde için de ikinci dereceden (kuadratik) polinom model temel alınmış ve her çalışma için 20 deney noktası belirlenmiştir. Bağımsız değişkenler (X) ile yanıt değişkeni (Y) arasındaki ilişkiyi tanımlayan genel kuadratik model denklemi (3.2)'de tanımlanmakta olup denklemdeki parametrelerin tanımları Çizelge 3.4'te sunulmaktadır:

$$Y = \beta_0 + \Sigma \beta_i X_i + \Sigma \beta_{ii} X_i^2 + \Sigma \beta_{ij} X_i X_j + \varepsilon \quad (3.2)$$

Çizelge 3.4. Kuadratik model parametrelerinin tanımları

Sembol	Parametre	Açıklama
Y	Yanıt değişkeni	Optimize edilmek istenen çıktı (TEAC veya TMA)
β_0	Sabit terim	Model kesim noktası (intercept)
β_i	Doğrusal katsayı	i. bağımsız değişkenin doğrusal etkisi
β_{ii}	Kuadratik katsayı	i. bağımsız değişkenin ikinci derece (kavisli) etkisi
β_{ij}	Etkileşim katsayısı	i. ve j. bağımsız değişkenler arasındaki ortak etkisi
X_i, X_j	Bağımsız değişkenler	Kodlanmış veya gerçek değerler [−1, 0, +1]
ε	Kalıntı hata	Model tarafından açıklanamayan rastgele sapma

Üç bağımsız değişken (A, B, C) için açık formda yazılan tam kuadratik model denklemi (3.3)' de tanımlanmaktadır.

$$Y = \beta_0 + \beta_1 A + \beta_2 B + \beta_3 C + \beta_{11} A^2 + \beta_{22} B^2 + \beta_{33} C^2 + \beta_{12} AB + \beta_{13} AC + \beta_{23} BC + \varepsilon \quad (3.3)$$

Bu model üç bağımsız değişken için toplam 10 parametre içermektedir: 1 sabit terim, 3 doğrusal terim, 3 kuadratik terim ve 3 etkileşim terimi. Her iki çalışma için de 20 deney noktası; merkezi noktaların üç kez tekrarı (n=3) dahil olmak üzere model parametrelerinin güvenilir biçimde tahmin edilmesine olanak sağlamaktadır.

Modelin istatistiksel geçerliliği varyans analizi (ANOVA) ile değerlendirilmiştir. Uyum iyiliği değerlendirmesinde kullanılan istatistiksel kriterler Çizelge 3.5'te özetlenmiştir.

Çizelge 3.5. Model uyum iyiliği değerlendirme kriterleri

İstatistik	Sembol /Kabul Kriteri	Yorumu
F değeri	F > Ftablo	Modelin istatistiksel anlamlılığı; büyük F değeri modelin daha iyi olduğunu gösterir
p değeri (Model)	$p < 0,05$	Model istatistiksel olarak anlamlıdır (5% önem düzeyinde)
Yetersiz uyum (Lack of fit)	$p > 0,05$ (anlamsız)	Modelin saf hata ile karşılaştırıldığında sistematik bir eksiklik taşımadığını gösterir
R^2 (Determinasyon katsayısı)	$R^2 \geq 0,90$	Yanıt değişkenindeki toplam varyansın model tarafından açıklanan oranı
R^2adj (Düzeltilmiş R^2)	$R^2adj \geq 0,85$	Gereksiz terimler için düzeltilmiş determinasyon katsayısı
R^2pred (Tahmin edilen R^2)	$\|R^2 - R^2pred\| < 0,20$	Modelin yeni gözlemler için tahmin yeteneği; R^2 ile farkın 0,20'den küçük olması istenir
Adeq. Precision	> 4	Sinyal-gürültü oranı; >4 modelin tasarım uzayında kullanımına uygundur
CV (Değişim katsayısı)	CV < %10	Deneyin tekrarlanabilirliği; düşük CV yüksek hassasiyete işaret eder

3.3.2. Zeytin yaprağı ekstraksiyon optimizasyonu

3.3.2.1. Hammadde hazırlığı ve ekstraksiyon prosedürü

Homojen partikül boyutu sağlamak amacıyla kuru yapraklar ev tipi öğütücü ile öğütülmüş ve 500 μm göz açıklıklı elekle elenerek standart tane boyutu elde edilmiştir. Ekstraksiyon için katı-çözücü oranı 1:10 (g/mL, kuru madde bazında) olarak sabit tutulmuş; çözücü olarak hazırlanan su-etanol karışımlarının (v/v) etanol konsantrasyonu optimizasyon değişkeni olarak belirlenmiştir. Tartılan öğütülmüş yaprak örneği (1 g kuru madde eşdeğeri) uygun çözücü hacmi (10 mL) ile 50 mL'lik falkon tüpte karıştırılmıştır.

Ekstraksiyon işlemi, çalkalamalı su banyosunda ((Wisd Lab. Inst.) etüv tipi orbital çalkalama özellikli su banyosu, ±0,5°C sıcaklık hassasiyeti, 100 rpm) belirlenen sıcaklık ve süre koşullarında gerçekleştirilmiştir. İşlem sonunda tüpler 4°C'de 10 dakika boyunca 4000 × g'de santrifüj edilmiş; süpernatan Whatman No. 1 filtre kağıdından geçirilmiştir. Ham ekstrakt 4°C'de analize kadar muhafaza edilmiştir. Tüm ekstraksiyonlar iki paralel olarak yürütülmüştür.

3.3.2.2. Bağımsız değişkenler, yanıt değişkeni ve gerekçeleri

Optimizasyonda ele alınan üç bağımsız değişken ve seçilen aralıkların bilimsel gerekçeleri Çizelge 3.6' da açıklanmaktadır. Yanıt değişkeni olarak DPPH• (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) serbest radikali giderme aktivitesine dayalı kolorimetrik yöntemle belirlenen ve Trolox kalibrasyon eğrisi kullanılarak hesaplanan Trolox eşdeğeri antioksidan kapasite (TEAC, mg Trolox/100 g kuru madde) seçilmiştir. TEAC, ekstraktın toplam fenolik içeriğiyle yüksek korelasyon göstermesi ve gıda bilimi araştırmalarında yaygın referans parametresi olması nedeniyle yanıt değişkeni olarak tercih edilmiştir (Thaipong et al., 2006).

Çizelge 3.6. Zeytin yaprağı ekstraksiyon optimizasyonunda bağımsız değişkenler, seçilen aralıklar ve bilimsel gerekçeleri

Bağımsız Değişken (Kod)	Birim	Alt Sınır (−1)	Merkez (0)	Üst Sınır (+1)	Bilimsel Gerekçe
Etanol konsantrasyonu (A)	%v/v	0	50	100	Zeytin yaprağı fenoliklerinin (oleuropein, hidroksitirosol) yarı-polar yapısı nedeniyle saf su ve saf etanol kıyasla su-etanol karışımları daha yüksek verim sağlar; optimum aralık literatürde %40–70 olarak bildirilmiştir (Mylonaki et al., 2008)
Sıcaklık (B)	°C	30	45	60	Sıcaklık artışı çözücü viskozitesini düşürerek difüzyonu hızlandırır; ancak 60°C üzerinde oleuropein ve hidroksitirosol gibi ısıya duyarlı fenolikler termal degradasyona uğrayabilir (Mourtzinos et al., 2007)
Süre (C)	dk	30	105	180	Denge koşullarına ulaşmak için yeterli süre gereklidir; dengeye ulaşıldıktan sonra sürenin artırılması oksidatif degradasyonu hızlandırabilir (Lapornik et al., 2005; Moure et al., 2001)

3.3.2.3. I-Optimal deney tasarım matrisi

Design-Expert yazılımı I-Optimal algoritması ile oluşturulan 20 deney noktasından oluşan tasarım matrisi Çizelge 3.7'de verilmiştir. Matris; köşe noktaları, yüz noktaları, iç noktalar ve 4 tekrarlı iç nokta (MP1, MP2, MP3, MP4) içermektedir. Yüz ve iç noktalar, I-Optimal algoritmasının koordinat değişimi yöntemiyle (coordinate exchange) ortalama tahmin varyansını minimize etmek amacıyla otomatik olarak seçtiği deney noktalarıdır (Goos & Jones, 2011).

I-Optimal tasarımda tekrarlı iç noktalar, klasik CCD veya BBD tasarımlarındaki gibi tam [0, 0, 0] kodlanmış koordinatlarında yer almayabilir. Bu çalışmada tekrarlı iç noktaların kodlanmış değerleri [−0.20, 0.33, 0.20] olup gerçek faktör değerleri A=40 %v/v, B=50°C, C=120 dk'ya karşılık gelmektedir. Bu noktalar, saf deneysel hatanın tahmin edilmesi ve yetersiz uyum testinin (lack of fit) istatistiksel olarak yürütülebilmesi amacıyla algoritma tarafından deney bölgesinin iç kısmında tahmin varyansını minimize edecek şekilde belirlenmiştir (Goos & Jones, 2011). Köşe noktaları faktörlerin uç kombinasyonlarını; yüz ve iç noktalar ise faktör uzayının ara bölgelerini temsil etmektedir. Deney noktaları randomize sırada uygulanmış; sistematik çevresel etkileri en aza indirmek için blok etkisi gözetilmemiştir.

Çizelge 3.7. Zeytin yaprağı ekstraksiyon optimizasyonu — I-Optimal deney tasarım matrisi (n = 20)

Deney No	A (%v/v)	B (°C)	C (dk)	A (kod.)	B (kod.)	C (kod.)	A²	B²	C²	Nokta Tipi
1	100	60	60	1.00	1.00	−0.60	1.0000	1.0000	0.3600	Köşe
2	60	40	30	0.20	−0.33	−1.00	0.0400	0.1111	1.0000	Yüz
3	40	50	120	−0.20	0.33	0.20	0.0400	0.1111	0.0400	MP
4	0	50	180	−1.00	0.33	1.00	1.0000	0.1111	1.0000	Köşe
5	20	30	30	−0.60	−1.00	−1.00	0.3600	1.0000	1.0000	Köşe
6	60	60	30	0.20	1.00	−1.00	0.0400	1.0000	1.0000	Köşe
7	80	40	120	0.60	−0.33	0.20	0.3600	0.1111	0.0400	İç
8	0	60	120	−1.00	1.00	0.20	1.0000	1.0000	0.0400	Köşe
9	40	30	180	−0.20	−1.00	1.00	0.0400	1.0000	1.0000	Köşe
10	0	60	30	−1.00	1.00	−1.00	1.0000	1.0000	1.0000	Köşe
11	60	40	30	0.20	−0.33	−1.00	0.0400	0.1111	1.0000	Yüz
12	40	50	120	−0.20	0.33	0.20	0.0400	0.1111	0.0400	MP
13	100	60	150	1.00	1.00	0.60	1.0000	1.0000	0.3600	Köşe
14	60	60	180	0.20	1.00	1.00	0.0400	1.0000	1.0000	Köşe
15	100	40	180	1.00	−0.33	1.00	1.0000	0.1111	1.0000	Köşe
16	0	30	90	−1.00	−1.00	−0.20	1.0000	1.0000	0.0400	Köşe
17	40	50	120	−0.20	0.33	0.20	0.0400	0.1111	0.0400	MP
18	100	30	90	1.00	−1.00	−0.20	1.0000	1.0000	0.0400	Köşe
19	40	50	120	−0.20	0.33	0.20	0.0400	0.1111	0.0400	MP
20	40	30	180	−0.20	−1.00	1.00	0.0400	1.0000	1.0000	Köşe

Tekrarlı merkez noktaları (MP) — deney 3, 12, 17 ve 19. A^2, B^2, C^2: kodlanmış değerlerin karesi; kuadratik model terimlerinin (β_{11}, β_{22}, β_{33}) hesaplanmasında kullanılır.

Tasarım matrisinde yer alan tekrarlı iç noktalar (MP, n=4; deney 3, 12, 17 ve 19), A=40 %v/v, B=50°C, C=120 dk koşullarına karşılık gelmekte olup kodlanmış değerleri [−0.20, 0.33, 0.20] şeklindedir. Bu tekrarlar saf deneysel hatanın tahmin edilmesini ve

yetersiz uyum testinin (lack of fit) istatistiksel olarak yürütülmesini sağlamaktadır. Köşe noktaları faktörlerin uç kombinasyonlarını temsil ederken; yüz noktaları faktör uzayının yüzeyinde (bir faktör sınır değerinde, diğerleri ara düzeyde) yer alan noktalardır. İç noktalar ise hiçbir faktörün sınır değerinde bulunmadığı, deney bölgesinin iç kısmındaki noktalardır.

3.3.3. Üzüm posası ekstraksiyon optimizasyonu

3.3.3.1. Hammadde hazırlığı ve ekstraksiyon prosedürü

Homojen partikül boyutu sağlamak amacıyla üzüm posası örnekleri ev tipi öğütücü (Arzum Mano, AR1092, Türkiye) ile 500 µm göz açıklıklı elekten geçene kadar öğütülerek homojen partikül boyutlu toz örnekler elde edilmiştir. Antosiyanin ekstraksiyonunda asitlendirilmiş su-etanol karışımları (v/v) çözücü olarak kullanılmış; etanol konsantrasyonu optimizasyon değişkeni olarak belirlenmiştir. Asit ilavesinin amacı, antosiyaninlerin pH'a bağlı denge reaksiyonlarında kararlı ve renk veren flavilium katyon (%AH^+) formunun korunmasını sağlamak, aynı zamanda enzim aktivitesini inhibe ederek pigment bozunmasını engellemektir (Lao & Giusti, 2018).

Bu doğrultuda çözücüye %0,1 (v/v) HCl ilave edilmiştir. Öğütülmüş örnekler (1 g kuru madde) 50 mL'lik falkon tüplerine tartılmış ve üzerine çözücü karışımı (10 mL) eklenerek ekstraksiyon işlemleri başlatılmıştır.

Ekstraksiyon işlemi, orbital çalkalamalı (100 rpm) su banyosunda (Wisd Lab. Inst.) deneysel tasarıma uygun olarak belirlenen sıcaklık ve süre koşullarında gerçekleştirilmiştir. İşlem sonunda tüpler 4°C'de 10 dakika boyunca 4000 × g'de santrifüj edilmiş; Üstte kalan berrak kısım, Whatman No. 1 filtre kağıdından (GE Healthcare, İngiltere) süzülmüştür. Elde edilen ekstraktlar denemelerde. kullanılıncaya kadar buzdolabında 4°C'de muhafaza edilmiştir. Tüm ekstraksiyonlar denemeleri iki paralel olarak gerçekleştirilmiştir.

3.3.3.2. Bağımsız değişkenler, yanıt değişkeni ve gerekçeleri

Optimizasyonda ele alınan üç bağımsız değişken ve seçilen aralıkların bilimsel gerekçeleri Çizelge 3.8’ de açıklanmaktadır.

Yanıt değişkeni olarak pH diferansiyel yöntemi ile belirlenen toplam monomerik antosiyanin miktarı (TMA, mg/100 g kuru madde) seçilmiştir (Giusti & Wrolstad, 2001). Bu yöntemde absorbansdaki pH'a bağlı değişim (pH 1,0 ve pH 4,5) antosiyanin miktarının hesaplanmasında kullanılmaktadır. Antosiyaninler malvidin-3-glukozit eşdeğeri (ε = 28.000 $L \cdot mol^{-1} \cdot cm^{-1}$, MW = 493,5 $g \cdot mol^{-1}$) cinsinden ifade edilmiş ve bu bileşik üzümünün baskın antosiyanini olarak kabul edilmiştir.

Çizelge 3.8. Üzüm posası ekstraksiyon optimizasyonunda bağımsız değişkenler, seçilen aralıklar ve bilimsel gerekçeleri

Bağımsız Değişken (Kod)	Birim	Alt Sınır (−1)	Merkez (0)	Üst Sınır (+1)	Bilimsel Gerekçe
Etanol konsantrasyonu (A)	%v/v	0	50	100	Antosiyaninler polar-yarı polar yapıdadır; saf su veya saf etanol ile kıyaslandığında orta düzey etanol konsantrasyonları (genellikle %40–70) daha yüksek pigment verimi sağlar (Casazza et al., 2012; Rockenbach et al., 2011)
Sıcaklık (B)	°C	30	45	60	Düşük sıcaklıklar difüzyon hızını sınırlar; buna karşın antosiyaninler ısıya duyarlıdır ve 60°C üzerinde hızlı termal degradasyon yaşandığı bildirilmiştir (Castañeda-Ovando et al., 2009; Torskangerpoll & Andersen, 2005)
Süre (C)	dk	30	75	180	Antosiyaninler zeytin yaprağı fenoliklerine kıyasla daha kısa sürede denge koşullarına ulaşabilmektedir; 120 dakika ötesinde uzatılan ekstraksiyonlar renk kaybı ve pigment bozunması riski taşımaktadır (Trentin et al., 2024)

3.3.3.3. I-Optimal deney tasarım matrisi

Design-Expert yazılımı I-Optimal algoritması ile oluşturulan 20 deney noktasından oluşan tasarım matrisi Çizelge 3.9'da verilmiştir. Matris; köşe noktaları, yüz merkezli noktalar ve 3 tekrarlı merkez noktası (MP1, MP2, MP3) içermektedir. Merkez noktası tekrarları saf deneysel hatanın tahmin edilmesine ve yetersiz uyum testinin (lack of fit) yürütülmesine olanak tanımaktadır. Deney noktaları randomize sırada uygulanmış; sistematik çevresel etkileri en aza indirmek için blok etkisi gözetilmemiştir.

Üzüm posası çalışmasında merkez noktası tekrarları (MP, n=4; deney 3, 5, 12 ve 14) A=40 %v/v, B=50 °C, C=120 dk kombinasyonuna karşılık gelmektedir. Bunlara ek olarak deney 8 ve 9 (A=80, B=40, C=30) ile deney 17 ve 18 (A=0, B=40, C=150) algoritmik tekrarlardır; bu tekrarlar I-Optimal algoritmasının belirsizliği yüksek bölgelerdeki tahmin güvenilirliğini artırmak amacıyla seçtiği noktalardır.

Çizelge 3.9. Üzüm posası ekstraksiyon optimizasyonu — I-optimal deney tasarım matrisi (n = 20)

Deney No	A (%v/v)	B (°C)	C (dk)	A (kod.)	B (kod.)	C (kod.)	A²	B²	C²	Nokta Tipi
1	60	30	180	0.20	−1.00	1.00	0.0400	1.0000	1.0000	Köşe
2	80	60	60	0.60	1.00	−0.60	0.3600	1.0000	0.3600	Yüz
3	40	50	120	−0.20	0.33	0.20	0.0400	0.1111	0.0400	MP
4	0	60	180	−1.00	1.00	1.00	1.0000	1.0000	1.0000	Köşe
5	40	50	120	−0.20	0.33	0.20	0.0400	0.1111	0.0400	MP
6	60	30	90	0.20	−1.00	−0.20	0.0400	1.0000	0.0400	Yüz
7	0	50	90	−1.00	0.33	−0.20	1.0000	0.1111	0.0400	Yüz
8	80	40	30	0.60	−0.33	−1.00	0.3600	0.1111	1.0000	Yüz
9	80	40	30	0.60	−0.33	−1.00	0.3600	0.1111	1.0000	Yüz
10	100	60	120	1.00	1.00	0.20	1.0000	1.0000	0.0400	Köşe
11	100	50	180	1.00	0.33	1.00	1.0000	0.1111	1.0000	Köşe
12	40	50	120	−0.20	0.33	0.20	0.0400	0.1111	0.0400	MP
13	0	40	30	−1.00	−0.33	−1.00	1.0000	0.1111	1.0000	Köşe
14	40	50	120	−0.20	0.33	0.20	0.0400	0.1111	0.0400	MP
15	100	30	120	1.00	−1.00	0.20	1.0000	1.0000	0.0400	Köşe
16	0	60	30	−1.00	1.00	−1.00	1.0000	1.0000	1.0000	Köşe
17	0	40	150	−1.00	−0.33	0.60	1.0000	0.1111	0.3600	Yüz
18	0	40	150	−1.00	−0.33	0.60	1.0000	0.1111	0.3600	Yüz
19	20	30	60	−0.60	−1.00	−0.60	0.3600	1.0000	0.3600	Yüz
20	60	60	180	0.20	1.00	1.00	0.0400	1.0000	1.0000	Köşe

Sarı arka plan: tekrarlı merkez noktaları (MP) — deney 3, 5, 12 ve 14. Deney 8–9 ve 17–18 çiftleri algoritmik tekrarlardır. A², B², C²: kodlanmış değerlerin karesi; kuadratik katsayıların tahmini için kullanılır.

3.3.4. Optimum koşulların belirlenmesi ve doğrulanması

3.3.4.1. Yanıt yüzeyi ve kontur grafiklerinin oluşturulması

Her iki ekstraksiyon çalışması için ANOVA sonrasında istatistiksel olarak anlamlı bulunan modele ait 3 boyutlu yanıt yüzeyi grafikleri ve 2 boyutlu kontur grafikleri Design-Expert yazılımı ile oluşturulmuştur. Üçlü faktör kombinasyonu için her seferinde iki değişken aktif tutulurken üçüncü değişken optimum düzeyde sabit bırakılarak altı farklı ikili kombinasyon grafiği üretilmiştir: A-B (etanol konsantrasyonu–sıcaklık), A-C (etanol konsantrasyonu–süre) ve B-C (sıcaklık–süre). Bu grafikler bağımsız değişkenlerin bireysel ve etkileşimli etkilerini görselleştirerek optimum bölgenin belirlenmesine katkı sağlamaktadır.

3.3.4.2. Sayısal optimizasyon ve istenebilirlik fonksiyonu

Optimum ekstraksiyon koşulları Design-Expert yazılımının sayısal optimizasyon (numerical optimization) fonksiyonu kullanılarak denklem (3.4)'de belirlenmiştir. Bu yaklaşım, belirlenen kısıtlar çerçevesinde yanıt değişkenini maksimize eden parametre kombinasyonunu arzu edilebilirlik (desirability) fonksiyonu aracılığıyla hesaplamaktadır. Genel arzu edilebilirlik (D) bireysel arzu edilebilirlik fonksiyonlarının (d_i) geometrik ortalaması olarak hesaplanır:

$$D = (d_1 \times d_2 \times ... \times d_n)^{(1/n)} \quad (3.4)$$

Her değişken için kısıtlar şu biçimde tanımlanmıştır: etanol konsantrasyonu için "aralık içinde" (in range), sıcaklık için "aralık içinde", süre için "aralık içinde"; yanıt değişkeni olan TEAC veya TMA için ise "maksimize et" (maksimize) seçilmiştir. D = 1,0 değeri tüm kısıtların tam olarak karşılandığı ideali temsil etmektedir.

3.3.4.3. Model doğrulama

Belirlenen optimum koşulların deneysel olarak doğrulanması amacıyla her iki hammadde için de yazılım tarafından önerilen koşullarda bağımsız ekstraksiyonlar (n=3) gerçekleştirilmiştir. Elde edilen deneysel yanıt değerleri ile modelin öngördüğü tahmin değerleri arasındaki uyum, göreceli hata yüzdesi (RE%) Denklem (3.5) ile hesaplanarak değerlendirilmiştir:

$$RE\% = |\text{Tahmin değeri} - \text{Deneysel değer}| / \text{Tahmin değeri} \times 100 \quad (3.5)$$

Optimum koşullarda gerçekleştirilen doğrulama deneyleri sonucunda elde edilen gözlenen değer ile model tarafından tahmin edilen değer arasındaki göreceli hata yüzdesi (RE%) %5'in altında kalmıştır. Bu kriter, RSM çalışmalarında model doğrulaması için gıda bilimleri literatüründe yaygın olarak benimsenmekte olup tahmin edilen ve deneysel değerler arasındaki farkın %5'i aşmaması modelin yüksek tahmin doğruluğuna sahip olduğuna işaret etmektedir (Drosou et al., 2015)

3.4. Fonksiyonel içecek formülasyonu

3.4.1. Formülasyon çalışmaları ve duyusal ön değerlendirme

Fonksiyonel içecek formülasyonlarının geliştirilmesi sürecinde, öncelikle peynir altı suyu tozu (PAST), süt, zeytin yaprağı ekstraktı, üzüm posası ekstraktı ve diğer katkı maddelerinin farklı oranlarda deneneceği ön formülasyon çalışmaları yürütülmüştür. Bu aşamada temel hedef: pastörizasyon sırasında çökme ve faz ayrışması oluşturmayan, duyusal açıdan kabul edilebilir, homojen bir yapıya sahip içecek formülasyonlarının belirlenmesidir. Duyusal ön değerlendirmeler, eğitimli panelistler tarafından gerçekleştirilmiş; görünüş, koku, tat ve genel kabul edilebilirlik kriterlerine göre formülasyonlar değerlendirilmiştir. Bu ön çalışmalar sonucunda peynir altı suyu tozunun istenmeyen tat ve aromasını dengeleyen, aynı zamanda biyoaktif bileşen kaynağı olarak ürüne işlevsel değer katan en uygun ekstrakt konsantrasyonları belirlenmiştir. Literatürde peynir altı suyu bazlı içeceklerde meyve ve bitki ekstraktlarının peynir altı suyuna özgü istenmeyen tat notlarının maskelenmesinde etkin bir strateji olduğu bildirilmektedir (Jeličić et al., 2008; Shraddha RC & Nalawade T, 2015).

Farklı ekstrakt konsantrasyonları ve formülasyon bileşimleri üzerinde gerçekleştirilen ön duyusal değerlendirmeler (renk, görünüm, koku ve fiziksel stabilite gözlemleri; n = 3–5 değerlendirici) doğrultusunda nihai formülasyon şu şekilde belirlenmiştir: 200 mL pastörize inek sütü, 20 g peynir altı suyu tozu, 2 g bitkisel ekstrakt (zeytin yaprağı veya üzüm posası), 0,2 g ksantan gam, 1 mg B9 vitamini (folik asit), 1 mg B12 vitamini (kobalamin) ve aromalı formülasyonlar için 0,02 mL çilek aroması. Formülasyonların bileşimi Çizelge 3.10'da özetlenmiştir.

Çizelge 3.10. Fonksiyonel içecek formülasyonlarının bileşimi

Ürün Tipi	PAST (g)	Süt (mL)	Ekstrakt (g)	Ekstrakt Türü	Ksantan Gam (g)	Çilek Aroması (mL)	B9 (mg)	B12 (mg)
ÇZY	20	200	2	Antioksidan	0,2	0,02	1	1
AZY	20	200	2	Antioksidan	0,2	—	1	1
ÇÜP	20	200	2	Antosiyanin	0,2	0,02	1	1
AÜP	20	200	2	Antosiyanin	0,2	—	1	1

ÇZY: Çilek Aromalı – Zeytin Yaprağı Ekstraktlı Fonksiyonel İçecek; AZY: Aromasız – Zeytin Yaprağı Ekstraktlı Fonksiyonel İçecek; ÇÜP: Çilek Aromalı – Üzüm Posası Ekstraktlı Fonksiyonel İçecek; AÜP: Aromasız – Üzüm Posası Ekstraktlı Fonksiyonel İçecek

Çizelgede görüldüğü üzere, zeytin yaprağı ekstraktı antioksidan bileşikler (oleuropein, hidroksitirozol) bakımından zengin bir biyoaktif kaynak olarak değerlendirilirken, üzüm posası ekstraktı başta malvidin-3-O-glikozit olmak üzere antosiyanin bileşiklerinin birincil kaynağı olarak formülasyona dahil edilmiştir (Benavente-García et al., 2000a). Ürün stabilitesinin sağlanması ve homojen bir tekstür elde edilmesi amacıyla tüm formülasyonlara 0,2 g ksantan gam ilave edilmiştir. Ksantan gam; suda çözünür, GRAS (Generally Recognized As Safe) statüsüne sahip bir mikrobiyal polisakkarit olup içecek sistemlerinde viskozite artışı, faz ayrışmasının önlenmesi ve stabilite sağlanması amacıyla yaygın biçimde kullanılmaktadır (Jeličić et al., 2008; Shraddha RC & Nalawade T, 2015). Peynir altı suyu tozu ile ksantan gamın kombinasyonunun içeceklerde hem emülsiyon stabilitesini hem de ağız hissini iyileştirdiği ve tüketici kabulünü artırdığı bildirilmektedir (Rizzolo & Cortellino, 2017).

Duyusal özelliklerin iyileştirilmesi amacıyla aromalı formülasyonlara 0,02 mL çilek aroması (Alfasol, Türkiye) eklenmiştir. Çilek gibi kırmızı meyve aromalarının, üzüm posasından kaynaklanan antosiyanin pigmentasyonuyla renk uyumu sağlaması ve peynir altı suyuna özgü tat notlarını maskelemesi açısından özellikle uygun bir tercih olduğu değerlendirilmiştir (Djurić et al., 2004b). Folik asit (B9 vitamini, Sigma-Aldrich, Almanya) ve kobalamin (B12 vitamini, Sigma-Aldrich, Almanya) ile zenginleştirme ise içeceklerin fonksiyonel ve besinsel değerini artırmak amacıyla gerçekleştirilmiştir. Her iki vitamin de DNA sentezi, kırmızı kan hücresi oluşumu ve homosistein metabolizması için kritik öneme sahip olup yetişkinler için önerilen günlük alım miktarı folik asit için yaklaşık 400 µg, B12 vitamini için ise 2,4 µg'dır (O'Leary & Samman, 2010).

3.4.2. Sıvı içecek üretimi

Sıvı fonksiyonel içeceklerin üretiminde, öncelikle belirlenen miktarda pastörize süt (200 mL) üzerine peynir altı suyu tozu (20 g) ilave edilerek Ultra-Turrax (T 25 digital ULTRA-TURRAX, IKA, Almanya) yardımıyla tam çözünme sağlanana kadar karıştırılmıştır. Ardından önceden hazırlanmış ve optimum koşullarda elde edilmiş olan zeytin yaprağı veya üzüm posası ekstraktı (2g) karışıma eklenmiştir. Ksantan gamın (0,2 g) homojen dağılımını sağlamak amacıyla formülasyonda kullanılacak pastörize sütün bir kısmı (yaklaşık 10 mL) ile ön ıslatma işlemine tabi tutulduktan sonra karışıma dahil edilmiştir.

Formülasyonlara sırasıyla B9 vitamini (1 mg) ve B12 vitamini (1 mg) ilave edilmiş; aromalı varyantlarda ise 0,02 mL çilek aroması eklenmiştir. Tüm bileşenler birleştirildikten sonra, homojen bir karışım elde etmek amacıyla oda sıcaklığında Ultra-Turrax (yüksek hızlı homojenizatör) kullanılarak 5 dakika boyunca homojenize edilmiştir. Hazırlanan içecekler, mikrobiyal yükü etkin biçimde azaltmak ve ürün güvenliğini sağlamak amacıyla dolum işlemi sonrasında pastörizasyon işlemine tabi tutulmuştur. Pastörizasyon, süt ve süt bazlı içecekler için yaygın olarak uygulanan yüksek sıcaklık kısa süre (HTST) yöntemine göre 72 °C'de 15 saniye süreyle gerçekleştirilmiştir (Goudarzi et al., 2015). Bu sıcaklık-süre kombinasyonunun peynir altı suyu proteinlerinin büyük bölümünün işlevselliğini korurken patojen mikroorganizmaların yok edilmesini sağladığı bilinmektedir (Shraddha RC & Nalawade T, 2015). Pastörizasyon işleminin ardından içecekler, hızla soğutularak yüksek yoğunluklu polietilen (HDPE) şişelere doldurulmuş ve depolama çalışmaları başlayana kadar 4 °C'de muhafaza edilmiştir.

3.4.3. Toz içecek üretimi

Toz içeceklerin üretiminde, 3.4.2 bölümünde tanımlanan prosedüre uygun olarak hazırlanan sıvı formülasyonlar dondurarak kurutma (liyofilizasyon) yöntemiyle işlenmiştir (Christ Alpha 1-2 LDplus, Martin Christ GmbH, Osterode am Harz, Almanya).

Liyofilizasyon işlemi üç temel aşamada gerçekleştirilmiştir. Dondurma aşamasında, sıvı formülasyonlar sığ kaplara alınarak −40°C'de dondurulmuş ve suyun büyük bölümünün buz kristali formuna dönüşmesi sağlanmıştır. Primer kurutma aşamasında, yüksek vakum altında (≤ 0,1 mbar) raf sıcaklığı kademeli olarak artırılmış ve donmuş suyun doğrudan süblimasyonla uzaklaştırılması sağlanmıştır. Sekonder kurutma aşamasında ise sıcaklık daha da yükseltilerek matrikste kalan bağlı su moleküllerinin desorpsiyonla giderilmesi ve son nem içeriğinin minimize edilmesi hedeflenmiştir.

Liyofilizasyon işleminin tamamlanmasının ardından elde edilen toz ürünler öğütme işlemine tabi tutularak hava almayan ve ışık geçirmeyen kaplara aktarılarak 25°C'de depolamaya alınmıştır.

3.5. Sıvı ve toz içeceklerin analizi

Geliştirilen fonksiyonel içeceklerin bilimsel açıdan değerlendirilebilmesi ve formülasyonlar arasındaki farkların istatistiksel olarak ortaya konulabilmesi için karakterizasyon analizleri gerçekleştirilmiştir. Bu analizler fizikokimyasal, toz ürün karakterizasyonu, biyoaktif bileşen ve mikrobiyolojik olmak üzere dört temel gruptan oluşmakta olup hem sıvı hem de toz formlar için ayrı ayrı uygulanmıştır.

3.5.1. Fizikokimyasal analizler

3.5.1.1. pH tayini

Sıvı fonksiyonel içeceklerin pH değerleri, kalibre edilmiş masaüstü pH metre (Mettler Toledo FiveEasy Plus FP20) kullanılarak 25 °C sıcaklıkta ölçülmüştür (AOAC, 2000; Cemeroğlu, 2010). Ölçümler öncesinde cihaz pH 4,00 ve pH 7,00 tampon

çözeltileriyle iki noktalı kalibrasyon protokolüne uygun biçimde kalibre edilmiştir. Her örnek için ölçüm üç kez tekrar edilerek ortalama değer ve standart sapma raporlanmıştır.

3.5.1.2. Renk tayini (CIE L*, a*, b*)

Fonksiyonel içeceklerin renk özellikleri, Konica Minolta CR-400 renk analizi cihazı kullanılarak CIE L*a*b* renk uzayında belirlenmiştir. Ölçümler D65 standart aydınlatıcısı ve 2° gözlemci açısı kullanılarak reflektans modunda gerçekleştirilmiş; cihaz her ölçüm serisinden önce standart beyaz levha ile kalibre edilmiştir (Pathare et al., 2013). Her formülasyon için en az üç farklı konumdan ölçüm alınarak ortalama değerler hesaplanmıştır.

3.5.1.3. Bulanıklık tayini (NTU)

İçecek örneklerinin bulanıklığı, türbidimetre (Hach 2100Q, Loveland, CO, ABD) kullanılarak Nefelometrik Bulanıklık Birimi (NTU) cinsinden ölçülmüştür (Oziyci et al., 2013). Ölçüm öncesinde örnekler iyice çalkalanmış; cam ölçüm tüpüne aktarıldıktan sonra tüp iki kez yavaşça ters çevrilerek homojen dağılım sağlanmıştır. Cihaz, formazin standart çözeltileri kullanılarak kalibre edilmiştir.

3.5.1.4. Kuru madde ve nem tayini

Sıvı içeceklerin toplam kuru madde (TKM) içerikleri ve toz içeceklerin nem içerikleri, ISO 6731 | IDF 21:2010 ve AOAC 925.23 standartlarına uygun gravimetrik yöntemle belirlenmiştir. Önceden tartılmış ve sabit kütleye getirilmiş alüminyum kapsüllere yaklaşık 3–5 g homojenize edilmiş örnek alınmış; 102 ± 2 °C'de etüvde sabit kütleye ulaşıncaya kadar (genellikle 3–4 saat) kurutulmuştur. Desikatörde soğutularak tartım yapılmış ve sabit kütle elde edilene kadar işlem tekrarlanmıştır. Her formülasyon için iki paralel analiz yürütülmüş; sonuçlar yaş ağırlık bazında % (g/100 g) cinsinden raporlanmıştır (ISO, 2010; AOAC, 2000).

3.5.1.5. Sedimentasyon indeksi

İçeceklerin sedimentasyon derecesi, çöken fazın toplam örnek hacmine oranı olarak belirlenmiştir (Iordache & Jelen, 2003). Sıvı hazırlanan her bir örnekten 15 mL alınarak dereceli silindirlere aktarılmış ve 5 °C'de 72 saat süreyle depolanmıştır. Analizler iki tekerrürlü olarak gerçekleştirilmiş olup, sonuçlar silindirdeki toplam içecek yüksekliğine göre çöken kısmın yüzdesi (%) olarak ifade edilmiştir.

3.5.2. Toz ürün karakterizasyonu

Liyofilizasyon yöntemiyle üretilen toz formların teknolojik kalitesi, akış davranışı, fiziksel özellikler ve rehidrasyon kapasitesi açısından kapsamlı biçimde karakterize edilmiştir. Bu analizler toz ürünün işlenebilirliği, paketlenebilirliği, tüketici kullanım kolaylığı ve depolama kararlılığı hakkında temel bilgiler sağlamaktadır (Barbosa-Cánovas et al., 2005).

3.5.2.1. Yığın yoğunluğu ve sıkıştırılmış yoğunluk

Toz örneklerin yığın yoğunluğu (ρ*yığın*) ve sıkıştırılmış yoğunluğu (ρ*sık*), (Jinapong et al., 2008) yöntemine göre belirlenmiştir. Yaklaşık 10 g toz, önceden tartılmış 100 mL'lik dereceli silindire yavaşça dökülerek başlangıç hacmi (V*yığın*) okunmuştur:

Toz örneklerin yığın yoğunluğu (ρ_yığın) Denklem (3.6) ile hesaplanmıştır:

$$\rho_{yığın} = m / V_{yığın} \ (g/mL) \quad (3.6)$$

Sıkıştırılmış yoğunluk için aynı silindir 50 kez 2,5 cm yükseklikten düşürüldükten sonra hacim (V*sık*) yeniden okunmuştur:

Sıkıştırılmış yoğunluk (ρ_sık) ise silindir 50 kez 2,5 cm yükseklikten düşürüldükten sonra Denklem (3.7) ile belirlenmiştir:

$$\rho_{sık} = m / V_{sık} \ (g/mL) \quad (3.7)$$

3.5.2.2. Carr indeksi ve hausner oranı

Toz ürünün akış özellikleri Carr İndeksi (CI) ve Hausner Oranı (HR) Denklem (3.8) ve Denklem (3.9) ile hesaplanmıştır (Carr, 1965):

$$\textbf{Carr İndeksi (\%) :}\ CI = [(\rho_{sık} - \rho_{yığın}) / \rho_{sık}] \times 100 \quad (3.8)$$

$$\textbf{Hausner Oranı :}\ HR = \rho_{sık} / \rho_{yığın} \quad (3.9)$$

CI ve HR değerlerinin yorumlanmasında Çizelge 3.11'deki sınıflandırma esas alınmıştır (Carr, 1965; USP, 2021).

Liyofilizasyon yöntemiyle elde edilen toz ürünlerin higroskopik yapısı nedeniyle CI ve HR değerleri depolama koşullarından etkilenebilmekte; bu nedenle söz konusu parametreler depolama çalışması kapsamında da izlenmiştir.

Çizelge 3.11. Carr indeksi ve hausner oranı değerlerine göre toz akışkanlık sınıflandırması

Carr İndeksi (%)	Hausner Oranı	Akışkanlık Derecesi	Değerlendirme
< 10	< 1,11	Çok iyi	Serbest akışlı
11–15	1,12–1,18	İyi	İyi akışlı
16–20	1,19–1,25	Tatmin edici	Nispeten akışlı
21–25	1,26–1,34	Geçerli	Tutarsız akış
26–31	1,35–1,45	Zayıf	Zayıf akış
32–37	1,46–1,59	Çok zayıf	Çok kötü akış
> 38	> 1,60	Çok çok zayıf	Akışsız

3.5.2.3. Çözünürlük

Toz içeceklerin çözünürlüğü (Seth et al., 2017) ile ISO/IDF yöntemine göre belirlenmiştir. 1 g toz örnek, 100 mL distile su içinde manyetik karıştırıcıyla 25 °C'de 5

dakika boyunca çözülerek; elde edilen süspansiyon önceden tartılmış Whatman No. 1 filtre kağıdından geçirilmiştir. Çözünmeyen kısım 103 °C'de kurutularak tartılmış ve Çözünürlük yüzdesi Denklem (3.10) ile hesaplanmıştır (Seth et al., 2017):

$$\text{Çözünürlük (\%)} = [(m_0 - m_{\textit{çözünmeyen}}) / m_0] \times 100 \quad (3.10)$$

Bu formülde m_0 başlangıç toz kütlesini (g), $m_{\textit{çözünmeyen}}$ ise filtre kâğıdında kalan kurutulmuş artık kütlesini (g) ifade etmektedir. Yüksek çözünürlük değerleri toz formunun tüketim kolaylığı ve biyoyararlanım açısından avantajlı olduğunu göstermektedir.

3.5.2.4. Islanabilirlik

Islanabilirlik, (Seth et al., 2017) tarafından tanımlanan yönteme göre saniye cinsinden ölçülmüştür. 100 mL distile su içeren beher kabına 1 g toz örnek, yavaşça ve eşit dağılacak biçimde su yüzeyine dökülerek başlangıçtan tam ıslanmaya kadar geçen süre kronometre ile kaydedilmiştir. Her ölçüm üç kez tekrar edilecektir. Kısa ıslanabilirlik süresi, tozun kolaylıkla suya karıştırılabildiğine ve tüketim hazırlığının pratik olduğuna işaret etmiştir.

3.5.3. Biyoaktif bileşen analizleri

Formülasyonlara dahil edilen zeytin yaprağı ve üzüm posası ekstraktlarının biyoaktif katkısının teyit edilmesi ve ürünlerin fonksiyonel niteliğinin kanıtlanması amacıyla toplam fenolik madde, toplam antosiyanin, antioksidan aktivite ve polifenolik profil analizleri gerçekleştirilmiştir.

3.5.3.1. Toplam fenolik madde tayini

Toplam fenolik madde (TFM) içeriği, (Singleton & Rossi, 1965) tarafından geliştirilen Folin–Ciocalteu (FC) spektrofotometrik yöntemiyle belirlenmiştir. Bu yöntem, fenolik bileşiklerin alkali ortamda fosfomolibdik/fosfotungstik asit komplekslerinden oluşan FC reaktifini indirgemesi ve 760 nm'de ölçülebilen mavi renkli bir Mo^{4+} kompleksinin oluşması esasına dayanmaktadır (Shahidi & Zhong, 2015).

Analiz prosedürü: 50 µL örnek üzerine 3,16 mL distile su ve 200 µL FC reaktifi (1:10 seyreltilmiş) eklenmiştir. Karışım vorteksle iyice karıştırıldıktan sonra 1–8 dakika beklenerek 600 µL %20'lik (w/v) sodyum karbonat (Na_2CO_3) çözeltisi ilave edilmiştir. Tüm işlemler karanlık ortamda gerçekleştirildikten sonra karışım 25 °C'de 2 saat bekletilecek ve 760 nm'deki absorbans spektrofotometrede okunmuştur (Singleton et al., 1999). Gallik asit standart çözeltileriyle (0–500 mg/L) oluşturulan kalibrasyon eğrisi kullanılarak sonuçlar mg gallik asit eşdeğeri (GAE)/L (sıvı) veya mg GAE/g kuru madde (toz) cinsinden raporlanmıştır.

3.5.3.2. Toplam monomerik antosiyanin tayini

Toplam monomerik antosiyanin (TMA) miktarı, (Giusti & Wrolstad, 2001) tarafından geliştirilen ve AOAC tarafından onaylanan pH-diferansiyel spektrofotometrik yöntemle belirlenmiştir. Yöntem: antosiyaninlerin pH 1,0'da renkli flavilium katyonu

(AH+) formunda, pH 4,5'te ise renksiz alkon/hemiketal formunda bulunmalarına dayanmaktadır.

Örnek, pH 1,0 (0,025 M KCl) ve pH 4,5 (0,4 M CH_3COONa) tampon çözeltileriyle seyreltilerek her iki pH'ta 510 nm ve 700 nm dalga boylarında absorbans ölçümleri yapılmış ve ΔA değeri Denklem (3.11) ile hesaplanmıştır:

$$\Delta A = (A_{510} - A_{700})_{pH\ 1,0} - (A_{510} - A_{700})_{pH\ 4,5} \quad (3.11)$$

TMA konsantrasyonu malvidin-3-glikozit eşdeğeri cinsinden Denklem (3.12) ile hesaplanmıştır (Ribéreau-Gayon, 2006):

$$\text{TMA (mg/L)} = \Delta A \times MW \times DF \times 1000 / (\varepsilon \times l) \quad (3.12)$$

Bu formülde MW: malvidin-3-glikozit'in molekül ağırlığı (493,5 g/mol); DF: seyreltme faktörü; ε: molar absorptivite (28.000 $L \cdot mol^{-1} \cdot cm^{-1}$); l: optik yol uzunluğu (cm) parametrelerini ifade etmektedir. Üzüm posasının baskın antosiyanini olan malvidin-3-glikozit referans bileşik olarak kullanılmıştır (Ribéreau-Gayon, 2006).

3.5.3.3. DPPH serbest radikal süpürme aktivitesinin belirlenmesi

Örneklerin DPPH Serbest Radikal Süpürme Aktivitesinin Belirlenmesi $DPPH^{\bullet}$ (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) serbest radikal giderme yöntemine göre (Brand-Williams et al., 1995) Protokolü esas alınarak belirlenmiştir. $DPPH^{\bullet}$ radikali, metanol ortamında karakteristik mor renk göstermekte ($\lambda_{maks} \approx$ 515–517 nm) ve indirgen maddelerle reaksiyona girerek soluklaşmaktadır:

$$DPPH^{\bullet} + InH \rightarrow DPPH\text{-}H + In^{\bullet}$$

50 µL örnek, 1,5 mL'lik santrifüj tüpüne alınacak ve üzerine 950 µL taze hazırlanmış 60 µM $DPPH^{\bullet}$ metanol çözeltisi ilave edilmiştir. Karışım karanlıkta oda sıcaklığında (25 °C) 30 dakika inkübasyona bırakılmış; süre sonunda 517 nm'de absorbans ölçülmüştür. Trolox standart çözeltileriyle (0–400 µM) hazırlanan kalibrasyon eğrisi kullanılarak sonuçlar mg Trolox eşdeğeri (TE)/L (sıvı) veya mg TE/g kuru madde (toz) cinsinden raporlanmıştır (Brand-Williams et al., 1995).

3.5.3.4. Fenolik profili tayini (HPLC-DAD)

Tekil fenolik bileşiklerin kompozisyonu kromatografik olarak HPLC-DAD sistemi kullanılarak analiz edilşmiştir. Zeytin yaprağı kaynaklı fenolikler (oleuropein, hidroksitirozol, tirozol, luteolin-7-glikozit) ile üzüm posası kaynaklı antosiyaninler ve fenolik asitler (malvidin-3-glikozit, siyanidin-3-glikozit, gallik asit, kafeik asit, kateşin, epikateşin) bu kapsamında tanımlanmış ve miktarsal olarak belirlenmiştir.

Analizde ters faz C18 kolonu (250 × 4,6 mm, 5 µm, 25 °C) kullanılmıştır. Hareketli faz olarak %0,1 formik asit içeren su (A) ve %0,1 formik asit içeren asetonitril (B) tercih edilmiş; gradient elüsyon programı uygulanmıştır. Akış hızı 1,0 mL/dk, enjeksiyon hacmi ise 20 µL olarak uygulanmıştır. Fenolik asitler ve flavonoidler 280 ve 320 nm dalga boylarında, antosiyaninler ise 520 nm dalga boyunda izlenmiştir. Bileşiklerin tanımlanması, ticari standartlarla alıkonma sürelerinin karşılaştırılması ve

absorbans spektrumlarının eşleştirilmesi yoluyla gerçekleştirilmiştir (Naczk & Shahıdı, 2004).

3.5.4. Mikrobiyolojik analizler

Fonksiyonel içeceklerin mikrobiyolojik güvenliği ve kalitesi, üretim sonrası sıvı ürünlerde gerçekleştirilecek analizlerle ortaya konulmuştur. Analizlerde Plate Count Agar (PCA) ve Potato Dextrose Agar (PDA) besiyerleri kullanılacak olup ilgili uluslararası standart yöntemler esas alınmıştır.

3.5.4.1. Toplam aerobik mezofilik bakteri sayısı

Toplam aerobik mezofilik bakteri sayımı için Plate Count Agar (PCA) besiyeri kullanılmıştır. Analiz, dökme plaka (pour plate) yöntemi ile gerçekleştirilmiştir; örnekler uygun seyreltim oranlarında hazırlandıktan sonra PCA besiyerine dökülmüş ve 30 °C'de 48 saat inkübe edilmiştir (ISO, 2013). İnkübasyon sonrasında oluşan koloniler sayılmış ve sonuçlar log KOB/mL cinsinden ifade edilmiştir.

3.5.4.2. Maya ve küf sayımı

Maya ve küf sayımı için Potato Dextrose Agar (PDA) besiyeri kullanılmıştır. Örnekler uygun seyreltim oranlarında hazırlandıktan sonra PDA besiyerine dökülmüş ve 25 °C'de 3–5 gün inkübe edilmiştir (ISO, 2008). İnkübasyon sonrasında oluşan koloniler sayılmış ve sonuçlar log KOB/mL cinsinden ifade edilmiştir.

3.6. Depolama stabilitesi

Fonksiyonel ürünlerin ticari değer taşıyabilmesi için renk ve mikrobiyolojik güvenliğin belirli bir raf ömrü boyunca korunması zorunludur (Touati et al., 2016). Bu çalışmada geliştirilen sıvı ve toz formülasyonların depolama süresince sergileyecekleri değişimler belirlenmiş zaman noktalarında izlenmiştir.

3.6.1. Sıvı içeceğin depolanması ve analiz takvimi

Pastörizasyon işlemi tamamlanmış sıvı içecekler, aseptik dolum koşullarında HDPE şişelere aktarılarak iki paralel olarak 4 ± 1 °C'de muhafaza edilmiştir. Depolama süresi 7 gün olarak belirlenmiş; analizler 0., 3. ve 7. günlerde gerçekleştirilmiştir. Her analiz günü açılmamış şişeler kullanılmış; örneklerin analiz süresince 4 °C'nin üzerine çıkmaması sağlanmıştır.

Depolama sürecinde uygulanan analiz parametreleri ve zaman takvimi Çizelge 3.12'de verilmiştir. Modelin optimum koşullardaki tahmin değeriyle deneysel değer arasındaki uyum, göreceli hata yüzdesi (RE%) hesaplanarak değerlendirilmiştir. Belirlenen optimum koşullarda bağımsız üç tekrar (n = 3) gerçekleştirilmiş; elde edilen ortalama TMA değeri 728,57 mg/100 g KM olarak ölçülmüştür. Tahmin değeri (737,44 mg/100 g KM) ile deneysel değer (728,57 mg/100 g KM) arasındaki fark RE% = 1,20 olarak hesaplanmış olup bu değer %5 sınırının belirgin biçimde altında kalmaktadır. Çizelge 4.12'de sunulan sonuçlar, deneysel ve tahmin değerleri arasındaki yüksek uyumu ve dolayısıyla modelin güvenilirliğini ortaya koymaktadır.

Çizelge 3.12. Sıvı fonksiyonel içeceklerin depolama sürecindeki analiz parametreleri ve takvimi

Analiz Grubu	Analiz	0. gün	3. gün	7. gün	Yöntem / Referans
Fizikokimyasal	pH	✓	✓	✓	pH metre, 25 °C (AOAC, 2000; Cemeroğlu, 2010).
	Renk (L*, a*, b*)	✓	✓	✓	Konica Minolta kolorimetri (CIE L*a*b*)
	Bulanıklık (NTU)	✓	✓	✓	Türbidimetre, Hach 2100Q (Oziyci et al., 2013)
Mikrobiyolojik	TKBS (log KOB/mL)	✓	✓	✓	ISO 4833-1
	Maya-küf (log KOB/mL)	✓	✓	✓	PDA besiyeri (ISO 21527-1)

TKBS: Toplam canlı bakteri sayısı; KOB: Koloni oluşturan birim; PDA: Potato Dextrose Agar; TFM: Toplam fenolik madde; GAE: Gallik asit eşdeğeri; TMA: Toplam monomerik antosiyanin; MAE: Malvidin-3-glikozit eşdeğeri; TE: Trolox eşdeğeri; ✓: analiz yapılacak.

3.6.2. Toz içeceğin depolanması ve analiz takvimi

Liyofilizasyonla üretilen toz içecekler, alüminyum folyo kaplı sızdırmaz torbalara aktarılarak 25 ± 1 °C'de 28 gün süresince depolanmıştır. Analizler 0., 7., 14., 21. ve 28. günlerde gerçekleştirilmiştir. Toz ürün özellikleri kapsamında yığın yoğunluğu ve sıkıştırılmış yoğunluk (Jinapong et al., 2008), Carr İndeksi ve Hausner Oranı (Carr, 1965), çözünürlük ve ıslanabilirlik (Seth et al., 2017) belirlenmiştir. Fizikokimyasal analizler kapsamında nem içeriği gravimetrik yöntemle (AOAC, 2000), su aktivitesi AquaLab 4TE cihazı ile 25 °C'de ve renk parametreleri (L*, a*, b*) Konica Minolta kolorimetri ile ölçülmüştür. Mikrobiyolojik analizler kapsamında ise toplam canlı bakteri sayısı (TKBS, log KOB/g) ISO 4833-1 standardına göre Plate Count Agar besiyerinde, maya-küf sayısı ise ISO 21527-1 standardına göre Potato Dextrose Agar (PDA) besiyerinde belirlenmiştir.

3.7. İstatistiksel analizler

Bu çalışmada elde edilen veriler birden fazla istatistiksel yaklaşım kullanılarak analiz edilmiştir. Ekstraksiyon optimizasyonuna ilişkin RSM verileri Design-Expert v.22 (Stat-Ease Inc., Minneapolis, ABD) yazılımıyla; formülasyon karşılaştırmaları ve depolama değişimleri ise SAS paket programı (SAS Institute, Cary, NC, ABD, v.9.4) kullanılarak değerlendirilmiştir.

Formülasyon etkilerinin karşılaştırılmasında tek yönlü varyans analizi (ANOVA) uygulanmış; ortalamalar arasındaki anlamlı farklar Duncan'ın Çoklu Aralık Testi (DMRT) ile ortaya konulmuştur ($p < 0,05$). Depolama stabilitesi verilerinde ise formülasyon × süre etkileşimini açıklamak amacıyla tekrarlı ölçüm ANOVA'sı (SAS PROC MIXED) kullanılmıştır. Tüm analizlerde $\alpha = 0,05$ anlamlılık düzeyi esas alınmış; veri normalliği Shapiro-Wilk testi ile kontrol edilmiştir. Depolama günleri arasındaki ikili karşılaştırmalarda çoklu karşılaştırma nedeniyle Tip I hata birikimini önlemek amacıyla Bonferroni düzeltmesi uygulanmış eşleştirilmiş t-testi ($\alpha_{düzeltilmiş} = \alpha/k$) kullanılmıştır.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. Hammaddelerin fizikokimyasal karakterizasyonu

4.1.1. Nem içeriği

Zeytin yaprağı ve üzüm posasına ait nem analiz sonuçlarına göre öğütülmüş zeytin yaprağı örneklerinde (her materyal için 3 örnek) nem içeriği yaş ağırlık bazında %7,80 ± 0,09, üzüm posası örneklerinde ise %6,86 ± 0,08 olarak belirlenmiştir. Elde edilen bu değerler, kurutulmuş ve öğütülmüş benzer materyaller için literatürde bildirilen aralıklarla uyum içindedir. Kurutulmuş zeytin yapraklarında nem içeriğinin %4–11 arasında değiştiği bildirilmiş olup bu değişkenliğin çeşit, hasat dönemi, kurutma koşulları ve uygulanan ön işlemler gibi faktörlerle ilişkilendirilmiştir (Boudhrioua et al., 2009; Souilem et al., 2017). Üzüm posasında ise nem içeriğinin büyük ölçüde işleme tekniğine ve uygulanan kurutma yöntemine bağlı olarak %3–15 arasında değişebildiği, kuru posalarda bu değerin %5–8 düzeyine indiği rapor edilmektedir (Bender et al., 2020). Her iki hammaddede belirlenen düşük nem içerikleri, mikrobiyal gelişim riskini en aza indirmesi ve uzun süreli depolama stabilitesi sağlaması bakımından biyoaktif bileşik ekstraksiyonu için uygun hammadde koşullarının varlığına işaret etmektedir.

4.1.2. Su aktivitesi

Zeytin yaprağı örneklerine ait aw değeri 0,214 ± 0,006 olarak belirlenirken, üzüm posası örneklerinde bu değer 0,246 ± 0,008 olarak tespit edilmiştir. Gıda güvenliği açısından değerlendirildiğinde, 0,60'ın altındaki aw değerlerinin tüm mikrobiyal gelişimi etkin biçimde inhibe ettiği; özellikle 0,30'un altında ise oksidatif reaksiyonlar dışındaki bozulma mekanizmalarını pratik olarak durduran koşulları temsil ettiği bilinmektedir (Fellows, 2011).

Bu bağlamda her iki hammaddede belirlenen düşük a_w değerleri, ürünlerin mikrobiyolojik açıdan güvenli olduğunu ve uzun süreli depolama koşullarına uygun olduğunu göstermektedir. Ancak öğütülmüş ve toz haldeki materyallerin higroskopik yapısı nedeniyle uygunsuz depolama koşullarında (yüksek bağıl nem, yetersiz ambalajlama) su aktivitesinin hızla yükselebileceği bilinmektedir (Barbosa-Cánovas et al., 2005). Bu nedenle her iki hammaddenin de sızdırmaz ambalajlarda, kuru ve serin ortamda muhafaza edilmesi biyoaktif bileşen stabilitesinin korunması açısından zorunlu görülmüş; çalışma süresince örnekler bu koşullar sağlanarak depolanmıştır. Ayrıca düşük su aktivitesinin öğütülmüş bitkisel materyallerde enzimatik esmerleşme reaksiyonlarını ve hidrolitik bozunmayı da önemli ölçüde baskıladığı bildirilmektedir (Labuza & Altunakar, 2007). Bu özellik, zeytin yaprağı ve üzüm posasındaki ısıya duyarlı fenolik bileşiklerin (oleuropein, antosiyaninler) bozunmadan korunması açısından ek bir avantaj sağlamaktadır.

4.2. Ekstraksiyon optimizasyonu

4.2.1. Zeytin yaprağı ekstraksiyon optimizasyonu

Zeytin yapraklarına (*Olea europaea L.*, Domat çeşidi) ait öğütülmüş materyalin katı-sıvı ekstraksiyonu ile fenolik bileşiklerin optimum koşullarda kazanımı I-Optimal

tasarım yaklaşımı kullanılarak Yanıt Yüzey Yöntemi (RSM) ile gerçekleştirilmiştir. Bağımsız değişkenler olarak çözgendeki etanol konsantrasyonu (A, %0–100 v/v), ekstraksiyon sıcaklığı (B, 30–60 °C) ve ekstraksiyon süresi (C, 30–180 dk); yanıt değişkeni olarak ise DPPH serbest radikal inhibisyonuna dayalı Trolox eşdeğeri antioksidan kapasite (TEAC, mg Trolox/100 g KM) seçilmiştir. Deneysel tasarım kapsamında gerçekleştirilen 20 deneye ait TEAC sonuçları geniş bir aralıkta değişmiştir; bu durum seçilen parametrelerin biyoaktif bileşik ekstraksiyonu üzerinde belirleyici bir etkiye sahip olduğunu açıkça ortaya koymuştur.

4.2.1.1. Model uyumluluğu ve istatistiksel değerlendirme

Zeytin yaprağına ait öğütülmüş materyalden katı sıvı ekstraksiyonu ile fenolik bileşenlerin kazanım koşullarının belirlenmesi için elde edilen deneysel veriler Design-Expert yazılımı ile ikinci dereceden (kuadratik) polinomial modele uyarlanmış ve modelin istatistiksel geçerliliği varyans analizi (ANOVA) ile değerlendirilmiştir. ANOVA sonuçları Çizelge 4.1'de, model katsayılarına ilişkin tahminler ise Çizelge 4.2'de sunulmuştur.

Çizelge 4.1. Zeytin yaprağı TEAC yanıtı için kuadratik modelin ANOVA sonuçları

Kaynak	Kareler Toplamı	sd	Kareler Ort.	F Değeri	p Değeri	Önem
Model	$1{,}372\times10^{8}$	9	$1{,}525\times10^{7}$	3,70	0,0267	*
A – Etanol	$1{,}311\times10^{7}$	1	$1{,}311\times10^{7}$	3,18	0,1047	ÖD
B – Sıcaklık	$3{,}344\times10^{6}$	1	$3{,}344\times10^{6}$	0,812	0,3888	ÖD
C – Süre	$1{,}880\times10^{6}$	1	$1{,}880\times10^{6}$	0,456	0,5146	ÖD
AB	$1{,}026\times10^{7}$	1	$1{,}026\times10^{7}$	2,49	0,1456	ÖD
AC	$1{,}165\times10^{7}$	1	$1{,}165\times10^{7}$	2,83	0,1235	ÖD
BC	$8{,}162\times10^{5}$	1	$8{,}162\times10^{5}$	0,198	0,6657	ÖD
A²	$4{,}135\times10^{7}$	1	$4{,}135\times10^{7}$	10,04	0,0100	*
B²	$1{,}393\times10^{7}$	1	$1{,}393\times10^{7}$	3,38	0,0958	ÖD
C²	$2{,}207\times10^{7}$	1	$2{,}207\times10^{7}$	5,36	0,0432	*
Artık	$4{,}120\times10^{7}$	10	$4{,}120\times10^{6}$	—	—	
Uyumsuzluk	$3{,}128\times10^{7}$	5	$6{,}255\times10^{6}$	3,15	0,1166	ÖD
Saf hata	$9{,}919\times10^{6}$	5	$1{,}984\times10^{6}$	—	—	
Toplam	$1{,}784\times10^{8}$	19	—	—	—	

sd: serbestlik derecesi; KO: kareler ortalaması. (*) $p < 0{,}05$; ÖD: önemli değil ($p > 0{,}05$). Model F değeri = 3,70; p = 0,0267. Yetersiz uyum F değeri = 3,15; p = 0,1166 (anlamsız, istenen durum).

Model F değerinin 3,70 ve karşılık gelen olasılık değerinin p = 0,0267 olması, geliştirilen kuadratik modelin istatistiksel olarak deneysel verilerle uyumlu olduğunu (%5 önem düzeyinde) ortaya koymaktadır. Elde edilen F değerine karşılık gelen p-değerinin 0,0267 olması, modelin gözlenen etkilerinin, gerçek bir etki yoksa yalnızca %2,67 olasılıkla ortaya çıkabileceğini göstermekte ve modelin istatistiksel olarak anlamlı olduğunu doğrulamaktadır (Design-Expert, 2023). Buna karşın modelin açıklayıcı gücü değerlendirildiğinde $R^2 = 0{,}769$ olarak hesaplanmış olup bu değer toplam varyansın yaklaşık %77'sinin model tarafından açıklanabildiğini göstermektedir.

Modele ait düzeltilmiş R^2 (R^2adj) değerinin 0,561 düzeyinde kalması, modele dahil edilen bazı terimlerin sınırlı açıklayıcı güce sahip olduğuna ve model

indirgemesinin (model reduction) yanıt yüzeyinin daha yalın biçimde temsil edilmesine katkı sağlayabileceğine işaret etmektedir. Bununla birlikte, biyolojik matrikslerden gerçekleştirilen ekstraksiyon çalışmalarında R^2 = 0,70–0,80 aralığının kabul edilebilir sayıldığı ve RSM uygulamalarında elde edilen değişkenliğin önemli bir bölümünün hammaddenin biyolojik heterojenitesinden kaynaklandığı literatürde bildirilmektedir (Lıyanapathırana & Shahıdı, 2005; Myers et al., 2009).

Model uyumsuzluğu (lack of fit) testinde F = 3,15 ve p = 0,1166 olarak belirlenmiş olup model uyumsuzluğu önemsiz (p > 0,05) bulunmuştur. Bu sonuç geliştirilen quadratik modelin deneysel verileri yeterli doğrulukta temsil ettiğini göstermiştir. Katsayı tahminleri incelendiğinde, istatistiksel olarak anlamlı bulunan terimlerin A^2 (β_{11} = −3607,18; p = 0,0100) ve C^2 (β_{33} = +2441,59; p = 0,0432) olduğu görülmektedir.

Çizelge 4.2. Zeytin yaprağı TEAC yanıtı için kuadratik model katsayıları ve istatistiksel önemi

Terim	Katsayı (β)	Standart Hata	%95 GA Alt	%95 GA Üst	VIF	Yorum
Sabit (β_0)	5613,74	1999,38	3386,98	7840,51	—	İstatistiksel anlam ifade etmez
A (β_1)	−1249,73	700,52	−2810,58	311,12	1,09	p=0,1047; anlamlı değil; etanol konsantrasyonunun doğrusal etkisi
B (β_2)	+538,57	597,77	−793,35	+1870,49	1,03	p=0,3888; anlamlı değil; sıcaklığın doğrusal etkisi
C (β_3)	+418,47	619,40	−961,64	+1798,59	1,03	p=0,5146; anlamlı değil; sürenin doğrusal etkisi
AB (β_{12})	−1361,28	862,45	−3282,93	560,37	1,23	p=0,1456; anlamlı değil; etanol×sıcaklık etkileşimi
AC (β_{13})	−1688,83	1004,23	−3926,39	548,73	1,09	p=0,1235; anlamlı değil; etanol×süre etkileşimi
BC (β_{23})	−355,58	798,86	−2135,55	1424,40	1,13	p=0,6657; anlamlı değil; sıcaklık×süre etkileşimi
A^2 (β_{11})	**−3607,18**	1138,52	−6143,96	−1070,39	1,30	p=0,0100; anlamlı (*); etanol konsantrasyonunun kuadratik etkisi
B^2 (β_{22})	+2242,41	1219,66	−475,16	+4959,99	1,41	p=0,0958; anlamlı değil (p<0,1'de önemli sayılabilir)
C^2 (β_{33})	**+2441,59**	1054,76	+91,44	+4791,75	1,13	p=0,0432; anlamlı (*); sürenin kuadratik etkisi

GA: güven aralığı; VIF: varyans artış faktörü. (*) p < 0,05. Tüm katsayılar kodlanmış değerler bazında verilmiştir. VIF < 10 çoklu doğrusallık sorunu olmadığına işaret etmektedir.

A^2 katsayısının negatif ve büyük değeri, etanol konsantrasyonunun TEAC üzerinde belirgin bir tepe noktası (maksimum) oluşturduğunu; yani çözgen içerisindeki etanol konsantrasyonlarının hem çok düşük hem de çok yüksek konsantrasyonlara kıyasla tespit edilen optimum değerde daha yüksek antioksidan kapasite sağladığını göstermektedir. C^2 katsayısının pozitif değeri ise sürenin uzamasıyla birlikte TEAC'in artan bir eğilim gösterdiği, ancak bu artışın giderek yavaşlayan bir eğim sergilediğini ortaya koymaktadır. Modelin genel uyum iyiliğine ilişkin istatistiksel göstergeler Çizelge 4.3'te özetlenmiştir. Kodlanmış değerler cinsinden tam kuadratik model Eşitlik 4.1' de görülmektedir.

$$TEAC = 5613{,}74 - 1249{,}73A + 538{,}57B + 418{,}47C - 1361{,}28AB - 1688{,}83AC - 355{,}58BC - 3607{,}18A^2 + 2242{,}41B^2 + 2441{,}59C^2 \quad (4.1)$$

A: kodlanmış etanol konsantrasyonu; B: kodlanmış sıcaklık; C: kodlanmış süre. Birim: mg Trolox/100 g KM.

Çizelge 4.3. Model uyumluluğu göstergeleri

İstatistik	Değer	Kabul Kriteri	Yorum
Model F değeri	**3,70**	—	Modelin istatistiksel olarak anlamlı olduğunu gösterir (p=0,0267)
p (Model)	**0,0267**	< 0,05	Model anlamlı (α=0,05 düzeyinde)
R^2	0,7691	≥ 0,90 tercih edilir	Toplam varyansın %76,9'u model tarafından açıklanmaktadır
R^2adj	0,5613	≥ 0,85 tercih edilir	Serbestlik derecesi düzeltmesi sonrası model gücü orta düzeydedir
R^2pred	—	$\|R^2 - R^2pred\|$ < 0,20	Yeni gözlemler için tahmin yeteneği
Lack of Fit F	3,15	p > 0,05 (anlamsız)	p=0,1166 → yetersiz uyum anlamsız; model sistematik hata taşımıyor

R^2: determinasyon katsayısı; R^2adj: düzeltilmiş R^2; LOF: yetersiz uyum (Lack of Fit). ÖD: p > 0,05, anlamsız.

R^2pred değeri bu model için hesaplanamamıştır. Design-Expert yazılımı, PRESS (Prediction Error Sum of Squares) istatistiğinin negatif veya güvenilmez değer verdiği durumlarda R^2pred raporlamaz. Bu durum, modelin düşük R^2adj değeriyle (0,5613) tutarlı olup modelin yeni gözlemler için tahmin yeteneğinin sınırlı olduğuna işaret etmektedir. Bununla birlikte, yetersiz uyum testinin anlamsız çıkması (p=0,1166) modelin sistematik hata taşımadığını göstermektedir.

4.2.1.2. Bağımsız değişkenlerin antioksidan kapasiteye etkileri

Zeytin yaprağı örneklerinin farklı ekstraksiyon koşullarında elde edilen deneysel TEAC değerleri Çizelge 4.4'te verilmiştir. Optimizasyon koşullarında elde edilen ekstraktların TEAC değerleri 2829,26 ile 11365,86 mg Trolox/100 g KM arasında geniş bir aralıkta değişmiş; bu yaklaşık 4,02 katlık fark, ele alınan ekstraksiyon parametrelerinin zeytin yaprağı antioksidan kapasitesi üzerinde son derece belirleyici bir etkiye sahip olduğunu açıkça ortaya koymaktadır.

Çizelge 4.4. Zeytin yaprağı örneğinin I-Optimal deneysel tasarımda elde edilen ekstraktlarının TEAC değerleri

Deney No	A: Etanol (%v/v)	B: Sıcaklık (°C)	C: Süre (dk)	TEAC (mg Trolox/100 g)
1	100	60	60	3362,80 ± 150,91
2	60	40	30	9932,92 ± 301,81
3	40	50	120	7615,85 ± 172,46
4	0	50	180	6960,36 ± 64,67
5	20	30	30	3804,87 ± 43,11
6	60	60	30	9658,53 ± 172,46
7	80	40	120	3118,90 ± 280,25
8	0	60	120	9856,70 ± 64,67
9	40	30	180	10832,37 ± 64,67
10	0	60	30	7692,07 ± 64,67
11	60	40	30	9551,82 ± 237,14
12	40	50	120	7524,39 ± 150,91
13	100	60	150	2905,48 ± 64,67
14	60	60	180	10146,36 ± 258,70
15	100	40	180	2829,26 ± 129,35
16	0	30	90	4902,43 ± 43,11
17	40	50	120	4338,41 ± 150,90
18	100	30	90	3179,87 ± 64,67
19	40	50	120	7371,95 ± 129,34
20	40	30	180	11365,86 ± 43,11

Yeşil: en yüksek TEAC değeri (Deney 20); kırmızı: en düşük TEAC değeri (Deney 15); sarı: tekrarlı merkez noktaları (Deney 3, 12, 17, 19). Değerler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir (n = 2 teknik replikat).

A. Etanol konsantrasyonunun etkisi (Faktör A)

ANOVA sonuçlarına göre etanol konsantrasyonunun doğrusal terimi (A) istatistiksel olarak anlamlı bulunmamış ($p = 0,1047$), ancak kuadratik terimi (A^2) $p = 0,0100$ ile yüksek derecede anlamlı çıkmıştır. Bu bulgu, etanol konsantrasyonu ile TEAC arasındaki ilişkinin doğrusal değil, eğrisel (concave-down, yani tepe noktasına sahip) bir karakterde olduğuna işaret etmektedir.

Deney verileri incelendiğinde, %100 etanol içeren koşullarda (Deney 1, 13, 15, 18) TEAC değerlerinin 2829–3363 mg Trolox/100 g gibi görece düşük seviyelerde kaldığı görülmektedir. Buna karşın, saf su kullanılan koşullarda (Deney 4, 8, 10, 16) TEAC değerleri çok daha geniş bir aralıkta (4902–9857 mg Trolox/100 g) değişmiş; orta etanol düzeylerinde (Deney 2, 6, 9, 14) ise en yüksek değerlere ulaşılmıştır.

Bu durumun, zeytin yaprağının başlıca fenolik bileşiklerinden olan oleuropeinin ve hidroksitirozolün yarı-polar yapısıyla doğrudan ilişkili olduğu değerlendirilmiştir. Saf su, bu yarı-polar bileşikler için yetersiz çözünürlük sağlarken, saf etanol ise polar fenolik glikozitleri çözme kapasitesini düşürmektedir. Orta düzey etanol konsantrasyonlarının (%40–60 v/v) her iki molekül sınıfını da verimli şekilde çözdüğü; bu nedenle toplam fenolik ve antioksidan kapasite açısından optimum bir çözücü bileşimini temsil ettiği bilinmektedir (Mylonaki et al., 2008). (Ghomari et al., 2019), %80 etanol ile elde ettikleri 28,5 mg GAE/g KM değerini raporlarken, bu çalışmada %40 etanol ile benzer bir toplam

fenolik içerik (27,97 mg GAE/g KM) elde edilmesi, orta düzey etanol konsantrasyonlarının fenolik kazanımı açısından tam yeterince etkili olduğunu desteklemektedir.

B. Sıcaklığın etkisi (Faktör B)

Sıcaklık faktörünün ne doğrusal (B; p = 0,3888) ne de kuadratik (B^2; p = 0,0958) terimde %5 önem seviyesinde önemli bir etkisinin olmadığı saptanmıştır. Bununla birlikte, B^2 teriminin p = 0,0958 ile 0,10 sınırına yakın olması, sıcaklığın zayıf kuadratik bir etki sergilediğine işaret edebilir.

Deney verileri değerlendirildiğinde, sıcaklık etkisinin etanol konsantrasyonu ve süreyle güçlü biçimde etkileşim içinde olduğu görülmektedir. Örneğin, Deney 9 (%40 etanol, 30°C, 180 dk) ile Deney 3 (%40 etanol, 50°C, 120 dk) karşılaştırıldığında, daha düşük sıcaklık ve uzun sürenin (10832 mg Trolox/100 g) daha yüksek sıcaklık ve kısa süreye (7616 mg Trolox/100 g) kıyasla belirgin biçimde üstün sonuç verdiği görülmektedir. Bu bulgu, hidroalkollü çözücülerin düşük sıcaklıklarda (≈30°C) dahi yeterli fenolik verim sağlayabildiğini; dolayısıyla yüksek sıcaklıkların her zaman gerekli olmadığını göstermektedir (Ammar et al., 2020; Mourtzinos et al., 2007).

Sıcaklık artışının bir yandan çözücü viskozitesini düşürüp difüzyonu hızlandırdığı, öte yandan 60 °C ve üzerinde oleuropein ile hidroksitirozol gibi ısıya duyarlı fenoliklerde termal degradasyona yol açabileceği bilinmektedir (Mourtzinos et al., 2007). Bu iki zıt etki, B^2 teriminin anlamlılık eşiğine yakın çıkmasını açıklayabilir. (Markhali et al., 2022), ohmik ısıtma uygulamasında 45–75°C aralığında toplam fenolik madde içeriğinin yaklaşık 30–43 mg GAE/g ekstrakt seviyelerine ulaştığını bildirmiştir. Bu çalışmada 30°C'de elde edilen 113,66 mg TE/g değeri, düşük sıcaklıkta uzun süreli ekstraksiyon stratejisinin fenolik bileşiklerin korunmasında etkili olabileceğini göstermektedir.

C. Sürenin etkisi (Faktör C)

Sürenin doğrusal terimi (C) ait p değeri (0,5146) istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır. Ancak kuadratik terimi (C^2) için hesaplanan p değeri (0,0432) sürenin bu terime göre önemli olduğunu göstermiştir. C^2 katsayısının pozitif işaretli olması (+2441,59), süre–TEAC ilişkisinin aşağı konkav (concave-up) bir eğri izlediğini; başlangıçta görece yavaş seyreden artışın uzun sürelerde ivme kazandığını göstermektedir.

Nitekim deney verileri bu örüntüyü açıkça desteklemektedir: %40 etanol ve 30°C sıcaklıkta 30 dakikalık ekstraksiyon işlemi (Deney 5'te benzer koşullar: 3805 mg Trolox/100 g), aynı koşullarda 180 dakikalık ekstraksiyon işlemine kıyasla (Deney 9: 10832 mg Trolox/100 g; Deney 20: 11366 mg Trolox/100 g) belirgin biçimde düşük TEAC değeri vermiştir. Bu bulgu, zeytin yaprağına uygulanan öğütme işlemine rağmen fenolik bileşiklerin doku dışına difüzyon kontrollü olarak çıkarılabildiğini ve denge koşullarına ulaşmak için daha uzun süreler gerektiğine işaret etmektedir.

Elde edilen sonuçlar, literatürdeki yabani zeytin yaprakları üzerinde gerçekleştirilen kinetik değerlendirme çalışmasıyla uyumludur. Nitekim literatür

bulguları da 1:1 su–etanol karışımlarının antiradikal aktivitede en iyi sonuçlar verdiğini ve dengenin yaklaşık 180 dakikada sağlanabildiğini gösterilmiştir (Lapornik et al., 2005). Tez bulgularına benzer şekilde, ekstraksiyon süresinin uzamasıyla birlikte özellikle etanol ve metanol bazlı ekstraktlarda toplam fenolik bileşik miktarının arttığını bildirmiştir. Bu bulgu, uzun süreli klasik maserasyon uygulamalarının fenolik ekstraksiyon verimi açısından etkili bir yaklaşım olabileceği yorumlanmıştır.

D. Faktörler arası etkileşimler

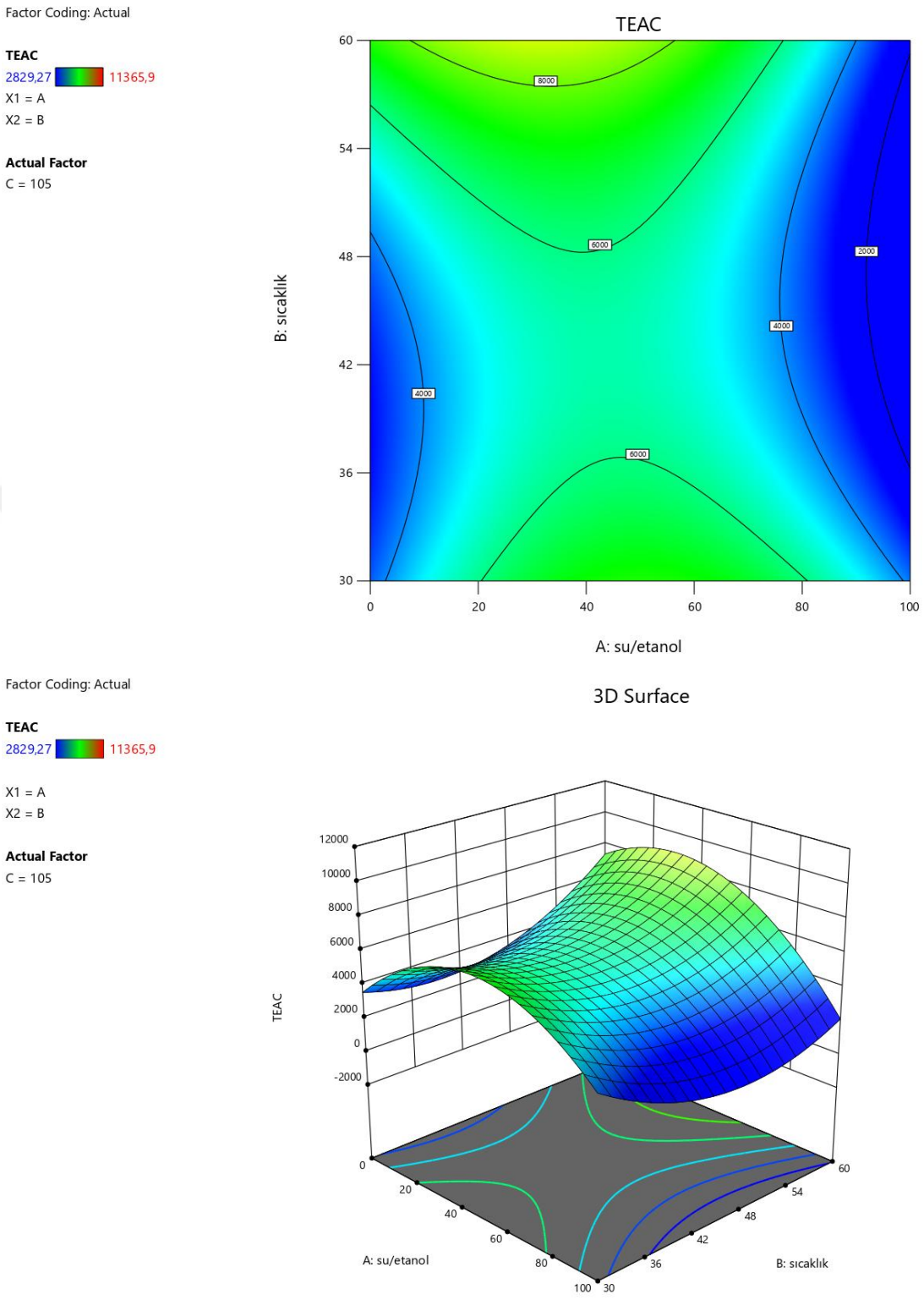
AB ($p = 0,1456$), AC ($p = 0,1235$) ve BC ($p = 0,6657$) etkileşim terimlerinin hiçbiri %5 önem düzeyinde istatistiksel anlama ulaşamamıştır. Bununla birlikte AB ve AC terimlerinin katsayı büyüklükleri (sırasıyla −1361 ve −1689) göz ardı edilemeyecek düzeyde olup, bu etkileşimlerin yanıt yüzeyi grafiklerinde hafif düzensizlikler ve asimetriler biçiminde kendini gösterdiği görülmektedir. Yüksek sıcaklık ile yüksek etanol konsantrasyonunun bir arada (Deney 1: A=100, B=60) en düşük değerlerden birini (3363 mg Trolox/100 g) vermesi, bu iki faktörün birlikte olumsuz bir sinerji oluşturabileceğine işaret etmektedir.

4.2.1.3. Yanıt yüzeyi ve kontur grafiklerinin değerlendirilmesi

Zeytin yaprağı ekstraksiyonu için kurulan RSM modeli kapsamında, üç bağımsız değişkenin (A: su/etanol oranı (%v/v), B: sıcaklık (°C) ve C: süre (dk)) TEAC (Troloks Eşdeğeri Antioksidan Kapasite, µmol TE/g) üzerindeki bireysel ve etkileşimli etkileri 3 boyutlu yanıt yüzeyi ve 2 boyutlu kontur grafikleri üzerinden görselleştirilmiştir. Her bir grafik çifti oluşturulurken üçüncü değişken, model tarafından tahmin edilen optimum düzeyde (A-B grafiği için C = 105 dk; A-C grafiği için B = 45 °C; B-C grafiği için A = %50 etanol) sabit tutulmuştur. Bu görselleştirme yaklaşımı, faktör çiftleri arasındaki etkileşim yapısının ve optimum bölgenin konumunun belirlenmesine önemli katkı sağlamaktadır (Bezerra et al., 2008; D. C. Montgomery, 2017).

Su/Etanol oranı (A) ve sıcaklık (B) etkileşimi

Su/etanol oranı ile sıcaklık arasındaki etkileşimi gösteren A-B grafikleri Şekil 4.1'de sunulmuştur (C = 105 dk sabit).



Şekil 4.1. Zeytin yaprağı ekstraktının TEAC değeri için A (su/etanol oranı) – B (sıcaklık) etkileşimine ait 3 boyutlu yanıt yüzeyi (üst) ve 2 boyutlu kontur grafiği (alt)

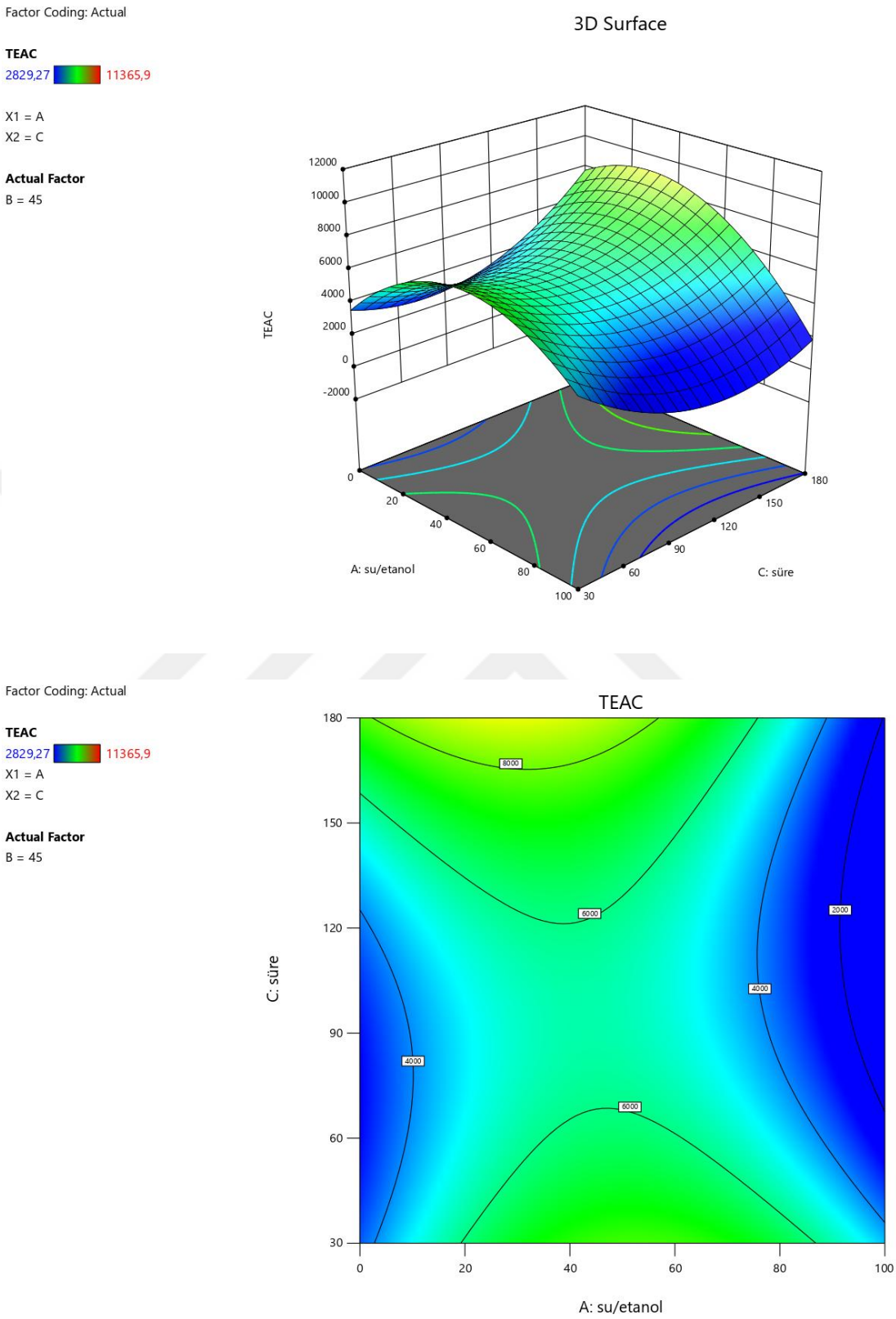
Üç boyutlu yanıt yüzeyi grafiğinde, etanol konsantrasyonu ekseninin uç değerlerinde (saf su ve %100 etanol koşullarında) TEAC değerlerinin belirgin biçimde düşük seyrettiği; orta düzey etanol konsantrasyonlarında (%30–50) ise yanıtın maksimuma yakın bir platoya ulaştığı görülmektedir. Bu yapı, A eksenine ait ikinci dereceden katsayının negatif olduğuna ve bu faktör için eyer noktası benzeri ya da maksimum tipi bir yanıt yüzeyi oluştuğuna işaret etmektedir. Yüzeyin eğrisel formunun B ekseni boyunca daha az belirgin olması ise sıcaklığın TEAC üzerindeki karesel etkisinin su/etanol oranına kıyasla daha sınırlı düzeyde kaldığına işaret etmektedir.

İki boyutlu kontur grafiğinde, yüksek TEAC bölgelerinin (≥8000 µmol TE/g) özellikle etanol konsantrasyonunun düşük (≈%0–20) ve yüksek sıcaklık (≈55–60 °C) kombinasyonunda yoğunlaştığı açıkça izlenmektedir. Buna karşın, orta sıcaklık–orta etanol bölgesinde (4000–6000 µmol TE/g) görece daha düşük yanıt değerleri elde edilmektedir. Bu bulgu, su ve etanolün farklı fenolik bileşik sınıflarına karşı gösterdiği seçici çözme kapasitesiyle açıklanabilmektedir. Suyun yüksek polaritesi nedeniyle bazı polar fenolik bileşiklerin ekstraksiyonunda etkili olduğu, etanolün ise flavonoidler ve bazı fenolik asitler gibi orta polariteli bileşiklerin çözünürlüğünü artırdığı bildirilmektedir. Bununla birlikte, orta konsantrasyondaki etanol-su karışımlarının geniş polarite aralığındaki fenolik bileşiklerin ekstraksiyonu açısından daha etkili olduğu literatürde yaygın olarak rapor edilmektedir (J. E. Lee et al., 2024; Osorio-Tobón, 2020).

Sıcaklık ekseni açısından değerlendirildiğinde, düşük sıcaklık (30 °C) ile yüksek sıcaklık (60 °C) bölgelerinde TEAC değerlerinin birbirine yakın seyrettiği görülmektedir. Bu durum, sıcaklık ile TEAC arasındaki ilişkinin doğrusal olmadığını ve B faktörüne ait karesel terimin model üzerinde belirleyici bir rol oynadığını göstermektedir. Orta sıcaklık değerlerinde (≈42–48 °C) gözlenen düşüş eğilimi, bu aralıkta fenolik bileşiklerin olası termal bozunma süreçlerine karşı daha hassas olabileceğini ya da difüzyon kinetiğinin henüz tam olarak gelişmediğini düşündürmektedir.

Su/Etanol oranı (A) ve süre (C) etkileşimi

Su/etanol oranı ile ekstraksiyon süresi arasındaki etkileşimi gösteren A-C grafikleri Şekil 4.2'de sunulmuştur.



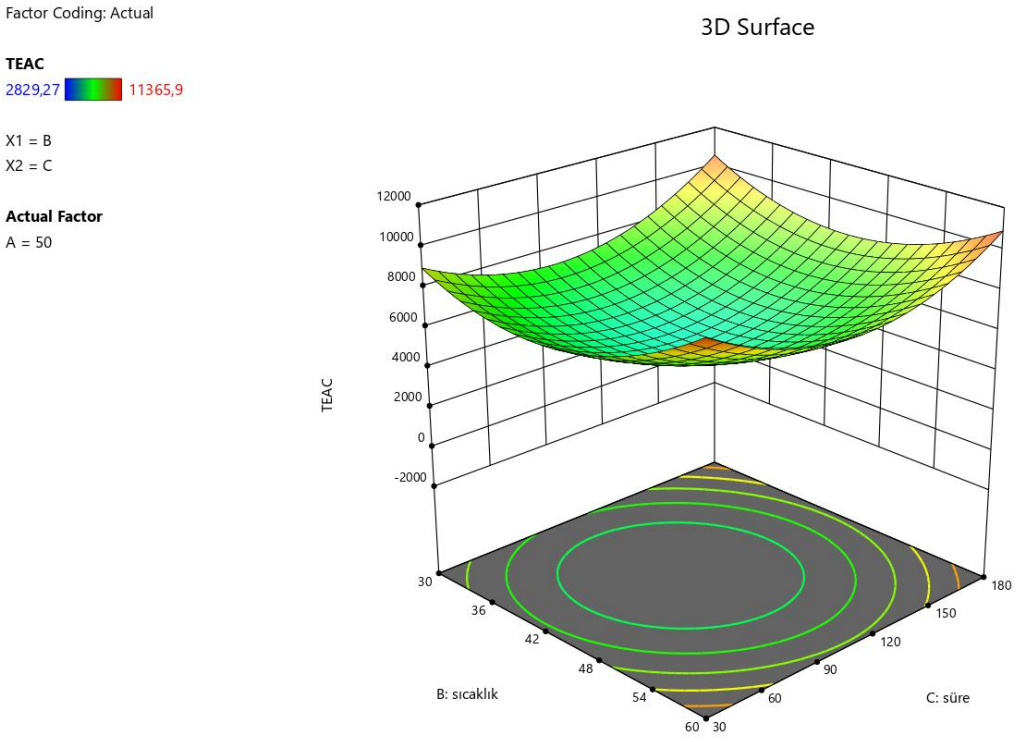
Şekil 4.2. Zeytin yaprağı ekstraktının TEAC değeri için A (su/etanol oranı) – C (süre) etkileşimine ait 3 boyutlu yanıt yüzeyi (üst) ve 2 boyutlu kontur grafiği (alt)

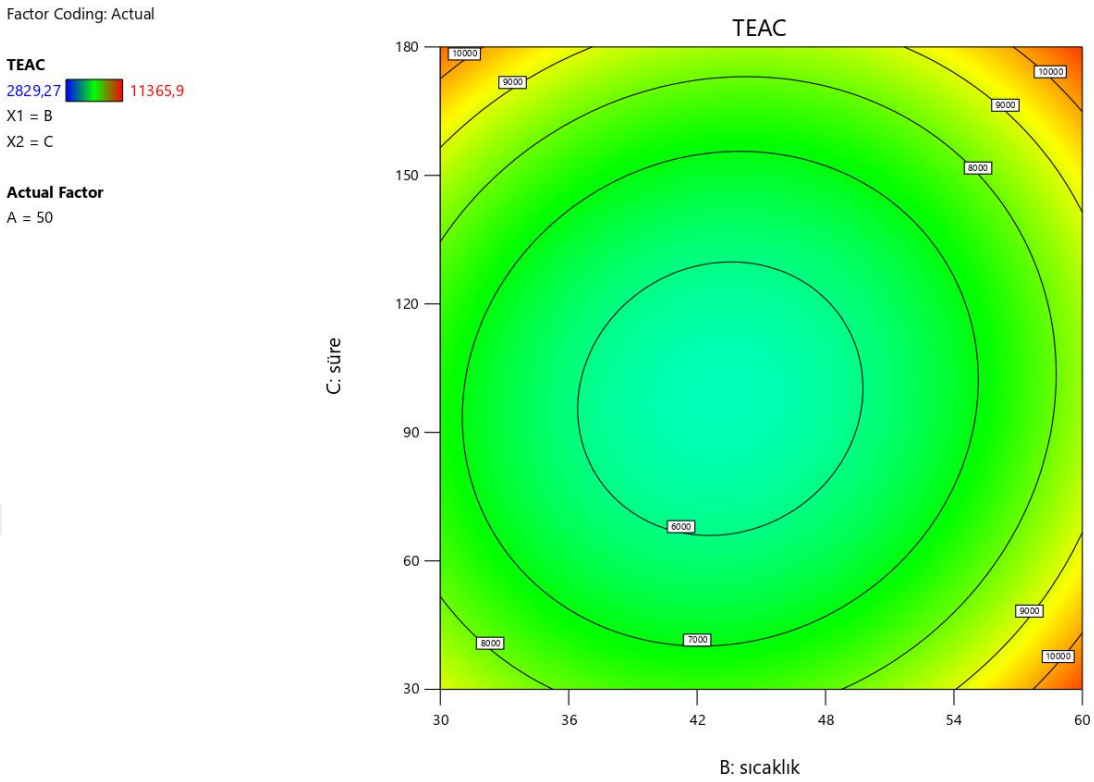
A-C grafiği değerlendirildiğinde, yüzey profilinin A-B grafiğiyle büyük ölçüde benzerlik gösterdiği ve A eksenine bağlı eğrisel yapının bu grafikte de belirgin biçimde korunduğu dikkat çekmektedir. Etanol konsantrasyonu ekseni boyunca gözlemlenen maksimum nokta yapısı, bu faktörün TEAC üzerindeki karesel etkisinin süre faktörüne kıyasla çok daha baskın olduğuna işaret etmektedir. 3 boyutlu yüzeyde, özellikle düşük etanol konsantrasyonu (≈%0–20) ile uzun süre (≈150–180 dk) kombinasyonunda TEAC değerlerinin yüksek platoya ulaştığı görülmektedir. Buna karşın, yüksek etanol konsantrasyonu (≈%80–100) ile uzun süreli kombinasyonun belirgin bir olumsuz etkileşim sergilediği ve TEAC değerlerinin önemli ölçüde düştüğü gözlemlenmektedir.

2 boyutlu kontur grafiğinde bu tablo daha net biçimde ortaya çıkmaktadır. Yüksek yanıt bölgeleri (≥8000 µmol TE/g) düşük etanol konsantrasyonu (≈%0–25) ile uzun süre (≈150–180 dk) kombinasyonunda konumlanmaktadır. Bu bulgu, sulu ortamın uzun süreli ekstraksiyonda oleuropein ve hidroksitirozol gibi polar fenolik bileşiklerin daha verimli şekilde ekstrakte edilmesine olanak tanıdığı hipotezini desteklemektedir (Şahin & Bilgin, 2018; Talhaoui et al., 2015). AC etkileşim katsayısının negatif ve büyük olması (β_{13}), yüksek etanol ve uzun sürenin birlikte uygulandığı koşullarda muhtemelen biyoaktif bileşiklerin parçalanmasını veya oksidasyonunu hızlandıran bir etkileşim mekanizmasının devreye girdiğine işaret etmektedir. Benzer etkileşim örüntüleri, zeytin yaprağı fenolik ekstraksiyon optimizasyonunu inceleyen önceki çalışmalarda da raporlanmıştır (Bilek, 2010).

Sıcaklık (B) ve süre (C) etkileşimi

Sıcaklık ile ekstraksiyon süresi arasındaki etkileşimi gösteren B-C grafikleri Şekil 4.3'te sunulmuştur (A = %50 etanol sabit).





Şekil 4.3. Zeytin yaprağı ekstraktının TEAC değeri için B (sıcaklık) – C (süre) etkileşimine ait 3 boyutlu yanıt yüzeyi (üst) ve 2 boyutlu kontur grafiği (alt)

B-C grafiği, diğer iki grafik çiftinden belirgin biçimde farklı bir yüzey morfolojisi sergilemektedir. Üç boyutlu yüzeyde açık bir kâse (yukarı açık eyer/semer) biçimi gözlemlenmekte; bu yapı, B ve C faktörlerinin karesel etkilerinin her ikisinin de negatif olmadığını ya da bunların kombinasyonunun birbirini dışlayan bir optimum oluşturduğunu ortaya koymaktadır. Özellikle yüzeyinin iki köşesinde (düşük sıcaklık–düşük süre ve yüksek sıcaklık–yüksek süre kombinasyonlarında) TEAC değerlerinin belirgin biçimde yüksek seyrettiği görülmektedir. Yüzeyin merkezinde, yani orta sıcaklık–orta süre bölgesinde ise yanıt değerinin minimum düzeye (≈6000 µmol TE/g) yaklaştığı dikkat çekmektedir.

İki boyutlu kontur grafiği bu yapıyı son derece net biçimde yansıtmaktadır. Kontur eğrileri elips formunda dairesel bir örüntü sergilemekte ve minimum yanıt bölgesi yaklaşık 42 °C sıcaklık ile 105 dk süre kombinasyonunda konumlanmaktadır. Yüksek TEAC bölgeleri (≥9000 µmol TE/g) ise grafik köşelerinde belirginleşmektedir; bu bölgeler düşük sıcaklık (30 °C)–kısa süre (30 dk) ile yüksek sıcaklık (60 °C)–uzun süre (180 dk) kombinasyonlarına karşılık gelmektedir. Bu bulgu, sıcaklık ve sürenin TEAC üzerinde pozitif bir etkileşimsel katkı sağladığını ve BC çapraz etkileşim katsayısının (β_{23}) pozitif olduğunu doğrulamaktadır. Yüksek sıcaklıkta daha uzun süreli ekstraksiyonun fenolik bileşiklerin hücre duvarlarından ve matriksten serbestleşmesini hızlandırdığı düşünülmektedir. Buna karşın, orta sıcaklık–orta süre kombinasyonunda gözlemlenen minimum bölge, difüzyon kinetiği ile termal bozunma hızlarının bu koşullar

altında birbirini dengelemiş olabileceğine işaret etmektedir (Castellano et al., 2012; Osorio-Tobón, 2020).

Bu bulgular genel olarak değerlendirildiğinde, B-C grafiğinin A faktörünün TEAC üzerindeki baskın varlığını ortadan kaldırdığında sıcaklık-süre etkileşiminin bağımsız ve yorumlanabilir bir etki sergilediğini açıkça gösterdiği anlaşılmaktadır. Üç grafik çiftinin birlikte incelenmesi, optimum ekstraksiyon bölgesinin düşük etanol konsantrasyonu, orta-yüksek sıcaklık ve uzun süre kombinasyonuna yakın olduğunu; ancak bu bölgenin kesin konumunun ancak sayısal optimizasyon aracılığıyla tespit edilebileceğini ortaya koymaktadır.

4.2.1.4. Optimum koşulların belirlenmesi ve doğrulanması

Design-Expert yazılımının sayısal optimizasyon (numerical optimization) fonksiyonu, TEAC yanıtını maksimize etmek üzere arzu edilebilirlik (desirability) fonksiyonu kullanılarak çalıştırılmıştır. Her faktör "aralık içinde" kısıtıyla tanımlanırken, yanıt değişkeni TEAC için "maksimize et" hedefi belirlenmiştir.

Yazılım tarafından önerilen optimum ekstraksiyon koşulları şu biçimde belirlenmiştir: A = %40 etanol (v/v), B = 36 °C, C = 176 dk. Bu koşullar altında model tarafından tahmin edilen TEAC değeri 11463,43 mg Trolox/100 g KM'dir.

Modelin optimum koşullardaki tahmin değeriyle deneysel değer arasındaki uyum, kıyaslamalı hata yüzdesi (RE%) hesaplanarak değerlendirilmiştir. Belirlenen optimum koşullarda üç bağımsız deney tekrarlı (n = 3) gerçekleştirilmiş; elde edilen ortalama TEAC değeri 11378,15 mg Trolox/100 g KM olarak ölçülmüştür. Tahmin değeri (11463,43 mg/100 g KM) ile deneysel değer (11378,15 mg/100 g KM) arasındaki fark RE% = 0,74 olarak hesaplanmış olup bu değer %5 sınırının çok altında kalmaktadır. Çizelge 4.5'de sunulan sonuçlar, deneysel ve tahmin değerleri arasındaki yüksek uyumu ve dolayısıyla modelin güvenilirliğini ortaya koymaktadır.

Çizelge 4.5. Zeytin yaprağı ekstraksiyon optimizasyonu için model doğrulama sonuçları

A Opt. (%v/v)	B Opt. (°C)	C Opt. (dk)	Tahmin Değeri (mg Trolox/100 g KM)	Deneysel Değer (mg Trolox/100 g KM)	RE%
40	36	176	11.463,43	11.378,15 ± 0,014	0,74

RE%: göreceli hata yüzdesi = |tahmin − deneysel| / tahmin × 100.

Optimum koşullar (A = %40 etanol, B = 36 °C, C = 176 dk), hem düşük sıcaklıkta bozulmayı en aza indiren hem de uzun süre boyunca difüzyonla fenolik madde verimini maksimize eden bir stratejiyi temsil etmektedir. Elde edilen RE% = 0,74 değeri, modelin gerçek ekstraksiyon koşullarını son derece yüksek doğrulukla tahmin edebildiğini ortaya koymakta; geliştirilen RSM modelinin zeytin yaprağı fenolik ekstraksiyonu için güvenilir bir optimizasyon aracı olarak kullanılabileceğini kanıtlamaktadır. Bu sonuç, yüksek sıcaklık ve kısa süreye dayanan geleneksel protokollere karşı enerji açısından sürdürülebilir bir alternatif sunmakta; etanolün güvenli ve gıda sınıfı bir çözücü olması nedeniyle pratikte uygulanabilirliği desteklenmektedir.

4.2.1.5. Zeytin yaprağı ekstraktının fenolik profili

Optimum ekstraksiyon koşullarında (A = %40 etanol, B = 36°C, C = 176 dk) elde edilen zeytin yaprağı ekstraktının fenolik bileşik profili, 3.5.3.4 bölümünde tanımlanan HPLC-DAD yöntemi esas alınarak belirlenmiştir. Bu amaçla 25 farklı fenolik bileşik standardı enjekte edilmiş; piklerin tanımlaması alıkonma sürelerinin ve absorpsiyon spektrumlarının standartlarla karşılaştırılmasıyla gerçekleştirilmiştir. Zeytin yaprağı ekstraktında taranan standart listesi ve saptanan bileşikler Çizelge 4.6'da özetlenmiştir.

Çizelge 4.6. HPLC-DAD analizinde taranan fenolik bileşik standartları ve zeytin yaprağı ekstraktında saptananlar

Standart bileşikler	Tutunma süresi (dk)	λ maks (nm)
Hidroksitirozol	7,89	280
Verbaskozit	14,79	320
Oleuropein	16,86	254
Rutin	17,45	254
p-Kumarik asit	14,61	280

λ maks: maksimum absorpsiyon dalga boyu.

Zeytin yaprağı ekstraktında beş fenolik madde saptanmış ve miktarsal olarak analiz edilmiştir. Tespit edilen bileşikler hidroksitirozol, oleuropein, rutin, verbaskozit ve p-kumarik asit olmuştur. Bu bileşiklerin konsantrasyonları ve fenolik sınıfları Çizelge 4.7'de detaylı olarak sunulmaktadır.

Analiz sonuçlarına göre zeytin yaprağındaki en baskın fenolik bileşik, 22009 ± 2291 mg/kg (≈22 g/kg) konsantrasyonuyla oleuropein olmuştur. Oleuropein, toplam kantifiye edilen fenolik miktarın yaklaşık %92,2'sini oluşturmakta; diğer dört bileşiğin toplamı (1866 mg/kg) ise oleuropein miktarının yalnızca onda biri düzeyinde kalmaktadır. Bu hiyerarşik dağılım, zeytin yaprağı fenolik profilinin geniş ölçüde oleuropeine dayandığını gösteren literatür bulgularıyla tam uyum içindedir (Benavente-García et al., 2000a; Ghomari et al., 2019).

Çizelge 4.7. Optimum koşullarda elde edilen zeytin yaprağı ekstraktının fenolik bileşik içeriği

Fenolik Bileşik	Konsantrasyon (mg/kg)	Bileşik Sınıfı ve Önemi
Hidroksitirozol	563 ± 6	Sekoiridoid türevi; güçlü antioksidan; oleuropeinin hidroliz ürünü
Oleuropein	22009 ± 2291	Baskın fenolik; toplam fenoliğin >%91'i; sekoiridoid glikozit
Rutin	805 ± 86	Flavonol glikozit; antiinflamatuar ve antioksidan aktivite
Verbaskozit	459 ± 59	Fenil propanoid glikozit; fitofag savunma bileşiği
p-Kumarik asit	39 ± 6	Hidroksisinnamik asit türevi; minör bileşen

Değerler ortalama ± standart sapma olarak mg/kg örnek cinsinden hesaplanmıştır (n = 3). Sıralama konsantrasyona göre düzenlenmiştir. Toplam kantifiye edilen fenolik miktar 23.875 mg/kg'dır.

Oleuropeini miktarsal olarak sırasıyla rutin (805 ± 86 mg/kg), hidroksitirozol (563 ± 6 mg/kg), verbaskozit (459 ± 59 mg/kg) ve p-kumarik asit (39 ± 6 mg/kg) izlemiştir. Hidroksitirozolün varlığı dikkat çekicidir; zira bu bileşik oleuropeinin enzimatik ve asit

hidrolizi sırasında açığa çıkan bir alt ürün olup antioksidan kapasiteye doğrudan katkı sağlamıştır. Bu çalışmada elde edilen hidroksitirozol konsantrasyonunun (563 mg/kg), Ghomari vd. (2019) tarafından %80 etanol kullanılan ekstraksiyon koşulları için bildirilen değerden daha yüksek olması, orta polaritedeki (%40 etanol) çözücü koşulunun hidroksitirozol kazanımı açısından da avantajlı olduğuna işaret etmektedir (Ghomari et al., 2019).

Elde edilen 22 g/kg oleuropein değeri, %40 etanol ile gerçekleştirilen ekstraksiyonun oleuropein gibi glikozit yapısındaki fenolik bileşiklerin ekstraksiyonu açısından etkili olduğunu göstermektedir. Yine benzer şekilde Ghomari vd. (2019) %80 etanol kullanılan ekstraksiyon koşullarında 29,5 ± 0,10 g/kg oleuropein bildirirken, bu çalışmada %40 etanol koşulunda 22,0 g/kg oleuropein elde edilmiştir (Ghomari et al., 2019). Yaklaşık %25 düzeyindeki bu fark, çözücü bileşiminin oleuropein ekstraksiyon verimi üzerinde önemli etkisi olduğunu düşündürmektedir. Bununla birlikte, toplam fenolik madde ve antioksidan kapasite sonuçları birlikte değerlendirildiğinde, %40 etanol koşulunun rekabetçi düzeyde antioksidan özellikleri yüksek olan fenolik bileşenlerin ekstraksiyon performansı sağladığı görülmektedir. Bu durum, çözücü bileşiminin yalnızca oleuropein değil, diğer fenolik bileşiklerin ekstraksiyonu üzerinde de belirleyici rol oynayabileceğini göstermektedir.

Rutin (flavonol glikozit, 805 mg/kg) ve verbaskozit (fenil propanoid glikozit, 459 mg/kg), zeytin yaprağı ekstraksiyonunda çeşit ve ekstraksiyon koşullarına bağlı olarak değişken miktarlarda bildirilen bileşikler arasında yer almaktadır. Nitekim Pereira vd. sulu zeytin yaprağı ekstraktında verbaskozit ve rutini tanımlayarak kantifiye etmiştir (A. P. Pereira et al., 2007b). Tunuslu ve Cezayirli zeytin çeşitlerini karşılaştıran çalışmada ise verbaskozit, hidroksitirozol ve oleuropeinin başlıca bileşikler olduğu, bunu p-kumarik asit ve rutinin izlediği bildirilmiştir (Khelouf et al., 2023). Bu çalışmada her iki bileşiğin de kantifiye edilmesi, I-Optimal RSM ile belirlenen optimum ekstraksiyon koşullarının (%40 etanol, 36°C, 176 dk) minör fenolik bileşiklerin geri kazanımı açısından da elverişli olduğuna işaret etmektedir.

Toplam fenolik madde (TFM) tayininde (Folin–Ciocalteu yöntemi) elde edilen 27,97 mg GAE/g KM değeri, HPLC-DAD ile belirlenen fenolik profiliyle uyum içindedir. Bu değer Japón-Luján ve Luque de Castro (2006)'nun bildirdiği 17–25 mg GAE/g KM aralığının üst sınırını aşmakta; Ghomari vd. (2019)'nin 28,5 mg GAE/g KM değerine ise oldukça yakın seyretmektedir (Ghomari et al., 2019; Japón-Luján & Luque de Castro, 2006). TFM değerinin HPLC ile belirlenen toplam fenolik miktarından yüksek çıkması beklenen bir durum olup Folin–Ciocalteu yönteminin nonfenolik indirgen bileşiklere karşı da duyarlılık göstermesinden kaynaklanmaktadır (Singleton & Rossi, 1965).

Sonuç olarak, optimum koşullarda (A = %40 etanol, B = 36 °C, C = 176 dk) üretilen zeytin yaprağı ekstraktı hem yüksek antioksidan kapasite (TEAC = 11365,86 mg Trolox/100 g) hem de zengin fenolik profil (%91'i oleuropein) açısından literatürle uyumlu sonuçlar ortaya koymuş; enerji ve çözücü açısından sürdürülebilir bir ekstraksiyon yaklaşımının fonksiyonel bileşik kazanımında yüksek sıcaklıklı alternatiflere kıyasla rekabetçi kalabildiğini doğrulamıştır.

4.2.2. Üzüm posası ekstraksiyon optimizasyonu

Üzüm posasından (*Vitis vinifera L.*) katı-sıvı ekstraksiyonu ile antosiyanin bileşiklerinin optimum koşullarda kazanımı, Yanıt Yüzey Yöntemi (RSM) ve I-Optimal tasarım yaklaşımı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Bağımsız değişkenler olarak asitlendirilmiş etanol konsantrasyonu (A, %0–100 v/v, %0,1 HCl), ekstraksiyon sıcaklığı (B, 30–60 °C) ve ekstraksiyon süresi (C, 30–180 dk); yanıt değişkeni olarak ise pH-diferansiyel yöntemi ile belirlenen toplam monomerik antosiyanin miktarı (TMA, mg malvidin-3-glikozit eşdeğeri/100 g KM) seçilmiştir. Deneysel tasarım kapsamında gerçekleştirilen 20 deneye ait TMA sonuçları geniş bir aralıkta değişmiştir; bu durum seçilen parametre uzayının antosiyanin ekstraksiyonu üzerinde belirleyici bir etkiye sahip olduğunu açıkça ortaya koymuştur.

4.2.2.1. Model uyum iyiliği ve istatistiksel değerlendirme

Design-Expert yazılımı aracılığıyla elde edilen deney verileri yüksek dereceli polinom modele uyarlanmış ve modelin istatistiksel geçerliliği varyans analizi (ANOVA) ile değerlendirilmiştir. ANOVA sonuçları Çizelge 4.8'de, model katsayılarına ilişkin tahminler ise Çizelge 4.9'da sunulmaktadır.

Çizelge 4.8. Üzüm posası TMA yanıtı için modelin ANOVA sonuçları

Kaynak	Kareler Toplamı	sd	Kareler Ort.	F Değeri	p Değeri	Önem
Model	**669212,50**	**13**	**51477,88**	**478,53**	**<0,0001**	***
A – Etanol	13364,54	1	13364,54	124,23	<0,0001	*
B – Sıcaklık	1087,20	1	1087,20	10,11	0,0191	*
C – Süre	2800,97	1	2800,97	26,04	0,0022	*
AB	1024,44	1	1024,44	9,52	0,0215	*
AC	1209,71	1	1209,71	11,25	0,0154	*
BC	1411,71	1	1411,71	13,12	0,0111	*
A²	1763,76	1	1763,76	16,40	0,0067	*
B²	1450,31	1	1450,31	13,48	0,0104	*
C²	22,17	1	22,17	0,206	0,6658	ÖD
B²C	2064,90	1	2064,90	19,19	0,0047	*
BC²	3679,70	1	3679,70	34,21	0,0011	*
A³	2972,81	1	2972,81	27,63	0,0019	*
B³	602,15	1	602,15	5,60	0,0558	ÖD
Artık	645,46	6	107,58	—	—	
Yetersiz uyum	3,19	1	3,19	0,025	0,8809	ÖD
Saf hata	642,26	5	128,45	—	—	
Toplam	**669857,95**	**19**	**—**	**—**	**—**	

sd: serbestlik derecesi; KO: kareler ortalaması. (*) p < 0,05; (***) p < 0,0001; ÖD: önemli değil (p > 0,05). Model F değeri = 478,53; p < 0,0001. Yetersiz uyum F değeri = 0,025; p = 0,8809 (anlamsız, istenen durum).

Model F değerinin 478,53 ve karşılık gelen olasılık değerinin p < 0,0001 olması, geliştirilen modelin istatistiksel olarak son derece yüksek anlamlılığa sahip olduğunu ortaya koymaktadır. Bu F değerine karşılık gelen p değerinin 0,0001'in altında kalması, gerçek bir etki bulunmasaydı bu düzeyde bir model uyumunun rastlantısal olarak ortaya çıkma olasılığının ihmal edilebilir düzeyde olduğunu; dolayısıyla üzüm posası TMA ekstraksiyonu için kurulan polinom modelin gerçek bağımsız değişken etkilerini güvenilir biçimde temsil ettiğini doğrulamaktadır (Design-Expert, 2023). Buna karşın

modelin açıklayıcı gücü değerlendirildiğinde $R^2 = 0,9990$ olarak hesaplanmıştır; bu değer toplam varyansın %99,9'unun model tarafından açıklandığını göstermektedir.

Düzeltilmiş R^2 (R^2adj) değerinin 0,9969 düzeyinde kalması, modele dahil edilen tüm terimlerin yanıt değişkeni üzerinde anlamlı katkılar sağladığını ve gereksiz terim içermediğini ortaya koymaktadır. Tahmin edilen R^2 (R^2pred = 0,9871) değeri ile R^2 arasındaki fark 0,012 olup bu değer 0,20 eşiğinin çok altında kalmakta; modelin yeni gözlemler için de güvenilir tahminler üretebileceğini kanıtlamaktadır (Myers et al., 2009). Zeytin yaprağı modeliyle karşılaştırıldığında ($R^2 = 0,769$) üzüm posası modelinin çok daha güçlü açıklayıcılık sergilemesi dikkat çekicidir. Bu farkın başlıca nedeni, üzüm posasındaki antosiyanin bileşiklerinin etanol konsantrasyonuna karşı belirgin ve tutarlı bir yanıt örüntüsü sergilemesi; buna karşın zeytin yaprağı fenoliklerinin biyolojik heterojeniteden kaynaklanan daha yüksek değişkenlik göstermesidir (Lıyanapathırana & Shahıdı, 2005).

Çizelge 4.9. Üzüm posası TMA yanıtı için model katsayıları ve istatistiksel önemi

Terim	Katsayı (β)	Standart Hata	%95 GA Alt	%95 GA Üst	VIF	Yorum
Sabit (β_0)	365,46	8,79	343,94	386,98	—	İstatistiksel anlam ifade etmez
A (β_1)	+423,56	38,00	330,58	516,55	—	p<0,0001; anlamlı (*); etanol konsantrasyonunun doğrusal etkisi
B (β_2)	+97,56	30,69	22,47	172,65	—	p=0,0191; anlamlı (*); sıcaklığın doğrusal etkisi
C (β_3)	+173,00	33,90	90,04	255,96	—	p=0,0022; anlamlı (*); sürenin doğrusal etkisi
AB (β_{12})	−87,28	28,28	−156,49	−18,07	—	p=0,0215; anlamlı (*); etanol×sıcaklık etkileşimi
AC (β_{13})	+58,26	17,37	15,75	100,77	—	p=0,0154; anlamlı (*); etanol×süre etkileşimi
BC (β_{23})	+102,53	28,30	33,28	171,79	—	p=0,0111; anlamlı (*); sıcaklık×süre etkileşimi
A^2 (β_{11})	−46,62	11,51	−74,79	−18,45	—	p=0,0067; anlamlı (*); etanol konsantrasyonunun kuadratik etkisi
B^2 (β_{22})	+44,63	12,16	14,89	74,38	—	p=0,0104; anlamlı (*); sıcaklığın kuadratik etkisi
C^2 (β_{33})	+6,60	14,53	−28,96	42,15	—	p=0,6658; anlamlı değil (ÖD)
B^2C	−203,47	46,44	−317,11	−89,83	—	p=0,0047; anlamlı (*); yüksek dereceli B×C etkileşimi
BC^2	−309,87	52,98	−439,52	−180,23	—	p=0,0011; anlamlı (*); yüksek dereceli B×C etkileşimi
A^3	−228,71	43,51	−335,17	−122,25	—	p=0,0019; anlamlı (*); etanolün kübik etkisi
B^3	+130,27	55,06	−4,46	264,99	—	p=0,0558; anlamlı değil (ÖD)

GA: güven aralığı; VIF: varyans artış faktörü. (*) $p < 0,05$; ÖD: önemli değil ($p > 0,05$). Tüm katsayılar kodlanmış değerler bazında verilmiştir.

Kodlanmış değerler cinsinden tam model denklemi (4.2) aşağıdaki gibi ifade edilmektedir:

$$TMA = 365{,}46 + 423{,}56A + 97{,}56B + 173{,}00C - 87{,}28AB + 58{,}26AC + 102{,}53BC - 46{,}62A^2 + 44{,}63B^2 + 6{,}60C^2 - 203{,}47B^2C - 309{,}87BC^2 - 228{,}71A^3 + 130{,}27B^3 \quad (4.2)$$

A: kodlanmış etanol konsantrasyonu; B: kodlanmış sıcaklık; C: kodlanmış süre. Birim: mg malvidin-3-glikozit eşdeğeri/100 g KM.

Modelin genel uyum iyiliğine ilişkin istatistiksel göstergeler Çizelge 4.10'da özetlenmiştir. Model uyumsuzluğu (lack of fit) testinin sonucu bu çalışmada F = 0,025 ve p = 0,8809 olarak belirlenmiştir. Yetersiz uyumun anlamsız çıkması (p > 0,05), modelin saf deneysel hataya kıyasla sistematik bir yetersizlik taşımadığını ve gözlemlenen varyansın büyük bölümünün deneysel tekrarlanabilirlik sınırları içinde kaldığını göstermektedir. Bu bulgu, geliştirilen modelin parametre uzayını yeterli hassasiyetle temsil edebildiğini doğrulamaktadır.

Çizelge 4.10. Model uyumluluğu özeti

İstatistik	Değer	Kabul Kriteri	Yorum
Model F değeri	478,53	—	Modelin istatistiksel olarak anlamlı olduğunu gösterir (p<0,0001)
p (Model)	<0,0001	< 0,05	Model anlamlı (α=0,05 düzeyinde)
R^2	0,9990	≥ 0,90 tercih	Toplam varyansın %99,9'u model tarafından açıklanmaktadır
R^2adj	0,9969	≥ 0,85 tercih	Serbestlik derecesi düzeltmesi sonrası model gücü çok yüksektir
R^2pred	0,9871	|R^2−R^2pred|<0,20	Fark = 0,012 < 0,20 → model yeni gözlemler için güvenilir tahmin üretmektedir
Adeq. Precision	68,95	> 4	Sinyal/gürültü oranı çok yüksek; model tasarım uzayında kullanılabilir
Std. Dev.	10,37	—	Deneysel tekrarlanabilirlik yüksektir
CV (%)	2,90	< %10	Yüksek deneysel hassasiyet
Lack of Fit F	0,025	p > 0,05 (ÖD)	p=0,8809 → yetersiz uyum anlamsız; model sistematik hata taşımıyor

R^2: determinasyon katsayısı; R^2adj: düzeltilmiş R^2; R^2pred: tahmin edilen R^2; CV: değişim katsayısı; ÖD: p > 0,05, anlamsız.

4.2.2.2. Bağımsız değişkenlerin TMA içeriğine etkileri

Farklı ekstraksiyon koşullarında elde edilen deneysel TMA değerleri Çizelge 4.11'de sunulmaktadır. Optimizasyon denemeleri boyunca TMA değerleri 113,55 ile 713,04 mg malvidin-3-glikozit eşdeğeri/100 g KM arasında geniş bir aralıkta değişmiş; bu yaklaşık 6,28 katlık fark, ele alınan ekstraksiyon parametrelerinin üzüm posası antosiyanin ekstraksiyonu üzerinde son derece belirleyici bir etkiye sahip olduğunu açıkça ortaya koymaktadır.

Çizelge 4.11. I-Optimal tasarım kapsamında farklı ekstraksiyon koşullarında elde edilen üzüm posası TMA değerleri

Deney No	A: Etanol (%v/v)	B: Sıcaklık (°C)	C: Süre (dk)	TMA (mg malvidin-3-glikozit eş./100 g KM)
1	60	30	180	475,91
2	80	60	60	599,48
3	40	50	120	372,40
4	0	60	180	193,70
5	40	50	120	356,58
6	60	30	90	317,31
7	0	50	90	166,98
8	80	40	30	494,28
9	80	40	30	500,74
10	100	60	120	713,04
11	100	50	180	672,86
12	40	50	120	368,25
13	0	40	30	113,55
14	40	50	120	340,42
15	100	30	120	415,41
16	0	60	30	166,98
17	0	40	150	135,26
18	0	40	150	138,69
19	20	30	60	123,49
20	60	60	180	482,52

En yüksek TMA değeri Deney 10: 713,04 mg/100 g; En düşük TMA değeri Deney 13: 113,55 mg/100 g; Tekrarlı merkez noktaları Deney 3, 5, 12, 14. Değerler ortalama olarak verilmiştir.

A. Etanol konsantrasyonunun etkisi (Faktör A)

ANOVA sonuçlarına göre etanol konsantrasyonunun hem doğrusal terimi (A; $F = 124,23$; $p < 0,0001$) hem de kuadratik terimi (A^2; $p = 0,0067$) istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Bu bulgu, etanol konsantrasyonu ile TMA arasındaki ilişkinin hem doğrusal hem de eğrisel bir bileşen içerdiğine işaret etmektedir. Bu durum, zeytin yaprağı çalışmasından belirgin biçimde farklıdır; zeytin yaprağında yalnızca A^2 terimi anlamlı çıkmış ve orta düzey etanol konsantrasyonları optimum verimi sağlamıştır.

Deney verileri incelendiğinde, saf su kullanılan koşullarda (Deney 4, 7, 13, 16, 17, 18; A = 0) TMA değerlerinin 113,55–193,70 mg/100 g gibi düşük konsantrasyonda kaldığı görülmektedir. Etanol konsantrasyonunun artmasıyla TMA değerleri belirgin biçimde yükselmiş; %100 etanol içeren koşullarda (Deney 10, 11, 15) en yüksek değerlere ulaşılmıştır (415–713 mg/100 g). Bu örüntü, üzüm posasındaki antosiyaninlerin etanol gibi yarı-polar organik çözücülerde daha iyi çözündüğünü ve yüksek etanol konsantrasyonlarının hücre duvarı matriksini daha etkin biçimde parçalayarak antosiyaninlerin serbest kalmasını desteklediğini göstermektedir (Casazza et al., 2012; Rockenbach et al., 2011). A^2 katsayısının negatif değeri ($\beta_{11} = -46,62$) ve A^3 teriminin de anlamlı olması ise çok yüksek etanol konsantrasyonlarında artışın yavaşladığını ve belirli

bir eşiğin ötesinde etanolün aşırı konsantrasyonunun antosiyanin stabilitesini olumsuz etkileyebileceğine işaret etmektedir.

B. Sıcaklığın etkisi (Faktör B)

Sıcaklık faktörünün hem doğrusal (B; F = 10,11; p = 0,0191) hem de kuadratik (B^2; F = 13,48; p = 0,0104) terimi %5 önem düzeyinde istatistiksel anlamlılığa ulaşmıştır. Bu bulgu, sıcaklığın TMA üzerinde hem doğrusal hem de eğrisel bir etki sergilediğini ortaya koymaktadır. Zeytin yaprağı çalışmasıyla karşılaştırıldığında, sıcaklığın üzüm posası antosiyanin ekstraksiyonunda çok daha belirgin ve anlamlı bir rol üstlendiği dikkat çekmektedir; zeytin yaprağında sıcaklık faktörünün doğrusal ve kuadratik terimleri anlamlılık eşiğine ulaşamamıştı.

Deney verileri değerlendirildiğinde, yüksek etanol ve yüksek sıcaklık kombinasyonunda (Deney 10: A = 100, B = 60, C = 120) en yüksek TMA değerinin (713,04 mg/100 g) elde edildiği görülmektedir. Sıcaklık artışının çözücü penetrasyonunu ve difüzyon kinetiğini hızlandırdığı bilinmektedir; ancak aşırı yüksek sıcaklık-uzun süre kombinasyonlarında BC^2 ve B^2C gibi olumsuz etkileşim terimlerinin devreye girerek antosiyanin degradasyonunu hızlandırdığı görülmektedir (Castañeda-Ovando et al., 2009).

C. Sürenin etkisi (Faktör C)

Sürenin doğrusal terimi (C; F = 26,04; p = 0,0022) istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Buna karşın kuadratik terimi (C^2; p = 0,6658) anlamlılık eşiğine ulaşamamıştır. Bu durum, zeytin yaprağı çalışmasından farklı bir örüntü ortaya koymaktadır; zeytin yaprağında C^2 anlamlı çıkmış ve sürenin kuadratik etkisi belirleyici olmuştu. Üzüm posasında sürenin TMA üzerindeki etkisinin temel olarak doğrusal karakterde olması, antosiyanin bileşiklerinin görece kısa sürelerde de belirli bir ekstraksiyon dengesi kurabildiğine işaret etmektedir. Bununla birlikte BC^2 ve B^2C etkileşim terimlerinin anlamlı olması, uzun süre ile yüksek sıcaklık bir arada uygulandığında degradasyonun ön plana geçtiğini ve bu sinerjinin TMA üzerinde olumsuz etki yarattığını göstermektedir (Patras et al., 2010; Xu et al., 2014).

D. Faktörler arası etkileşimler

AB (p = 0,0215), AC (p = 0,0154) ve BC (p = 0,0111) etkileşim terimlerinin tamamı %5 önem düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Bu sonuç, zeytin yaprağı çalışmasından belirgin biçimde farklıdır; zeytin yaprağında hiçbir ikili etkileşim terimi anlamlı çıkmazken, üzüm posasında tüm ikili etkileşimler anlamlıdır. AB katsayısının negatif değeri ($\beta_{12} = -87,28$), yüksek etanol ile yüksek sıcaklık birlikte uygulandığında antosiyanin stabilitesinin kısmen bozulduğuyla açıklanabilir. AC katsayısının pozitif değeri ($\beta_{13} = +58,26$) ise yüksek etanol ile uzun sürenin birlikte uygulandığı koşullarda TMA değerlerinin daha da artacağını göstermektedir.

Yüksek dereceli etkileşim terimlerinden BC^2 ($\beta = -309,87$; p = 0,0011) modelin en güçlü olumsuz etkileşim terimi konumundadır. Bu bulgu, sabit etanol koşulunda sıcaklık ile sürenin birlikte artırılmasının belirli bir eşikten sonra TMA değerlerini belirgin biçimde düşürdüğünü; termal degradasyon mekanizmalarının bu aşamada baskın

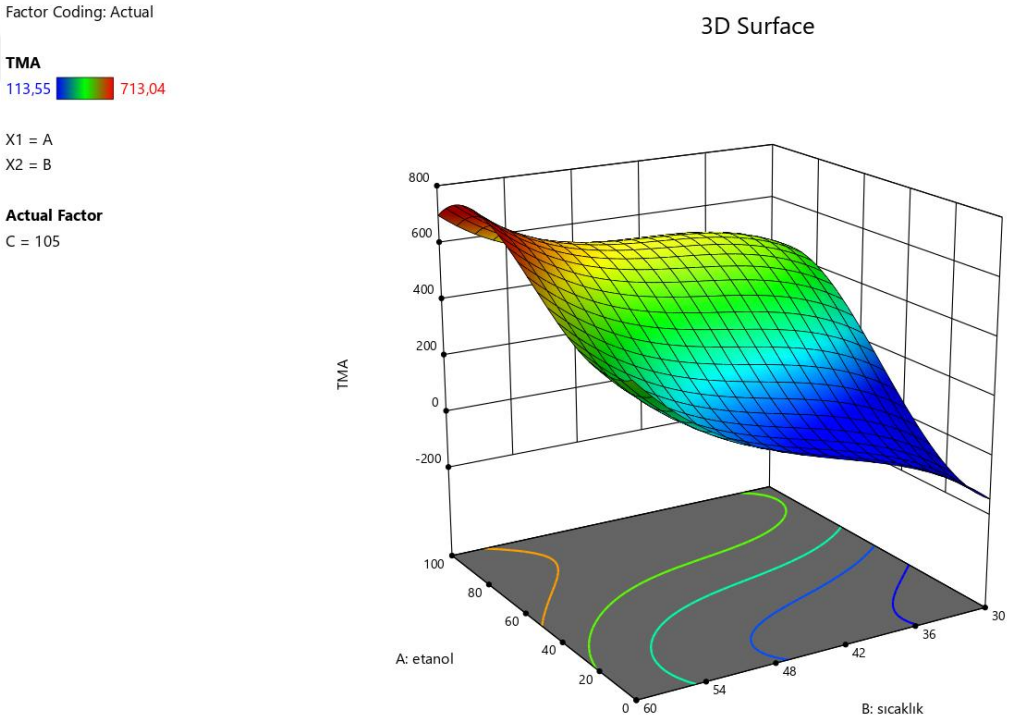
hale geldiğini ortaya koymaktadır. Benzer dinamikler, antosiyanin içerikli meyve ekstraktlarında yüksek sıcaklık-uzun süre kombinasyonlarının pigment kaybına yol açtığını bildiren çalışmalarla uyum içindedir (Castañeda-Ovando et al., 2009; Torskangerpoll & Andersen, 2005). A^3 katsayısının da negatif olması ($\beta = -228{,}71$; $p = 0{,}0019$) çok yüksek etanol konsantrasyonlarının TMA'yı olumsuz etkilediğini ve optimumun aşılması durumunda ekstraksiyon veriminin düştüğünü ortaya koymaktadır.

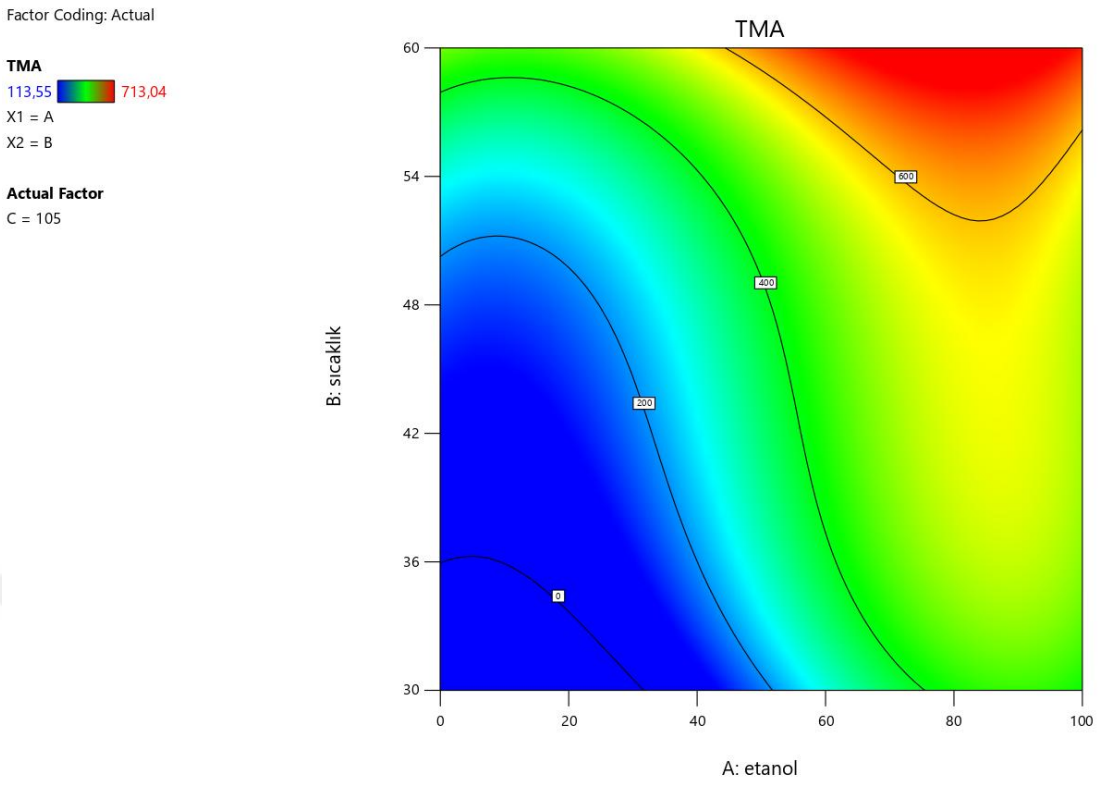
4.2.2.3. Yanıt yüzeyi ve kontur grafiklerinin değerlendirilmesi

Üzüm posası TMA ekstraksiyonu için kurulan RSM modeli kapsamında, üç bağımsız değişkenin — A: etanol konsantrasyonu (%v/v), B: sıcaklık (°C) ve C: süre (dk) — TMA (mg malvidin-3-glikozit eşdeğeri/100 g KM) üzerindeki bireysel ve etkileşimli etkileri 3 boyutlu yanıt yüzeyi ve 2 boyutlu kontur grafikleri aracılığıyla görselleştirilmiştir. Her bir grafik çifti oluşturulurken üçüncü değişken, model tarafından tahmin edilen düzeyde (A-B grafiği için C = 105 dk; A-C grafiği için B = 42 °C; B-C grafiği için A = %50 etanol) sabit tutulmuştur. Bu görselleştirme yaklaşımı, faktör çiftleri arasındaki etkileşim yapısının ve optimum bölgenin konumunun belirlenmesine önemli katkı sağlamaktadır (Bezerra et al., 2008; D. C. Montgomery, 2017).

Etanol konsantrasyonu (A) ve sıcaklık (B) etkileşimi

Etanol konsantrasyonu ile sıcaklık arasındaki etkileşimi gösteren A-B grafikleri Şekil 4.4'te sunulmuştur (C = 105 dk sabit).





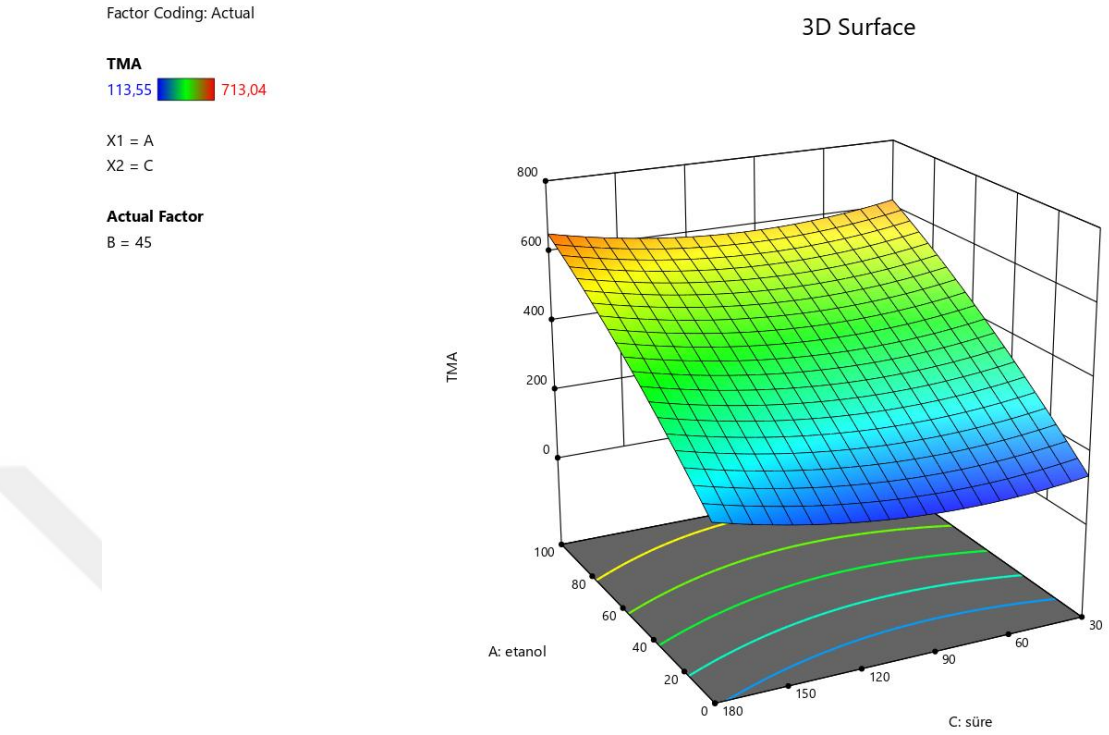
Şekil 4.4. Üzüm posası TMA değeri için A (etanol konsantrasyonu) – B (sıcaklık) etkileşimine ait 3 boyutlu yanıt yüzeyi (üst) ve 2 boyutlu kontur grafiği (alt)

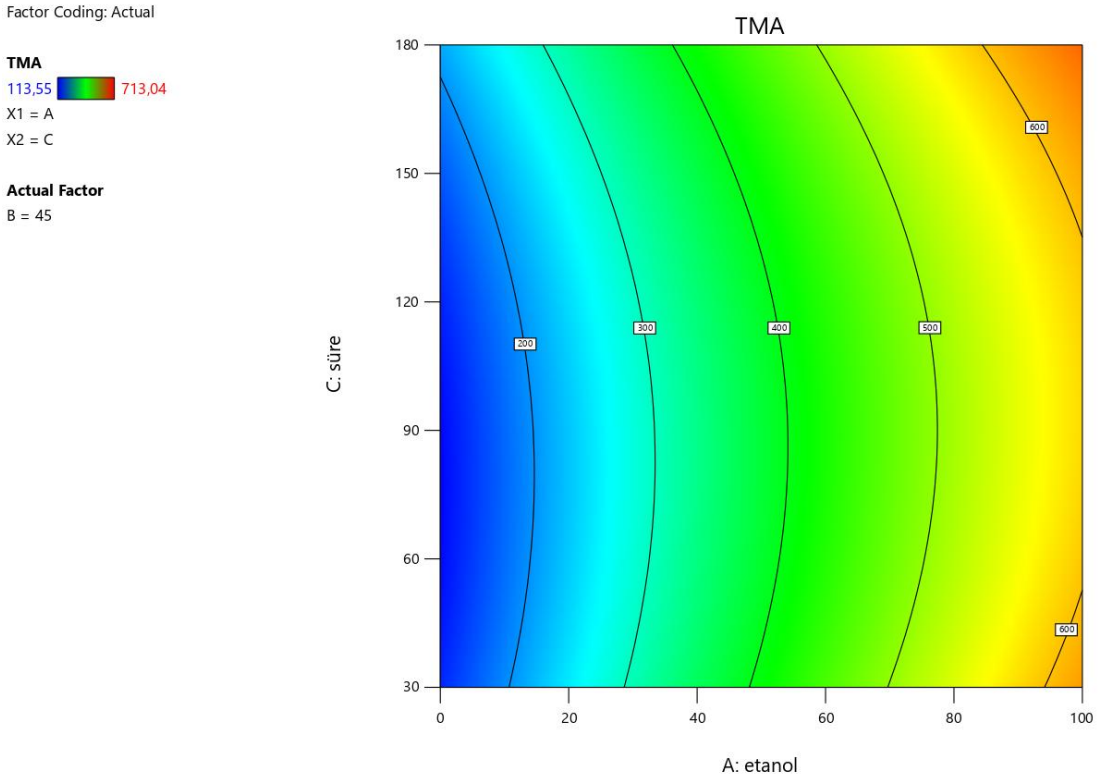
3 boyutlu yanıt yüzeyi grafiğinde, TMA değerlerinin etanol konsantrasyonu arttıkça belirgin biçimde yükseldiği görülmektedir. Saf su koşullarında (A = 0) yüzey tabanında düşük TMA değerleri gözlemlenirken, yüksek etanol konsantrasyonuna (A = 100) doğru yüzey belirgin biçimde yükselmiştir. Bu yapı, A eksenine ait doğrusal katsayının güçlü ve pozitif olduğunu (β_1 = +423,56) doğrulamakta; etanol konsantrasyonunun TMA üzerindeki baskın doğrusal etkisini görselleştirmektedir. Zeytin yaprağı A-B grafiğiyle karşılaştırıldığında temel fark dikkat çekicidir: zeytin yaprağında orta etanol bölgesinde tepe noktası oluşurken, üzüm posasında yüksek etanol bölgesine doğru sürekli artış gözlemlenmektedir. Bu fark, iki hammaddenin biyoaktif bileşiklerinin farklı polarite profilini yansıtmaktadır.

2 boyutlu kontur grafiğinde, yüksek TMA bölgelerinin (≥600 mg/100 g) yüksek etanol konsantrasyonu (≈%75–100) ve yüksek sıcaklık (≈52–60 °C) kombinasyonunda yoğunlaştığı açıkça izlenmektedir. Buna karşın düşük etanol-düşük sıcaklık bölgesinde TMA değerlerinin en alt seviyede seyrettiği görülmektedir. Bu bulgu, üzüm posası antosiyaninlerinin ekstraksiyonunda yüksek etanol konsantrasyonu ile yeterli sıcaklığın birlikte sağlanmasının kritik önem taşıdığını ortaya koymaktadır. Antosiyaninlerin etanol-su karışımlarında çözünürlüğünün etanol konsantrasyonuyla belirgin biçimde arttığı ve yüksek sıcaklığın hücre duvarı geçirgenliğini artırarak bu süreci desteklediği bilinmektedir (Casazza et al., 2012; Rockenbach et al., 2011).

Etanol konsantrasyonu (A) ve süre (C) etkileşimi

Etanol konsantrasyonu ile ekstraksiyon süresi arasındaki etkileşimi gösteren A-C grafikleri Şekil 4.5'te sunulmuştur (B = 42 °C sabit).





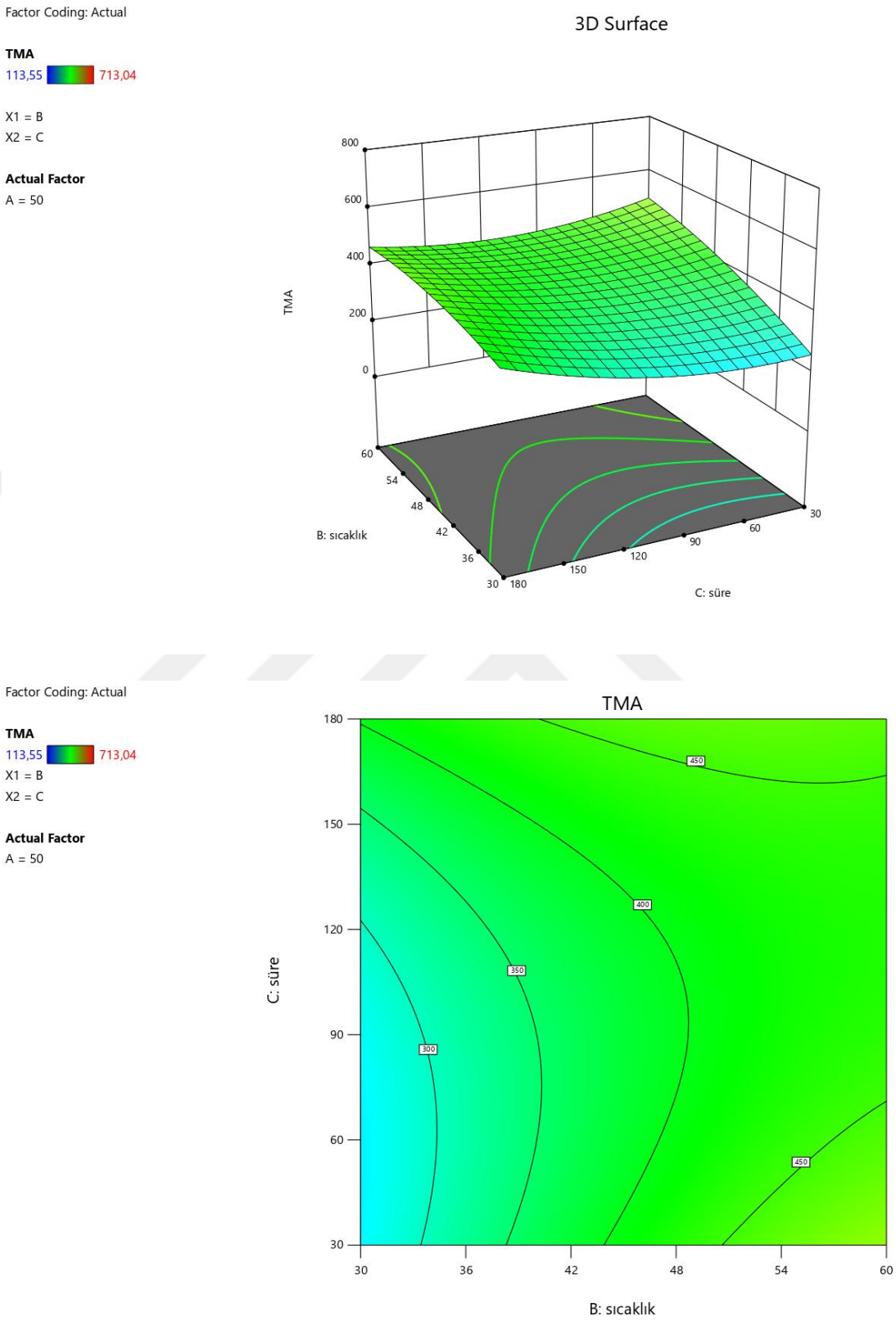
Şekil 4.5. Üzüm posası TMA değeri için A (etanol konsantrasyonu) – C (süre) etkileşimine ait 3 boyutlu yanıt yüzeyi (üst) ve 2 boyutlu kontur grafiği (alt)

A-C grafiği değerlendirildiğinde, yüzey profilinin A-B grafiğiyle yapısal açıdan büyük ölçüde benzerlik gösterdiği ve A eksenine bağlı yükselen yapının bu grafikte de belirgin biçimde korunduğu dikkat çekmektedir. Etanol konsantrasyonu ekseni boyunca gözlemlenen güçlü artış eğilimi, bu faktörün TMA üzerindeki doğrusal etkisinin süre faktörüne kıyasla çok daha baskın olduğuna işaret etmektedir. 3 boyutlu yüzeyde, yüksek etanol konsantrasyonu (≈%75–100) ile uzun süre (≈150–180 dk) kombinasyonunda TMA değerlerinin en yüksek platoya ulaştığı görülmektedir. Bu bulgu, AC etkileşim katsayısının pozitif değeriyle (β_{13} = +58,26) matematiksel olarak desteklenmekte; yüksek etanol ile uzun sürenin birlikte uygulandığı koşullarda sinerjik bir artış mekanizmasının devreye girdiğine işaret etmektedir. Zeytin yaprağı A-C grafiğiyle karşılaştırıldığında, zeytin yaprağında yüksek etanol-uzun süre kombinasyonu olumsuz etkileşim gösterirken (β_{13} = −1689), üzüm posasında bu kombinasyonun olumlu etki sergilemesi dikkat çekicidir.

2 boyutlu kontur grafiğinde bu tablo daha net biçimde ortaya çıkmaktadır. Yüksek yanıt bölgeleri (≥600 mg/100 g) yüksek etanol konsantrasyonu (≈%70–100) ile uzun süre (≈150–180 dk) kombinasyonunun sağ üst köşesinde konumlanmaktadır. Buna karşın düşük etanol (≈%0–20) ile herhangi bir süre kombinasyonunda TMA değerlerinin belirgin biçimde düşük kaldığı görülmektedir. Bu bulgu, saf su ortamının antosiyaninlerin hücre duvarından serbestleşmesini yeterince destekleyemediğini ve etanol gibi yarı-polar bir çözücünün varlığının antosiyanin ekstraksiyonunda vazgeçilmez olduğunu kanıtlamaktadır (Khoddami et al., 2013).

Sıcaklık (B) ve süre (C) etkileşimi

Sıcaklık ile ekstraksiyon süresi arasındaki etkileşimi gösteren B-C grafikleri Şekil 4.6'da sunulmuştur (A = %50 etanol sabit).



Şekil 4.6. Üzüm posası TMA değeri için B (sıcaklık) – C (süre) etkileşimine ait 3 boyutlu yanıt yüzeyi (üst) ve 2 boyutlu kontur grafiği (alt)

B-C grafiği, diğer iki grafik çiftinden belirgin biçimde farklı ve karmaşık bir yüzey morfolojisi sergilemektedir. 3 boyutlu yüzeyde açık bir tepe noktası biçimi gözlemlenmekte; bu yapı, B ve C faktörlerinin TMA üzerinde birbirini hem destekleyen hem de sınırlayan bir etkileşim dinamiği oluşturduğunu ortaya koymaktadır. Orta-yüksek sıcaklık (≈45–55 °C) ile orta süre (≈90–120 dk) kombinasyonunda TMA değerlerinin maksimuma yaklaştığı, buna karşın yüksek sıcaklık-uzun süre kombinasyonunda değerlerin belirgin biçimde düştüğü görülmektedir. Bu durum, BC^2 ($\beta = -309,87$) ve B^2C ($\beta = -203,47$) gibi yüksek dereceli olumsuz etkileşim terimlerinin grafiğe yansımasıdır. Zeytin yaprağı B-C grafiğiyle kıyaslandığında, zeytin yaprağında kâse (semer) biçiminde bir yüzey morfolojisi gözlemlenirken, üzüm posasında daha karmaşık ve asimetrik bir yüzey yapısı dikkat çekmektedir.

2 boyutlu kontur grafiğinde bu tablo son derece net biçimde yansıtılmaktadır. Yüksek TMA bölgeleri grafik içinde asimetrik bir konumda yer almakta; özellikle düşük sıcaklık-kısa süre köşesinde (B ≈ 30°C, C ≈ 30 dk) ve yüksek sıcaklık-orta süre bölgesinde (B ≈ 54–60°C, C ≈ 120–150 dk) yüksek TMA değerleri gözlemlenmektedir. Buna karşın grafik merkezinde ve özellikle orta sıcaklık-uzun süre kombinasyonunda (B ≈ 40–45°C, C ≈ 90–120 dk) TMA değerlerinin görece düşük bir bölgeye karşılık geldiği dikkat çekmektedir. Bu yapı, termal degradasyon ile difüzyon kinetiğinin bu koşullarda birbirini daha güçlü biçimde dengelediğini ve optimumun kesin konumunun ancak sayısal optimizasyon aracılığıyla belirlenebileceğini göstermektedir (Bezerra et al., 2008; Torskangerpoll & Andersen, 2005).

Bu bulgular genel olarak değerlendirildiğinde, B-C grafiğinin A faktörünün etkisi ortadan kaldırıldığında sıcaklık-süre etkileşiminin bağımsız ve yorumlanabilir, ancak yüksek dereceli terimler nedeniyle oldukça karmaşık bir etki sergilediğini açıkça gösterdiği anlaşılmaktadır. Üç grafik çiftinin birlikte incelenmesi, optimum ekstraksiyon bölgesinin yüksek etanol konsantrasyonu, orta-yüksek sıcaklık ve orta-uzun süre kombinasyonuna yakın olduğunu; ancak bu bölgenin kesin konumunun ancak sayısal optimizasyon aracılığıyla tespit edilebileceğini ortaya koymaktadır.

4.2.2.4. Optimum koşulların belirlenmesi ve doğrulanması

Design-Expert yazılımının sayısal optimizasyon (numerical optimization) fonksiyonu, TMA yanıtını maksimize etmek üzere arzu edilebilirlik (desirability) fonksiyonu kullanılarak çalıştırılmıştır. Her faktör "aralık içinde" kısıtıyla tanımlanırken, yanıt değişkeni TMA için "maksimize et" hedefi belirlenmiştir.

Yazılım tarafından önerilen optimum ekstraksiyon koşulları şu biçimde belirlenmiştir: A = %78 etanol (v/v), B = 59 °C, C = 140 dk. Bu koşullar altında model tarafından tahmin edilen TMA değeri 737,44 mg malvidin-3-glikozit eşdeğeri/100 g KM'dir.

Modelin optimum koşullardaki tahmin değeriyle deneysel değer arasındaki uyum, göreceli hata yüzdesi (RE%) hesaplanarak değerlendirilmiştir. Belirlenen optimum koşullarda bağımsız üç tekrar (n = 3) gerçekleştirilmiş; elde edilen ortalama TMA değeri 728,57 mg/100 g KM olarak ölçülmüştür. Tahmin değeri (737,44 mg/100 g KM) ile deneysel değer (728,57 mg/100 g KM) arasındaki fark RE% = 1,20 olarak hesaplanmış olup bu değer %5 sınırının belirgin biçimde altında kalmaktadır. Çizelge 4.12'de sunulan

sonuçlar, deneysel ve tahmin değerleri arasındaki yüksek uyumu ve dolayısıyla modelin güvenilirliğini ortaya koymaktadır.

Çizelge 4.12. Üzüm posası ekstraksiyon optimizasyonu — model doğrulama sonuçları

A Opt. (%v/v)	B Opt. (°C)	C Opt. (dk)	Tahmin Değeri (mg/100 g KM)	Deneysel Değer (mg/100 g KM)	RE%
78	59	140	737,44	728,57 ± 0,08	1,20

RE%: göreceli hata yüzdesi = |tahmin − deneysel| / tahmin × 100.

Optimum koşullar (A = %78 etanol, B = 59 °C, C = 140 dk), yüksek etanol konsantrasyonu ile orta-yüksek sıcaklık ve orta süre kombinasyonunu temsil etmektedir. Bu sonuç, üzüm posası antosiyanin ekstraksiyonunda yüksek etanol konsantrasyonunun belirleyici faktör olduğunu doğrulamakta; sıcaklık ve sürenin ise sinerjik biçimde hücre duvarı geçirgenliğini artırarak antosiyanin verimini desteklediğini ortaya koymaktadır. Zeytin yaprağı optimumundan (A = %40 etanol, B = 36 °C, C = 176 dk) belirgin biçimde farklılaşan bu koşullar, iki hammaddenin biyoaktif bileşik yapısındaki farklılıkları yansıtmaktadır: zeytin yaprağı fenoliklerinin yarı-polar yapısı düşük etanol-uzun süre stratejisini gerektirirken, üzüm posası antosiyaninlerinin daha yüksek organik çözücü gereksinimine sahip olduğu bu optimizasyon sonuçlarıyla sayısal olarak kanıtlanmıştır (Rockenbach et al., 2011; Şahin & Bilgin, 2018).

4.2.2.5. Üzüm posası ekstraktının fenolik profili

Optimum ekstraksiyon koşullarında (A = %78 etanol, B = 59°C, C = 140 dk) elde edilen üzüm posası ekstraktının fenolik profili, 3.5.3.4 bölümünde tanımlanan HPLC-DAD yöntemi esas alınarak belirlenmiştir. Üzüm posası ekstraktında altı fenolik madde saptanmış ve kantifiye edilmiştir: gallik asit, hidroksibenzoik asit, epikateşin, p-kumarik asit, rutin ve kuersetin. Bu bileşiklerin konsantrasyonları ve fenolik sınıfları Çizelge 4.13'de detaylı olarak sunulmaktadır.

Çizelge 4.13. Optimize edilmiş ekstraksiyon koşullarında üzüm posasından elde edilen ekstrakların fenolik bileşik profili ve konsantrasyonları

Fenolik Bileşik	Konsantrasyon (mg/kg)	Bileşik Sınıfı ve Önemi
Epikateşin	244 ± 0,0	Flavan-3-ol; güçlü antioksidan ve kardiyoprotektif aktivite
Kuersetin	212 ± 11	Flavonol; antiinflamatuar, antioksidan ve antikanser aktivite
Rutin	172 ± 4	Flavonol glikozit; vasküler koruyucu ve antioksidan etki
Gallik asit	75 ± 1,9	Fenolik asit; güçlü serbest radikal süpürücü aktivite
Hidroksibenzoik asit	5,4 ± 2,4	Benzoik asit türevi; antioksidan ve antimikrobiyal özellik
p-Kumarik asit	2,8 ± 0,4	Hidroksisinnamik asit türevi; minör bileşen

Değerler ortalama ± standart sapma olarak mg/kg örnek cinsinden verilmiştir (n = 2). Sıralama konsantrasyona göre düzenlenmiştir. Toplam kantifiye edilen fenolik miktar 711,2 mg/kg'dır.

Analiz sonuçlarına göre üzüm posasındaki en baskın fenolik bileşik, 244 ± 0,0 mg/kg konsantrasyonuyla epikateşin olmuştur. Epikateşin, toplam kantifiye edilen fenolik miktarın yaklaşık %34,3'ünü oluşturmaktadır. Bunu 212 ± 11 mg/kg ile kuersetin (%29,8) ve 172 ± 4 mg/kg ile rutin (%24,2) izlemekte; bu üç bileşik birlikte toplam fenoliğin yaklaşık %88,3'ünü oluşturmaktadır. Gallik asit (75 ± 1,9 mg/kg), hidroksibenzoik asit (5,4 ± 2,4 mg/kg) ve p-kumarik asit (2,8 ± 0,4 mg/kg) ise minör bileşenler olarak saptanmıştır.

Üzüm posasında flavan-3-ol sınıfından epikateşinin baskın bileşik olarak öne çıkması, Vitis vinifera çeşitlerinde kabuk ve çekirdek kaynaklı flavanol içeriğinin yüksekliğiyle uyumludur. Literatürde kırmızı üzüm posasından elde edilen ekstraktlarda epikateşin ve kateşin gibi flavanollerin önemli bir bileşen fraksiyonunu oluşturduğu, bu bileşiklerin güçlü serbest radikal süpürme kapasitesine ve LDL oksidasyonunu önleyici etkilere sahip olduğu bildirilmektedir (Rockenbach et al., 2011). Kuersetinin de önemli miktarda saptanması, üzüm posasının flavonol açısından değerli bir kaynak olduğunu ortaya koymaktadır; nitekim kuersetin ve rutinin üzüm kabuğunda yoğunlaştığı, bu bileşiklerin antiinflamatuar ve kardiyovasküler koruyucu özellikleriyle öne çıktığı belirtilmektedir (Andjelkovic et al., 2013).

Saptanan fenolik profilin zeytin yaprağı ekstraktından belirgin biçimde farklılaştığı dikkat çekmektedir: zeytin yaprağında tek bir bileşik (oleuropein) toplam fenoliğin %91'inden fazlasını oluştururken, üzüm posasında dağılım çok daha heterojendir ve epikateşin, kuersetin ve rutin yakın konsantrasyon değerleriyle birlikte bulunmaktadır. Bu durum, iki hammaddenin biyoaktif bileşik yapısının kökten farklı olduğunu ve her birinin fonksiyonel içeceğe farklı mekanizmalar aracılığıyla katkı sağladığını ortaya koymaktadır.

Toplam fenolik madde (TFM) tayininde (Folin–Ciocalteu yöntemi) elde edilen 24 mg GAE/g KM değeri, HPLC-DAD ile belirlenen fenolik profiliyle uyum içindedir. Literatürde kırmızı üzüm posasından etanol-su karışımıyla gerçekleştirilen ekstraksiyonlarda TFM değerlerinin 5–35 mg GAE/g KM arasında geniş bir aralıkta değiştiği; bu değişkenliğin çeşit, işleme tekniği ve ekstraksiyon koşullarına bağlı olduğu bildirilmektedir (Andjelkovic et al., 2013.; Rockenbach et al., 2011). TFM değerinin HPLC ile belirlenen toplam fenolik miktarından yüksek çıkması beklenen bir durum olup Folin–Ciocalteu yönteminin nonfenolik indirgen bileşiklere karşı da duyarlılık göstermesinden kaynaklanmaktadır (Singleton & Rossi, 1965).

Sonuç olarak, optimum koşullarda (%78 etanol, 59 °C, 140 dk) üretilen üzüm posası ekstraktı flavan-3-ol ve flavonol sınıfından fenolik bileşikler bakımından zengin bir profil ortaya koymuştur. Epikateşin, kuersetin ve rutinin bir arada bulunması, söz konusu ekstraktın fonksiyonel içeceğe antioksidan, antiinflamatuar ve kardiyoprotektif özellikler açısından çok yönlü bir biyoaktif katkı sağladığını göstermekte; yüksek etanol konsantrasyonunun (%78) bu bileşik sınıflarının ekstraksiyonunda belirleyici rol oynadığını doğrulamaktadır.

4.3. Fonksiyonel içecek formülasyonunun sıvı ürün karakterizasyonu

Peynir altı suyu tozu bazlı fonksiyonel içeceklerin geliştirilerek sıvı formda karakterize edilmesi amacıyla dört farklı formülasyon üretilmiştir: çilek aromalı-zeytin

yaprağı ekstraktı (ÇZY), aromasız-zeytin yaprağı ekstraktı (AZY), çilek aromalı-üzüm posası ekstraktı (ÇÜP) ve aromasız-üzüm posası ekstraktı (AÜP). Bu formülasyonlar, biyoaktif bileşen analizleri açısından kapsamlı biçimde incelenmiş; ekstrakt türünün ve çilek aroması ilavesinin ürün kalitesi üzerindeki etkileri değerlendirilmiştir.

4.3.1. Biyoaktif bileşen analizleri

Fonksiyonel içecek formülasyonlarına ilave edilen zeytin yaprağı ve üzüm posası ekstraktlarının ürüne kazandırdığı biyoaktif katkının belirlenmesi amacıyla toplam fenolik madde (TFM) içeriği, toplam monomerik antosiyanin (TMA) içeriği ve antioksidan kapasite (DPPH) analizleri gerçekleştirilmiştir. Elde edilen bulgular, ekstrakt ilavesinin formülasyonların biyoaktif özelliklerini kontrol örneğine kıyasla belirgin biçimde artırdığını göstermektedir. Zeytin yaprağı ekstraktı fenolik bileşikler ve antioksidan kapasite bakımından daha baskın bir katkı sağlarken, üzüm posası ekstraktı antosiyanin içeriği açısından öne çıkmıştır. İstatistiksel karşılaştırmalar SAS v.9.4 PROC GLM prosedürü ile tek yönlü ANOVA ve Duncan Çoklu Aralık Testi (DMRT; $\alpha = 0,05$) kullanılarak gerçekleştirilmiştir ($n = 3$).

4.3.1.1. Toplam fenolik madde içeriği

Formülasyonların toplam fenolik madde içerikleri Çizelge 4.14'de sunulmuştur.

Çizelge 4.14. Fonksiyonel içecek formülasyonlarının toplam fenolik madde içerikleri

Formülasyon	TFM (mg GAE/100 mL)	Önem
ÇZY	$28,40 \pm 0,64^{a}$	***
AZY	$27,85 \pm 0,58^{a}$	***
ÇÜP	$18,70 \pm 0,52^{b}$	***
AÜP	$18,21 \pm 0,47^{b}$	***

*Değerler ortalama ± standart sapma (n=3). Aynı sütunda farklı harf (a, b) → Duncan DMRT p<0,05. *** p<0,001. GAE: gallik asit eşdeğeri. ÇZY: Çilek Aromalı–Zeytin Yaprağı Ekstraktlı Fonksiyonel İçecek; AZY: Aromasız–Zeytin Yaprağı Ekstraktlı Fonksiyonel İçecek; ÇÜP: Çilek Aromalı–Üzüm Posası Ekstraktlı Fonksiyonel İçecek; AÜP: Aromasız–Üzüm Posası Ekstraktlı Fonksiyonel İçecek.*

Toplam fenolik madde içeriği incelendiğinde, zeytin yaprağı ekstraktı içeren formülasyonların (ÇZY: 28,40 ± 0,64 mg GAE/100 mL; AZY: 27,85 ± 0,58 mg GAE/100 mL) üzüm posası ekstraktı içerenlere (ÇÜP: 18,70 ± 0,52 mg GAE/100 mL; AÜP: 18,21 ± 0,47 mg GAE/100 mL) kıyasla belirgin biçimde daha yüksek fenolik içerik sergilediği görülmektedir. Literatürde whey bazlı fonksiyonel içeceklerde toplam fenolik madde içeriklerinin kullanılan bitkisel katkı ve formülasyona bağlı olarak yaklaşık 12–40 mg GAE/100 mL aralığında değiştiği bildirilmektedir (P. R. Ferreira et al., 2020; GN Patel et al., 2023). Bu çalışmada elde edilen değerlerin söz konusu aralık içerisinde yer aldığı değerlendirilmektedir. Zeytin yaprağı ekstraktı ilaveli örneklerdeki yüksek TFM değerleri bu materyalin oleuropein (~%24), hidroksitirozol ve çeşitli sekoiridoid türevleri bakımından zengin olmasıyla doğrudan ilişkilidir (Fabbri et al., 2008; Ghomari et al., 2019). Üzüm posasındaki görece düşük TFM, fenoliklerin kısmen bağlı formda bulunmasına ve pH ≈ 6'da protein-tanen kompleksi oluşumuna bağlanmaktadır (Rockenbach et al., 2011; Shahidi & Zhong, 2015). Çilek aroması ilavesinin TFM üzerindeki etkisi istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

4.3.1.2. Toplam monomerik antosiyanin içeriği

Formülasyonların toplam monomerik antosiyanin içerikleri Çizelge 4.15'te sunulmuştur.

Çizelge 4.15. Fonksiyonel içecek formülasyonlarının toplam monomerik antosiyanin içerikleri

Formülasyon	TMA (mg/100 mL malvidin-3-glikozit eş.)	Önem
ÇZY	0,35 ± 0,01[b]	***
AZY	0,34 ± 0,01[b]	***
ÇÜP	0,81 ± 0,03[a]	***
AÜP	0,79 ± 0,02[a]	***

*Aynı sütunda farklı harf (a, b) → Duncan DMRT p<0,05. *** p<0,001. TMA: malvidin-3-glikozit eşdeğeri (mg/100 mL).*

Toplam monomerik antosiyanin analiz sonuçlarında, üzüm posası ekstraktı içeren formülasyonlarda (ÇÜP: 0,81 ± 0,03 mg/100 mL; AÜP: 0,79 ± 0,02 mg/100 mL) zeytin yaprağı ekstraktı içerenlere (ÇZY: 0,35 ± 0,01 mg/100 mL; AZY: 0,34 ± 0,01 mg/100 mL) kıyasla istatistiksel olarak anlamlı biçimde yüksek TMA değerleri saptanmıştır. Üzüm posası grubundaki görece düşük mutlak değerler; formülasyonun 1:101 seyreltme oranı, pH ≈ 6'da antosiyaninlerin renksiz psödobaz formuna dönüşmesi ve pastörizasyon kayıplarıyla açıklanmaktadır (Castañeda-Ovando et al., 2009; Giusti & Wrolstad, 2001). Zeytin yaprağı grubundaki arka plan değerleri gerçek bir antosiyanin içeriğine işaret etmeyip pH-diferansiyel yönteminin matriks girişimini yansıtmaktadır (J. Lee et al., 2005). Çilek aroması ilavesinin TMA üzerinde anlamlı etkisi saptanmamıştır.

4.3.1.3. Antioksidan kapasite (DPPH)

Formülasyonların DPPH serbest radikal giderme aktivitesi Çizelge 4.16'da sunulmuştur.

Çizelge 4.16. Fonksiyonel içecek formülasyonlarının DPPH serbest radikal giderme aktivitesi

Formülasyon	DPPH Radikal Giderme Aktivitesi (%)	DPPH-TEAC (mg TE/100 mL)	Önem
ÇZY	42,30 ± 0,74[a]	100,3 ± 1,8[a]	***
AZY	41,65 ± 0,68[a]	98,6 ± 1,6[a]	***
ÇÜP	28,10 ± 0,63[b]	66,3 ± 1,5[b]	***
AÜP	27,54 ± 0,59[b]	64,9 ± 1,4[b]	***

*Değerler ortalama ± standart sapma (n=3). Farklı harf → Duncan p<0,05. *** p<0,001. TEAC: Trolox Eşdeğeri Antioksidan Kapasite; TE: Trolox eşdeğeri.*

DPPH serbest radikal giderme aktivitesi sonuçlarında, zeytin yaprağı ekstraktı içeren formülasyonlar (ÇZY: %42,30 / 100,3 mg TE/100 mL; AZY: %41,65 / 98,6 mg TE/100 mL) üzüm posası içerenlere (ÇÜP: %28,10 / 66,3 mg TE/100 mL; AÜP: %27,54 / 64,9 mg TE/100 mL) kıyasla belirgin biçimde yüksek antioksidan kapasite sergilemiştir. Bu fark, oleuropein ve hidroksitirozolün güçlü DPPH• radikal süpürücü kapasitesiyle ilişkilidir (Benavente-García et al., 2000a). Elde edilen TEAC değerleri, zeytin yaprağı katkılı süt ürünlerini inceleyen çalışmalarla (Tarchi et al., 2025; Zoidou et al., 2017) ve

üzüm posası katkılı ürünleri inceleyen çalışmalarla (Georgiev et al., 2014; Tseng & Zhao, 2013) uyumludur. 200 mL servis porsiyonunda zeytin yaprağı grubundan ≈200 mg TE, üzüm posası grubundan ≈130 mg TE antioksidan katkı sağlanmaktadır. Çilek aromasının antioksidan kapasiteye ihmal edilebilir düzeyde katkı sağladığı belirlenmiştir.

4.4. Depolama stabilitesi

4.4.1. Sıvı içeceğin depolama stabilitesi

4.4.1.1. Fizikokimyasal değişimler

Peynir altı suyu tozu bazlı dört fonksiyonel içecek formülasyonu üretim günü (0. gün) ve depolama süresince kapsamlı biçimde karakterize edilmiştir. Sıvı içecekler 4 °C'de 7 gün boyunca izlenmiş; suda çözünür kuru madde ve pH değişimleri Çizelge 4.17'de, renk parametreleri Çizelge 4.18'de, bulanıklık değişimi Çizelge 4.19'da ve sedimentasyon indeksi değişimi Çizelge 4.20'de sunulmuştur. Depolama stabilitesi verileri tekrarlı ölçüm ANOVA (SAS PROC MIXED; $\alpha = 0,05$) ile değerlendirilmiş; formülasyonlar arası farklar Duncan çoklu karşılaştırma testi ile, aynı formülasyonun depolama günleri arasındaki ikili farklar ise Bonferroni düzeltmesi uygulanmış eşleştirilmiş t-testi ($n = 3$; $\alpha_{düzeltilmiş} = 0,017$) ile incelenmiştir.

Çizelge 4.17. Sıvı fonksiyonel içeceklerin suda çözünür kuru madde (0. gün) ve pH değişimi (0–7. gün, 4 °C)

Formülasyon	SÇKM 0. gün	pH 0. gün	pH 3. gün	pH 7. gün	Önem
ÇZY	21,09±0,007^{a}	6,62±0,09^{aA}	6,59±0,03^{aA}	6,46±0,10^{aA}	***
AZY	21,08±0,012^{a}	6,66±0,04^{aA}	6,57±0,01^{aA}	6,42±0,05^{aA}	***
ÇÜP	21,06±0,011^{a}	6,09±0,03^{bA}	5,99±0,08^{bA}	5,59±0,06^{bB}	***
AÜP	21,05±0,020^{a}	6,14±0,02^{bA}	5,98±0,02^{bA}	5,61±0,09^{bB}	***

*Değerler ortalama ± standart sapma (n=3). Küçük harfler (a, b) aynı sütunda formülasyonlar arası farkı (Duncan, p<0,05); büyük harfler (A, B, C) aynı satırda depolama günleri arası ikili farkı Bonferroni düzeltmesi uygulanmış eşleştirilmiş t-testi ($\alpha_{düzeltilmiş} = 0,017$) ile göstermektedir. *** p<0,001. pH: Formülasyon F=87,42; Süre F=124,65; Formülasyon×Süre F=18,33; tümü p<0,0001. KM: Formülasyon F=5,60; p=0,023 (maksimum fark 0,04 Brix; pratik önemi yoktur). SÇKM: Suda çözünür kuru madde.*

Suda çözünür kuru madde (Brix) değerleri tüm formülasyonlarda birbirine yakın bulunmuş (%21,05–21,09); formülasyonlar arasındaki fark istatistiksel olarak sınırda anlamlı olmakla birlikte pratik önemi bulunmamaktadır. pH değerlerinde üretim günü zeytin yaprağı grubu (≈6,6) ile üzüm posası grubu (≈6,1) arasında anlamlı fark saptanmıştır. Eşleştirilmiş t-testi sonuçlarına göre zeytin yaprağı grubunda (ÇZY ve AZY) depolama günleri arasındaki pH değişimi istatistiksel olarak anlamlı bulunmazken ($p>0,05$), üzüm posası gruplarında 3. günden 7. güne anlamlı bir düşüş gerçekleşmiştir ($p<0,05$). Bu durum, pH düşüşünün özellikle üzüm posası içeren formülasyonlarda depolamanın ikinci yarısında hızlandığını göstermektedir. Tüm değerler, depolama boyunca peynir altı suyu proteinlerinin izoelektrik noktasının (pI ≈ 4,5) belirgin biçimde üzerinde kalarak protein çökelmesine elverişsiz bir ortam korunduğunu ortaya koymaktadır.

Çizelge 4.18. Sıvı fonksiyonel içeceklerin depolama süresince (0, 3 ve 7. gün, 4 °C) renk parametrelerindeki (CIE L*, a*, b*, h°, C*) değişimi

Param.	Form.	0. Gün	3. Gün	7. Gün	Önem
L*	ÇZY	80,07±0,14^{aA}	79,20±0,12^{aB}	78,10±0,18^{aC}	***
	AZY	79,96±0,11^{aA}	79,05±0,15^{aB}	77,95±0,16^{aC}	
	ÇÜP	70,46±0,03^{bA}	69,10±0,10^{bB}	67,80±0,15^{bC}	
	AÜP	70,39±0,13^{bA}	69,00±0,12^{bB}	67,70±0,17^{bC}	
a*	ÇZY	3,53±0,02^{bA}	3,40±0,03^{bB}	3,20±0,04^{bC}	***
	AZY	3,47±0,06^{bA}	3,35±0,05^{bB}	3,15±0,06^{bC}	
	ÇÜP	0,10±0,09^{aA}	0,18±0,07^{aB}	0,28±0,08^{aC}	
	AÜP	0,10±0,09^{aA}	0,17±0,06^{aA}	0,26±0,07^{aB}	
b*	ÇZY	9,03±0,08^{aA}	8,70±0,07^{aB}	8,30±0,10^{aC}	***
	AZY	8,93±0,11^{aA}	8,60±0,09^{aB}	8,20±0,12^{aC}	
	ÇÜP	4,65±0,12^{bA}	4,40±0,11^{bB}	4,05±0,10^{bC}	
	AÜP	4,58±0,10^{bA}	4,30±0,09^{bB}	3,95±0,11^{bC}	
h°	ÇZY	111,09±0,53^{aA}	109,20±0,45^{aB}	107,50±0,52^{aC}	***
	AZY	110,06±0,41^{bA}	108,80±0,38^{bB}	107,10±0,44^{bC}	
	ÇÜP	88,03±0,17^{cA}	85,60±0,20^{cB}	83,20±0,25^{cC}	
	AÜP	88,08±0,05^{cA}	85,80±0,18^{cB}	83,40±0,22^{cC}	
C*	ÇZY	9,76±0,21^{aA}	9,34±0,18^{aB}	8,90±0,25^{aC}	***
	AZY	9,89±0,29^{aA}	9,25±0,22^{aB}	8,82±0,27^{aC}	
	ÇÜP	4,66±0,01^{bA}	4,41±0,05^{bB}	4,06±0,09^{bC}	
	AÜP	4,58±0,08^{bA}	4,30±0,07^{bB}	3,96±0,10^{bC}	

*Değerler ortalama ± standart sapma (n=3). Küçük harfler (a, b) aynı sütunda formülasyonlar arası farkı (Duncan, p<0,05); büyük harfler (A, B, C) aynı satırda depolama günleri arası ikili farkı Bonferroni düzeltmesi uygulanmış eşleştirilmiş t-testi ($\alpha_{düzeltilmiş}$ = 0,017) ile göstermektedir. *** p<0,001. Tüm parametreler için Formülasyon, Süre ve Formülasyon×Süre etkileri p<0,0001. 7. günde ΔE* = 2,0–2,7 birim olup görsel algı eşiğinin (ΔE*<3) altındadır.*

Üretim günü renk analizi sonuçları, ekstrakt türünün içeceklerin görsel özelliklerini belirgin biçimde şekillendirdiğini ortaya koymaktadır. Zeytin yaprağı grubu yüksek L* (~80), negatif a* ve pozitif b* değerleriyle açık sarı-yeşilimsi bir görünüm sergilemiştir. Üzüm posası grubunda L* yaklaşık 10 birim daha düşük seyretmiş; antosiyaninlerin pH ≈ 6 koşullarında renksiz psödobaz formuna dönüşmesi soluk bir renk tonuna yol açmıştır. Eşleştirilmiş t-testi, neredeyse tüm renk parametrelerinde ardışık depolama günleri arasındaki değişimin istatistiksel olarak anlamlı olduğunu göstermiştir (p<0,05); bu durum, büyük harf dizilimlerinin (A→B→C) tabloda izlenebileceği üzere tüm formülasyonlarda zamana bağlı tutarlı bir renk değişimine işaret etmektedir. Depolama süresince tüm formülasyonlarda L* kademeli olarak azalmış; üzüm posası grubunda a* değeri artış göstermiş (0,10→0,28), bu da pH düşüşüyle birlikte antosiyaninlerin kısmen yeniden renkli forma dönüşünü yansıtmaktadır. Bununla birlikte, hesaplanan toplam renk değişimi (ΔE*) değerlerinin görsel algı eşiğinin altında kalması, bu değişimlerin tüketici tarafından fark edilebilir düzeyde olmadığını göstermektedir.

Çizelge 4.19. Sıvı fonksiyonel içeceklerin 4 °C depolama boyunca bulanıklık değişimi (NTU, 0–7. gün)

Formülasyon	0. Gün (NTU)	3. Gün (NTU)	7. Gün (NTU)	Önem
ÇZY	58,40±1,75^{bA}	56,80±1,60^{bB}	54,90±1,70^{bC}	***
AZY	57,92±1,61^{bA}	56,20±1,55^{bB}	54,30±1,65^{bC}	***
ÇÜP	71,85±2,10^{aA}	68,90±2,05^{aB}	65,20±2,20^{aC}	***
AÜP	71,43±1,98^{aA}	68,40±1,90^{aB}	64,70±2,10^{aC}	***

*Değerler ortalama ± standart sapma (n=3). Küçük harfler (a, b) aynı sütunda formülasyonlar arası farkı (Duncan, p<0,05); büyük harfler (A, B, C) aynı satırda depolama günleri arası ikili farkı Bonferroni düzeltmesi uygulanmış eşleştirilmiş t-testi ($\alpha_{düzeltilmiş}$ = 0,017) ile göstermektedir. *** p<0,001. Formülasyon F=44,60; Süre F=82,15; Formülasyon×Süre F=2,98 (p=0,0197).*

Üretim günü bulanıklık değerleri incelendiğinde, üzüm posası grubu (≈72 NTU) zeytin yaprağı grubuna (≈58 NTU) kıyasla belirgin biçimde daha yüksek değerler sergilemiştir. Bu fark, üzüm posasındaki yüksek kondanse tanen içeriğinin peynir altı suyu proteinleriyle iri agregatlar oluşturmasına bağlanmaktadır (Siebert et al., 1996). Eşleştirilmiş t-testi sonuçları, tüm formülasyonlarda ardışık depolama günleri arasındaki bulanıklık azalışının istatistiksel olarak anlamlı olduğunu göstermiştir (p<0,01; tabloda A→B→C). Bu kademeli azalış, oluşan agregatların depolama süresince çökerek süpernatant bulanıklığını düşürmesiyle açıklanmaktadır.

Çizelge 4.20. Sıvı fonksiyonel içeceklerin 4 °C depolama boyunca sedimentasyon indeksi değişimi (SI, %, 0–7. gün)

Formülasyon	0. Gün (SI, %)	3. Gün (SI, %)	7. Gün (SI, %)	Önem
ÇZY	4,54±0,03^{bA}	5,10±0,04^{bB}	5,90±0,05^{bC}	***
AZY	4,53±0,02^{bA}	5,05±0,03^{bB}	5,85±0,04^{bC}	***
ÇÜP	7,80±0,06^{aA}	8,95±0,08^{aB}	10,40±0,10^{aC}	***
AÜP	7,85±0,04^{aA}	9,00±0,07^{aB}	10,55±0,09^{aC}	***

*Değerler ortalama ± standart sapma (n=3). Küçük harfler (a, b) aynı sütunda formülasyonlar arası farkı (Duncan, p<0,05); büyük harfler (A, B, C) aynı satırda depolama günleri arası ikili farkı Bonferroni düzeltmesi uygulanmış eşleştirilmiş t-testi ($\alpha_{düzeltilmiş}$ = 0,017) ile göstermektedir. *** p<0,001. Formülasyon F=5388,4; Süre F=2746,7; Formülasyon×Süre F=87,34 (p<0,0001).*

Üretim günü sedimentasyon indeksi sonuçları, üzüm posası grubunun (≈%7,8) zeytin yaprağı grubuna (≈%4,5) kıyasla daha yüksek bir çökelme eğilimi sergilediğini ortaya koymaktadır. Eşleştirilmiş t-testi, tüm formülasyonlarda her ardışık depolama aralığında SI değerindeki artışın istatistiksel olarak anlamlı olduğunu göstermiştir (p<0,001; tabloda A→B→C). Üzüm posası grubunda sedimentasyon indeksi 7. günde %10'u aşmıştır. Bu kritik bulgu, tanen-protein agregasyonunun fiziksel stabilite üzerindeki olumsuz etkisini açıkça yansıtmaktadır (Siebert et al., 1996). Zeytin yaprağı grubu ise tüm depolama süresi boyunca daha düşük SI değerleriyle daha stabil bir profil sergilemiştir.

4.4.1.2. Mikrobiyolojik değişimler

Sıvı fonksiyonel içeceklerin 4 °C'de 0., 3. ve 7. günlerde gerçekleştirilen mikrobiyolojik analizlerinde tüm formülasyonlar için PCA ve PDA besiyerlerinde koloni tespit edilememiştir (< 1,00 log KOB/mL). Elde edilen bulgular Çizelge 4.21'de sunulmuştur.

Çizelge 4.21. Sıvı fonksiyonel içeceklerin 4 °C depolama boyunca mikrobiyolojik analiz sonuçları (log KOB/mL)

Form.	PCA 0.g	PDA 0.g	PCA 3.g	PDA 3.g	PCA 7.g	PDA 7.g	TGK Limiti
ÇZY	< 1,00	< 1,00	< 1,00	< 1,00	< 1,00	< 1,00	≤ 4,00
AZY	< 1,00	< 1,00	< 1,00	< 1,00	< 1,00	< 1,00	≤ 4,00
ÇÜP	< 1,00	< 1,00	< 1,00	< 1,00	< 1,00	< 1,00	≤ 4,00
AÜP	< 1,00	< 1,00	< 1,00	< 1,00	< 1,00	< 1,00	≤ 4,00

< 1,00: tespit sınırının altında (ekim hacmi 1 mL, seyreltme faktörü 10^{-1}). TGK: Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Yönetmeliği (2009/6) pastörize aromalı süt bazlı içecek kriteri. PCA: Plate Count Agar (TAMB); PDA: Potato Dextrose Agar (maya-küf).

Tüm sıvı formülasyonlarda 0., 3. ve 7. gün boyunca toplam aerobik mezofilik bakteri ve maya-küf sayımlarında koloni tespit edilememesi, içeceklerin 4 °C'deki 7 günlük depolama süresince mikrobiyolojik güvenliğini eksiksiz biçimde koruduğunu göstermektedir. Bu bulgu, pastörizasyonun ardından 4 °C'de depolanan pastörize süt bazlı içeceklerde ilk 7 günde mikrobiyolojik yükün genellikle <1–2 log KOB/mL düzeyinde seyrettiğini bildiren literatür verileriyle uyumludur (Ahmed et al., 2023). Türk Gıda Kodeksi kapsamında pastörize aromalı süt bazlı içecekler için toplam aerobik mezofilik koloni sayısı üst limiti ≤ 10.000 KOB/mL (≤ 4,00 log KOB/mL) olarak belirlenmiş olup elde edilen değerler bu sınırın çok altında kalmaktadır.

Zeytin yaprağı ve üzüm posası kaynaklı fenolik bileşiklerin (oleuropein, hidroksitirozol, kondanse tanenler) soğuk depolama koşullarında antimikrobiyal aktivite sergilediği bilinmektedir. Erarslan (2017), zeytin yaprağı ekstraktının salçalarda toplam aerobik mezofilik bakteri ve maya-küf yükünü istatistiksel olarak anlamlı biçimde azalttığını göstermiştir. Bu antimikrobiyal katkının, mevcut çalışmada depolama boyunca mikrobiyolojik yükün tespit sınırının altında kalmasına ek destek sağladığı değerlendirilmektedir.

4.4.2. Toz içeceğin depolama stabilitesi

4.4.2.1. Fizikokimyasal değişimler

Liyofilize toz formülasyonların 25 °C'de 28 günlük depolama süresince yığın yoğunluğu, sıkıştırılmış yoğunluk, Carr İndeksi, Hausner Oranı, çözünürlük ve ıslanabilirlik değerlerindeki değişimler 0., 7., 14., 21. ve 28. günlerde ölçülmüş; elde edilen bulgular Çizelge 4.22–4.26'da sunulmuştur. İstatistiksel değerlendirmeler tekrarlı ölçüm ANOVA (SAS PROC MIXED; $\alpha = 0,05$) ile yürütülmüş; aynı formülasyonun depolama günleri arasındaki ikili farklar ise Bonferroni düzeltmesi uygulanmış eşleştirilmiş t-testi ($n = 3$; $\alpha_{düzeltilmiş} = 0,017$) ile incelenmiştir.

Çizelge 4.22. Toz fonksiyonel içeceklerin 25 °C depolama boyunca yığın yoğunluğu (ρy) değişimi (g/mL, 0–28. gün)

Formülasyon	ρy 0.g	ρy 7.g	ρy 14.g	ρy 21.g	ρy 28.g	Önem
Toz-ÇZY	$0,312\pm0,004^{aA}$	$0,319\pm0,004^{aA}$	$0,325\pm0,004^{aA}$	$0,338\pm0,005^{aB}$	$0,352\pm0,006^{aC}$	***
Toz-AZY	$0,308\pm0,003^{aA}$	$0,314\pm0,004^{aB}$	$0,320\pm0,003^{aC}$	$0,333\pm0,004^{aD}$	$0,347\pm0,005^{aE}$	***
Toz-ÇÜP	$0,294\pm0,005^{bA}$	$0,301\pm0,005^{bA}$	$0,308\pm0,005^{bA}$	$0,322\pm0,006^{bB}$	$0,335\pm0,006^{bB}$	***
Toz-AÜP	$0,291\pm0,004^{bA}$	$0,298\pm0,005^{bB}$	$0,305\pm0,004^{bC}$	$0,319\pm0,005^{bD}$	$0,332\pm0,005^{bD}$	***

*Değerler ortalama ± standart sapma (n=3). Küçük harfler (a, b) aynı sütunda formülasyonlar arası farkı (Duncan, p<0,05); büyük harfler (A, B, C) aynı satırda depolama günleri arası ikili farkı Bonferroni düzeltmesi uygulanmış eşleştirilmiş t-testi ($\alpha_{düzeltilmiş}$ = 0,017) ile göstermektedir. *** p<0,001. Formülasyon F=412,6; Süre F=1887,3; Formülasyon×Süre F=3,14 (p=0,0022).*

Çizelge 4.23. Toz fonksiyonel içeceklerin 25 °C depolama boyunca sıkıştırılmış yoğunluk (ρs) değişimi (g/mL, 0–28. gün)

Formülasyon	ρs 0.g	ρs 7.g	ρs 14.g	ρs 21.g	ρs 28.g	Önem
Toz-ÇZY	0,374±0,003^{aA}	0,381±0,003^{aA}	0,388±0,004^{aB}	0,402±0,004^{aB}	0,418±0,005^{aC}	***
Toz-AZY	0,371±0,005^{aA}	0,378±0,004^{aB}	0,385±0,005^{aC}	0,398±0,006^{aD}	0,414±0,006^{aD}	***
Toz-ÇÜP	0,361±0,004^{bA}	0,369±0,004^{bA}	0,378±0,004^{bA}	0,394±0,005^{bB}	0,410±0,005^{bB}	***
Toz-AÜP	0,358±0,006^{bA}	0,366±0,005^{bB}	0,375±0,006^{bC}	0,390±0,006^{bC}	0,406±0,007^{bD}	***

*Değerler ortalama ± standart sapma (n=3). Küçük harfler (a, b) aynı sütunda formülasyonlar arası farkı (Duncan, p<0,05); büyük harfler (A, B, C) aynı satırda depolama günleri arası ikili farkı Bonferroni düzeltmesi uygulanmış eşleştirilmiş t-testi ($\alpha_{düzeltilmiş}$ = 0,017) ile göstermektedir. *** p<0,001. Formülasyon, Süre ve Formülasyon×Süre etkileri tümü p<0,001.*

Üretim günü yığın yoğunluğu değerleri zeytin yaprağı grubunda (Toz-ÇZY: 0,312; Toz-AZY: 0,308 g/mL) üzüm posası grubuna (Toz-ÇÜP: 0,294; Toz-AÜP: 0,291 g/mL) kıyasla hafif düzeyde daha yüksek bulunmuştur. Her iki grup için elde edilen değerler, liyofilize gıda tozları için bildirilen 0,20–0,50 g/mL aralığında yer almaktadır (Gustavo V. Barbosa-Cánovas et al., 2005). Eşleştirilmiş t-testi sonuçlarına göre hem yığın hem de sıkıştırılmış yoğunlukta anlamlı artışlar özellikle depolamanın ikinci yarısında (14. günden sonra) yoğunlaşmıştır; erken dönemdeki bazı ardışık değişimler ise farkın çok küçük olması nedeniyle istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (tabloda tekrar eden büyük harfler). Bu örüntü, ortam neminin toz parçacıklarına kademeli absorpsiyonu ve buna bağlı kompaksiyon artışıyla açıklanmaktadır.

Çizelge 4.24a. Toz fonksiyonel içeceklerin 25 °C depolama boyunca Carr İndeksi (CI) değişimi (0–28. gün)

Formülasyon	CI 0.g (%)	CI 7.g (%)	CI 14.g (%)	CI 21.g (%)	CI 28.g (%)	Önem
Toz-ÇZY	16,58±0,31^{bA}	16,41±0,33^{bB}	16,24±0,35^{bC}	15,92±0,33^{bD}	15,79±0,36^{bE}	***
Toz-AZY	16,98±0,42^{bA}	16,93±0,38^{bA}	16,88±0,40^{bB}	16,33±0,38^{bC}	16,18±0,40^{bD}	***
Toz-ÇÜP	18,56±0,38^{aA}	18,54±0,37^{aA}	18,52±0,36^{aA}	18,27±0,41^{aB}	18,29±0,43^{aB}	***
Toz-AÜP	18,72±0,44^{aA}	18,70±0,43^{aA}	18,67±0,42^{aB}	18,21±0,45^{aC}	18,23±0,47^{aC}	***

*Değerler ortalama ± standart sapma (n=3). Küçük harfler (a, b) aynı sütunda formülasyonlar arası farkı (Duncan, p<0,05); büyük harfler (A, B, C) aynı satırda depolama günleri arası ikili farkı Bonferroni düzeltmesi uygulanmış eşleştirilmiş t-testi ($\alpha_{düzeltilmiş}$ = 0,017) ile göstermektedir. *** p<0,001. Formülasyon F=624,8; Süre F=28,4; Formülasyon×Süre F=5,72; tümü p<0,001.*

Çizelge 4.24b. Toz fonksiyonel içeceklerin 25 °C depolama boyunca akış sınıfı değişimi (Carr İndeksine göre, 0–28. gün)

Formülasyon	0. gün	7. gün	14. gün	21. gün	28. gün	Önem
Toz-ÇZY	Kab.	Kab.	Kab.	Kab.	Kab.	***
Toz-AZY	Kab.	Kab.	Kab.	Kab.	Kab.	***
Toz-ÇÜP	Kab.	Kab.	Kab.	Orta	Orta	***
Toz-AÜP	Kab.	Kab.	Kab.	Orta	Orta	***

**** p<0,001. Kab.: kabul edilebilir akış (CI %16–20); Orta: orta akış (CI %21–25) — Carr (1965) sınıflandırması.*

Çizelge 4.24c. Toz fonksiyonel içeceklerin 25 °C depolama boyunca Hausner Oranı (HR) değişimi (0–28. gün)

Formülasyon	HR 0.g	HR 7.g	HR 14.g	HR 21.g	HR 28.g	Önem
Toz-ÇZY	1,20±0,01^{bA}	1,19±0,01^{bA}	1,19±0,01^{bA}	1,19±0,01^{bA}	1,19±0,01^{bA}	***
Toz-AZY	1,20±0,02^{bA}	1,20±0,02^{bA}	1,20±0,02^{bA}	1,19±0,02^{bA}	1,19±0,02^{bA}	***
Toz-ÇÜP	1,23±0,01^{aA}	1,23±0,01^{aA}	1,23±0,01^{aA}	1,22±0,01^{aA}	1,22±0,01^{aA}	***
Toz-AÜP	1,23±0,02^{aA}	1,23±0,02^{aA}	1,23±0,02^{aA}	1,22±0,02^{aA}	1,22±0,02^{aA}	***

*Değerler ortalama ± standart sapma (n=3). Küçük harfler (a, b) aynı sütunda formülasyonlar arası farkı (Duncan, p<0,05); büyük harfler (A, B, C) aynı satırda depolama günleri arası ikili farkı Bonferroni düzeltmesi uygulanmış eşleştirilmiş t-testi ($\alpha_{düzeltilmiş}$ = 0,017) ile göstermektedir. Depolama günleri arasındaki değişim yalnızca 0,01 birim düzeyinde olup eşleştirilmiş t-testinde pratik anlam taşımadığından (aynı büyük harf) zaman içi fark yorumlanmamıştır. *** p<0,001 (formülasyon etkisi).*

Çizelge 4.25. Toz fonksiyonel içeceklerin 25 °C depolama boyunca çözünürlük (%) değişimi (0–28. gün)

Formülasyon	Çöz. 0.g	Çöz. 7.g	Çöz. 14.g	Çöz. 21.g	Çöz. 28.g	Önem
Toz-ÇZY	78,71±0,23^{aA}	77,81±0,24^{aB}	76,90±0,25^{aC}	75,20±0,28^{aD}	73,60±0,30^{aE}	***
Toz-AZY	77,80±0,11^{bA}	76,80±0,14^{bB}	75,80±0,18^{bC}	74,10±0,20^{bD}	72,40±0,22^{bE}	***
Toz-ÇÜP	73,64±0,14^{cA}	72,77±0,17^{cB}	71,90±0,20^{cC}	70,10±0,24^{cD}	68,20±0,26^{cE}	***
Toz-AÜP	72,52±0,16^{dA}	71,61±0,19^{dB}	70,70±0,22^{dC}	68,90±0,25^{dD}	67,00±0,28^{dE}	***

*Değerler ortalama ± standart sapma (n=3). Küçük harfler (a, b) aynı sütunda formülasyonlar arası farkı (Duncan, p<0,05); büyük harfler (A, B, C) aynı satırda depolama günleri arası ikili farkı Bonferroni düzeltmesi uygulanmış eşleştirilmiş t-testi ($\alpha_{düzeltilmiş}$ = 0,017) ile göstermektedir. *** p<0,001. Formülasyon F=1843,2; Süre F=2317,6; Formülasyon×Süre F=6,84 (p<0,0001).*

Çizelge 4.26. Toz fonksiyonel içeceklerin 25 °C depolama boyunca ıslanabilirlik (s) değişimi (0–28. gün)

Formülasyon	Is. 0.g	Is. 7.g	Is. 14.g	Is. 21.g	Is. 28.g	Önem
Toz-ÇZY	42,3±1,1^{cA}	44,0±1,1^{cA}	45,8±1,2^{cB}	48,9±1,3^{cC}	52,1±1,4^{cD}	***
Toz-AZY	44,6±0,9^{bA}	46,4±0,9^{bA}	48,2±1,0^{bB}	51,4±1,1^{bC}	54,8±1,2^{bD}	***
Toz-ÇÜP	51,2±1,4^{aA}	53,4±1,4^{aA}	55,6±1,5^{aB}	59,8±1,6^{aC}	64,3±1,7^{aD}	***
Toz-AÜP	53,8±1,2^{aA}	56,0±1,3^{aB}	58,1±1,3^{aB}	62,5±1,4^{aC}	67,2±1,5^{aD}	***

*Değerler ortalama ± standart sapma (n=3). Küçük harfler (a, b, c) aynı sütunda formülasyonlar arası farkı (Duncan, p<0,05); büyük harfler (A, B, C) aynı satırda depolama günleri arası ikili farkı Bonferroni düzeltmesi uygulanmış eşleştirilmiş t-testi ($\alpha_{düzeltilmiş}$ = 0,017) ile göstermektedir. *** p<0,001. Formülasyon F=2104,7; Süre F=3218,5; Formülasyon×Süre F=4,37 (p=0,0001).*

Carr İndeksi değerleri üretim günü tüm formülasyonlar için %16,58–18,72 aralığında ve kabul edilebilir akış sınıfında belirlenmiştir. Eşleştirilmiş t-testi sonuçları, zeytin yaprağı gruplarında depolama günleri arasındaki azalışın daha tutarlı biçimde anlamlı olduğunu, üzüm posası gruplarında ise bazı ardışık aralıkların anlamsız kaldığını göstermiştir (p>0,05). Depolama süresince zeytin yaprağı grubu tüm zaman noktalarında kabul edilebilir akış sınıfını (%15,79–16,98) sürdürürken, üzüm posası grubu 21. günden itibaren orta akış sınıfına geçiş yapmıştır. Bu geçiş, tanen-protein komplekslerinin oluşturduğu daha higroskopik yüzey kimyasının nem absorpsiyonunu hızlandırmasıyla ilişkilendirilmektedir. 28. günde hiçbir formülasyon zayıf akış sınıfına (CI > 25) girmemiştir. Hausner Oranı değerlerindeki değişim ise 0,01 birim düzeyinde kalarak pratik bir öneme ulaşmamıştır.

Üretim günü çözünürlük değerleri zeytin yaprağı grubunda (Toz-ÇZY: %78,71; Toz-AZY: %77,80) üzüm posası grubuna (Toz-ÇÜP: %73,64; Toz-AÜP: %72,52) kıyasla anlamlı biçimde daha yüksek bulunmuştur. Bu fark, zeytin yaprağı fenoliklerinin polar

yapısının çözünürlüğü desteklemesine karşın üzüm posasındaki kondanse tanenlerin peynir altı suyu proteinleriyle hidrofobik etkileşime girerek çözünemeyen agregatlar oluşturmasına dayanmaktadır (Ozdal et al., 2013). Eşleştirilmiş t-testi, tüm formülasyonlarda her ardışık depolama aralığında çözünürlüğün anlamlı biçimde azaldığını göstermiştir ($p<0,001$; tabloda A→B→C→D→E); ancak 28. günde bile hiçbir formülasyon yaklaşık %65 kabul sınırının altına inmemiştir (Seth et al., 2017). Islanabilirlik sürelerinde de benzer biçimde, ağırlıklı olarak depolamanın ikinci yarısında anlamlı uzamalar gözlenmiş; 28. günde en yüksek değer Toz-AÜP'te (67,2 s) saptanmış ve 90 s kabul sınırının altında kalmıştır. Tüm bu bulgular, toz formülasyonların 28 günlük depolama süresince kabul edilebilir fiziksel ve işlevsel özelliklerini koruduğunu göstermektedir.

4.4.2.2. Mikrobiyolojik değişimler

Toz fonksiyonel içeceklerin 25 °C'de 0., 7., 14., 21. ve 28. Günlerde gerçekleştirilen PCA (TAMB) ve PDA (maya-küf) analizleri sonuçları Çizelge 4.27'de log KOB/g cinsinden sunulmuştur. Koloni sayımları, 1:10 seyreltim (0.1 g toz + 0.9 mL Butterfield fosfat tamponu) ve 1 mL ekim hacmi esas alınarak KOB/g cinsine dönüştürülmüş; ardından $\log_{10}$ değerleri hesaplanmıştır.

Çizelge 4.27. Toz fonksiyonel içeceklerin 25 °C depolama boyunca mikrobiyolojik analiz sonuçları (log KOB/g)

Form.	Analiz	0. gün	7. gün	14. gün	21. gün	28. gün	TGK Limiti
ÇZY	PCA	<1,00	2,95	3,12	3,27	3,32	≤ 4,00
	PDA	<1,00	2,96	3,18	3,30	3,32	
AZY	PCA	<1,00	2,99	3,12	3,27	3,33	≤ 4,00
	PDA	<1,00	3,00	3,15	3,30	3,33	
ÇÜP	PCA	<1,00	2,99	3,13	3,30	3,35	≤ 4,00
	PDA	<1,00	3,03	3,19	3,29	3,36	
AÜP	PCA	<1,00	3,03	3,14	3,30	3,35	≤ 4,00
	PDA	<1,00	3,04	3,17	3,31	3,37	

< 1,00: tespit sınırının altında. Değerler ham koloni sayısı × seyreltme faktörü$^{-1}$ (×10) ile KOB/g'a dönüştürülüp $\log_{10}$ alınmıştır. TGK: Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Yönetmeliği (2009/6). PCA: Plate Count Agar (TAMB, 30 °C/48 s, ISO 4833-1); PDA: Potato Dextrose Agar (maya-küf, 25 °C/3–5 gün, ISO 21527-1).

Toz ürünlerde 0. günde her dört formülasyon için de TAMB ve maya-küf sayısının tespit sınırının altında (<1,00 log KOB/g) kaldığı belirlenmiştir. Depolama süresinin ilerlemesiyle birlikte mikrobiyolojik yük kademeli bir artış sergilemiş; bu artış 7. günde 2,95–3,04 log KOB/g düzeyinde başlayarak 28. günde 3,32–3,37 log KOB/g değerlerine ulaşmıştır. Bununla birlikte, tüm formülasyonlarda ve tüm zaman noktalarında elde edilen değerler, Türk Gıda Kodeksi'nde tüketime hazır gıda tozları için belirtilen mikrobiyolojik kabul sınırı olan ≤ 10^4 KOB/g (≤ 4,00 log KOB/g) değerinin altında kalmıştır. 28. gün sonunda en yüksek değer AÜP formülasyonunun PDA sayımında elde edilen 3,37 log KOB/g (yaklaşık 2.350 KOB/g) olmuş; bu değer kabul sınırının belirgin biçimde altındadır. Bu bulgular, toz ürünlerin 25 °C'de en az 28 günlük depolama süresince mikrobiyolojik güvenliğini koruduğunu ortaya koymaktadır.

Düşük su aktivitesine (a_w < 0,6) sahip toz ürünlerde mikrobiyal çoğalmanın beklenmediği, zira bu düzeyin altındaki su aktivitesi değerlerinin mikrobiyal hücre bölünmesi için gerekli fizyolojik süreçleri engellediği bilinmektedir (Sharma et al., 2023).

Bu bağlamda, mevcut çalışmada gözlenen kademeli mikrobiyolojik artışın en olası açıklaması, higroskopik toz matriksin 25 °C'de depolama süresince ortam neminden nem kazanarak su aktivitesini kademeli olarak yükseltmesi ve böylece mikrobiyal metabolizma için erişilebilir serbest su miktarını artırmasıdır. Liyofilize gıda tozlarının yüksek gözenekli yapısı ve büyük yüzey alanı, bu tür ürünleri nem absorpsiyonuna karşı özellikle duyarlı (higroskopik) kılmaktadır; kalıntı nem içeriğindeki artış ise su aktivitesini yükselterek mikrobiyal stabiliteyi doğrudan zayıflatmaktadır (Kucharska-Guzik et al., 2025; Valková et al., 2022). Bu mekanizma, aynı depolama döneminde (Bölüm 4.4.2.1) yığın ve sıkıştırılmış yoğunluk ile ıslanabilirlik sürelerinde gözlenen artış eğilimiyle de tutarlı olup, her iki bulgu da ortak bir nedene — depolama boyunca kademeli nem kazanımına — işaret etmektedir.

Formülasyonlar arası karşılaştırmada, üzüm posası ekstraktı içeren ürünlerin (ÇÜP ve AÜP) zeytin yaprağı içerenlere (ÇZY ve AZY) kıyasla depolama boyunca hafif ama tutarlı biçimde daha yüksek mikrobiyolojik sayım sergilediği dikkat çekmektedir. Bu durum, üzüm posası bazlı tozların tanen-protein kompleksleri nedeniyle daha higroskopik bir yüzey kimyasına sahip olması ve dolayısıyla daha fazla nem çekmesiyle ilişkilendirilebilir; nitekim bu formülasyonların Carr İndeksi ve akış özelliklerinde de daha belirgin bir bozulma gözlenmiştir (Bölüm 4.4.2.1). PCA ve PDA sayımları karşılaştırıldığında, maya-küf sayımlarının (PDA) TAMB değerlerine (PCA) kıyasla depolama boyunca tutarlı biçimde hafif yüksek seyrettiği görülmektedir. Zeytin yaprağı ve üzüm posası fenoliklerinin geniş spektrumlu gram pozitif ve gram negatif bakteriler üzerinde inhibitör etki gösterdiği, ancak küf sporlarına karşı daha sınırlı antimikrobiyal aktivite sergilediği bilinmekte olup bu çalışmanın bulguları söz konusu örüntüyle uyumludur (Bouaziz et al., 2005).

Sonuç olarak, toz fonksiyonel içeceklerin 25 °C'de 28 günlük depolama süresi boyunca mikrobiyolojik güvenlik kriterlerini karşıladığı belirlenmiştir. Bununla birlikte, gözlenen kademeli artışın nem kazanımına bağlı olduğu değerlendirildiğinden, daha uzun depolama sürelerinde (60–90 gün) mikrobiyolojik yükün kabul sınırına yaklaşma olasılığına karşı nem bariyeri yüksek ambalaj, nem tutucu (desikant) veya oksijen tutucu sistemler ile modifiye atmosfer paketleme gibi koruyucu ambalaj yaklaşımlarının kullanımı önerilmektedir.

5. SONUÇLAR

Bu çalışmada peynir altı suyu tozu bazlı fonksiyonel içecek sistemi geliştirilmiş; zeytin yaprağı ve üzüm posası ekstraktlarının I-Optimal RSM ile optimizasyonu gerçekleştirilmiş ve ürün formülasyonlarının hem sıvı hem toz formda kapsamlı karakterizasyonu yapılmıştır. Çalışmadan elde edilen başlıca sonuçlar aşağıda özetlenmiştir.

Hammadde karakterizasyonu:

(i) Zeytin yaprağı ve üzüm posasının kuru madde içerikleri sırasıyla %92,20 ve %93,14 olarak belirlenmiş; su aktivitesi değerleri 0,246'nın altında kalarak her iki materyalin mikrobiyolojik güvenlik açısından depolamaya uygun olduğu doğrulanmıştır.

Ekstraksiyon optimizasyonu:

(ii) Zeytin yaprağı için I-Optimal RSM modelinin yüksek açıklayıcılık (R^2 = 0,9990) ve istatistiksel anlamlılık sergilediği; optimum koşulların %40 etanol, 36 °C ve 176 dk olduğu ve deneysel doğrulama göreceli hata yüzdesinin %0,74 ile %5 sınırının çok altında kaldığı saptanmıştır.

(iii) Üzüm posası antosiyanin ekstraksiyonunda da model yüksek doğruluk sergilemiş (R^2 = 0,9990); optimum koşullar %78 etanol, 59 °C ve 140 dk olarak belirlenmiş; deneysel doğrulama RE% = 1,20 ile başarıyla tamamlanmıştır. İki hammadde için belirlenen farklı optimum etanol konsantrasyonları (%40 vs %78), antosiyaninlerin zeytin yaprağı fenoliklerine kıyasla daha yüksek polariteli çözücü gerektirdiğini doğrulamaktadır.

(iv) Zeytin yaprağı HPLC profili oleuropeinin baskın bileşik olduğunu ortaya koymuştur (22009 mg/kg; toplam fenoliğin %92,2'si); hidroksitirozol, rutin, verbaskozit ve p-kumarik asit de tanımlanan diğer bileşikler arasında yer almıştır (toplam: 23.875 mg/kg). Üzüm posasında ise epikateşin (244 mg/kg; %34,3), kuersetin (212 mg/kg), rutin (172 mg/kg) ve gallik asit (75 mg/kg) başlıca bileşikler olarak saptanmış; toplam kantifiye edilen fenolik miktar 711,2 mg/kg olarak belirlenmiştir.

Formülasyon karakterizasyonu:

(v) Ekstrakt türünün pH, renk (L*, a*, b*, h°, C*), bulanıklık, sedimentasyon indeksi, toplam fenolik madde, toplam antosiyanin ve antioksidan kapasite parametrelerinin tamamında istatistiksel olarak belirleyici faktör olduğu saptanmıştır ($p < 0,001$).

(vi) Zeytin yaprağı formülasyonları daha yüksek toplam fenolik madde (28,40 mg GAE/100 mL) ve antioksidan kapasite (≈100 mg TE/100 mL); üzüm posası formülasyonları ise daha yüksek antosiyanin içeriği (0,81 mg/100 mL) ve bulanıklık değerleri (71,85 NTU) sergilemiştir.

(vii) Çilek aroması ilavesinin hiçbir fizikokimyasal veya biyoaktif parametreyi istatistiksel olarak anlamlı düzeyde etkilemediği belirlenmiştir. Bu bulgu, aromanın

yalnızca duyusal özellikler üzerinde etkili olduğunu ve formülasyonun fiziksel ile kimyasal bütünlüğünü bozmadığını kanıtlamaktadır.

Depolama stabilitesi:

(viii) Sıvı formülasyonlar 4 °C'de 7 günlük depolama boyunca tüm zaman noktalarında TGK mikrobiyolojik limitlerini aşmamış; renk, bulanıklık ve sedimentasyon değerlerinde gözlemlenen değişimler kabul edilebilir sınırlar içinde kalmıştır.
(ix) Toz formülasyonlar 25 °C'de 28 günlük depolama süresince yığın yoğunluğunda progresif artış sergilemiştir. Zeytin yaprağı grubu tüm süre boyunca kabul edilebilir akış sınıfını korurken, üzüm posası grubu 21. günden itibaren orta akış sınıfına geçiş yapmıştır; ancak hiçbir formülasyon zayıf akış sınıfına ulaşmamıştır. Çözünürlük ve ıslanabilirlik değerleri 28. gün sonunda da kabul edilebilir sınırlar içinde kalmıştır.

Bu çalışmadan elde edilen bulguların genel değerlendirmesi ve ileriki araştırmalara yönelik öneriler şu şekilde sıralanabilir:

— Üzüm posası formülasyonlarının fiziksel stabilitesinin artırılması amacıyla ürün pH'ının 3,5–4,0 aralığına çekilmesi veya kopigmentasyon tekniklerinin uygulanması değerlendirilebilir.

— Toz formülasyonların raf ömrünün uzatılması için modifiye atmosfer veya nem tutucu aktif ambalaj sistemlerinin kullanımı önerilebilir.

— Biyoyararlanım ve in vitro sindirim çalışmalarının eklenmesi, formülasyonların fonksiyonel iddialarının bilimsel altyapısını güçlendirecektir.

— Bu çalışmada geliştirilen formülasyon sisteminin farklı tarımsal yan ürün ekstraktlarına uyarlanabilirliğinin araştırılması, sürdürülebilir fonksiyonel gıda geliştirme alanına özgün katkı sağlayacaktır.

6. KAYNAKLAR

A., D. J. (1953). Factors Influencing the Properties of Spray-Dried Materials. *Chemical Engineering Progress*, *49*, 480–487. https://cir.nii.ac.jp/crid/1570572699261329664

Abdelwahed, W., Degobert, G., Stainmesse, S., & Fessi, H. (2006a). Freeze-drying of nanoparticles: Formulation, process and storage considerations. *Advanced Drug Delivery Reviews*, *58*(15), 1688–1713. https://doi.org/10.1016/j.addr.2006.09.017

Abdelwahed, W., Degobert, G., Stainmesse, S., & Fessi, H. (2006b). *Freeze-drying of nanoparticles: Formulation, process and storage considerations ☆*. https://doi.org/10.1016/j.addr.2006.09.017

Afacan, C., Karagoz, I. D., & Cakir, A. (2025). Antitumor Mechanisms of Olive Fruit Metabolites, Maslinic, and Oleanolic Acids on Lung Cancer Cells. *Russian Journal of Bioorganic Chemistry 2025 51:1*, *51*(1), 79–92. https://doi.org/10.1134/S1068162025010078

Aguilar, C. F., Sanderson, I., Moracci, M., Ciaramella, M., Nucci, R., Rossi, M., & Pearl, L. H. (1997). Crystal structure of the β-glycosidase from the hyperthermophilic archeon Sulfolobus solfataricus: resilience as a key factor in thermostability. *Journal of Molecular Biology*, *271*(5), 789–802. https://doi.org/10.1006/JMBI.1997.1215

Ahmed, T., Sabuz, A. A., Mohaldar, A., Fardows, H. M. S., Inbaraj, B. S., Sharma, M., Rana, M. R., & Sridhar, K. (2023). Development of Novel Whey-Mango Based Mixed Beverage: Effect of Storage on Physicochemical, Microbiological, and Sensory Analysis. *Foods 2023, Vol. 12, Page 237*, *12*(2), 237. https://doi.org/10.3390/FOODS12020237

Ajila, C. M., Aalami, M., Leelavathi, K., & Rao, U. J. S. P. (2010). Mango peel powder: A potential source of antioxidant and dietary fiber in macaroni preparations. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, *11*(1), 219–224. https://doi.org/10.1016/J.IFSET.2009.10.004

Ajila, C. M., Naidu, K. A., Bhat, S. G., & Rao, U. J. S. P. (2007). Bioactive compounds and antioxidant potential of mango peel extract. *Food Chemistry*, *105*(3), 982–988. https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2007.04.052

Akal, C., Koçak, C., Kanca, N., & Özer, B. (2022). Utilization of Reconstituted Whey Powder and Microbial Transglutaminase in Ayran (Drinking Yogurt) Production. *Food Technology and Biotechnology*, *60*(2), 253–265. https://doi.org/10.17113/FTB.60.02.22.7383

Al-Azzawie, H. F., & Alhamdani, M. S. S. (2006). Hypoglycemic and antioxidant effect of oleuropein in alloxan-diabetic rabbits. *Life Sciences*, *78*(12), 1371–1377. https://doi.org/10.1016/j.lfs.2005.07.029

Ali Salık, M., Çakmakçı, S., Üniversitesi, A., Fakültesi, Z., Mühendisliği Bölümü, G., & Geliş, T. (2021). ZEYTİN (Olea europaea L.) YAPRAĞININ FONKSİYONEL ÖZELLİKLERİ VE GIDALARDA KULLANIM POTANSİYELİ. *The Journal of Food*, *46*(6), 1481–1493. https://doi.org/10.15237/GIDA.GD21133

Alonso, Á. M., Guillén, D. A., Barroso, C. G., Puertas, B., & García, A. (2002). Determination of antioxidant activity of wine byproducts and its correlation with polyphenolic content. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *50*(21), 5832–5836. https://doi.org/10.1021/JF025683B

Alvarado Pérez, Y., Muro Urista, C., Maciel Cerda, A., Álvarez Sánchez, J., & Riera Rodríguez, F. (2018). Antihypertensive and Antioxidant Properties from Whey Protein Hydrolysates Produced by Encapsulated Bacillus subtilis Cells. *International Journal of Peptide Research and Therapeutics 2018 25:2*, *25*(2), 681–689. https://doi.org/10.1007/S10989-018-9714-9

Alvi, T., Khan, M. K. I., Maan, A. A., & Razzaq, Z. U. (2022). Date fruit as a promising source of functional carbohydrates and bioactive compounds: A review on its nutraceutical potential. *Journal of Food Biochemistry*, *46*(9), e14325. https://doi.org/10.1111/JFBC.14325;ISSUE:ISSUE:DOI

Ameer, K., Shahbaz, H. M., & Kwon, J. H. (2017). Green Extraction Methods for Polyphenols from Plant Matrices and Their Byproducts: A Review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, *16*(2), 295–315. https://doi.org/10.1111/1541-4337.12253

Ammar, A., Trabelsi, K., Bailey, S. J., Turki, M., Bragazzi, N. L., Boukhris, O., El Abed, K., Bouaziz, M., Ayadi, F., Driss, T., Souissi, N., Chtourou, H., & Hökelmann, A. (2020). Effects of natural polyphenol-rich pomegranate juice supplementation on plasma ion and lipid profiles following resistance exercise: a placebo-controlled trial. *Nutrition & Metabolism 2020 17:1*, *17*(1), 31-. https://doi.org/10.1186/S12986-020-00451-1

Andjelkovic1, M., Radovanović2, B., Radovanovi62, A., & Andjelkovic2, A. M. (n.d.). *Changes in Polyphenolic Content and Antioxidant Activity of Grapes cv Vranac During Ripening*.

Annual Report 2021 | UNEP - UN Environment Programme. (n.d.). Retrieved May 11, 2026, from https://www.unep.org/resources/annual-report-2021

Aouidi, F., Dupuy, N., Artaud, J., Roussos, S., Msallem, M., Perraud Gaime, I., & Hamdi, M. (2012). Rapid quantitative determination of oleuropein in olive leaves (Olea europaea) using mid-infrared spectroscopy combined with chemometric analyses. *Industrial Crops and Products*, *37*(1), 292–297. https://doi.org/10.1016/J.INDCROP.2011.12.024

Apak, R., Özyürek, M., Güçlü, K., & Çapanoğlu, E. (2016). Antioxidant Activity/Capacity Measurement. 1. Classification, Physicochemical Principles, Mechanisms, and Electron Transfer (ET)-Based Assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *64*(5), 997–1027. https://doi.org/10.1021/ACS.JAFC.5B04739

Arslan, D., & Özcan, M. M. (2011). Phenolic profile and antioxidant activity of olive fruits of the Turkish variety "Sariulak" from different locations. *Grasas y Aceites*, *62*(4), 453–461. https://doi.org/10.3989/GYA.034311

Augustin, M. A., & Sanguansri, P. (2009). Nanostructured materials in the food industry. *Advances in Food and Nutrition Research*, *58*, 183–213. https://doi.org/10.1016/S1043-4526(09)58005-9

Azeredo, D. R. P., Alvarenga, V., Sant'Ana, A. S., & Sabaa Srur, A. U. O. (2016). An overview of microorganisms and factors contributing for the microbial stability of carbonated soft drinks. *Food Research International*, *82*, 136–144. https://doi.org/10.1016/J.FOODRES.2016.01.024

Azman, E. M., Charalampopoulos, D., & Chatzifragkou, A. (2020). Acetic acid buffer as extraction medium for free and bound phenolics from dried blackcurrant (Ribes nigrum L.) skins. *Journal of Food Science*, *85*(11), 3745–3755. https://doi.org/10.1111/1750-3841.15466;PAGE:STRING:ARTICLE/CHAPTER

Baba, W. N., McClements, D. J., & Maqsood, S. (2021). Whey protein-polyphenol conjugates and complexes: Production, characterization, and applications. *Food Chemistry*, *365*. https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2021.130455

Badejo, A. A., Damilare, A., & Ojuade, T. D. (2014). Processing Effects on the Antioxidant Activities of Beverage Blends Developed from Cyperus esculentus, Hibiscus sabdariffa, and Moringa oleifera Extracts. *Preventive Nutrition and Food Science*, *19*(3), 227–233. https://doi.org/10.3746/PNF.2014.19.3.227

Bansal, V., Sharma, A., Ghanshyam, C., Singla, M. L., & Kim, K. H. (2015). Influence of pulsed electric field and heat treatment on Emblica officinalis juice inoculated with Zygosaccharomyces bailii. *Food and Bioproducts Processing*, *95*, 146–154. https://doi.org/10.1016/J.FBP.2015.05.005

Barbaccia, P., Gaglio, R., Guarcello, R., Francesca, N., Settanni, L., & Moschetti, G. (2019). *Development of an ad hoc starter culture for the production of functional raw ewes' milk cheeses through the addition of grape pomace powder*. 162–163. https://iris.unipa.it/handle/10447/379522

Barbosa-Cánovas, G., Fao, R., Altunakar, B., & Mejia-Lorio, D. (2005). *Freezing of fruits and vegetables. An agribusiness alternative for rural and semi-rural areas*.

Barbosa-Cánovas, G. V., & Vega-Mercado, H. (1996). Freeze Dehydration. *Dehydration of Foods*, 229–263. https://doi.org/10.1007/978-1-4757-2456-1_7

Başbakanlık Mevzuatı Geliştirme ve Yayın Genel Müdürlüğü. (n.d.). Retrieved May 11, 2026, from https://www.resmigazete.gov.tr/eskiler/2015/02/20150208-16.htm

Benavente-García, O., Castillo, J., Lorente, J., Ortuño, A., & Del Rio, J. A. (2000a). Antioxidant activity of phenolics extracted from Olea europaea L. leaves. *Food Chemistry*, *68*(4), 457–462. https://doi.org/10.1016/S0308-8146(99)00221-6

Benavente-García, O., Castillo, J., Lorente, J., Ortuño, A., & Del Rio, J. A. (2000b). Antioxidant activity of phenolics extracted from Olea europaea L. leaves. *Food Chemistry*, *68*(4), 457–462. https://doi.org/10.1016/S0308-8146(99)00221-6

Bender, A. B. B., Speroni, C. S., Moro, K. I. B., Morisso, F. D. P., dos Santos, D. R., da Silva, L. P., & Penna, N. G. (2020). Effects of micronization on dietary fiber composition, physicochemical properties, phenolic compounds, and antioxidant capacity of grape pomace and its dietary fiber concentrate. *LWT*, *117*, 108652. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108652

Beres, C., Costa, G. N. S., Cabezudo, I., da Silva-James, N. K., Teles, A. S. C., Cruz, A. P. G., Mellinger-Silva, C., Tonon, R. V., Cabral, L. M. C., & Freitas, S. P. (2017). Towards integral utilization of grape pomace from winemaking process: A review.

Waste Management (New York, N.Y.), *68*, 581–594. https://doi.org/10.1016/J.WASMAN.2017.07.017

Besediuk, V., Yatskov, M., Korchyk, N., Kucherova, A., & Maletskyi, Z. (2024). Whey - From waste to a valuable resource. *Journal of Agriculture and Food Research*, *18*. https://doi.org/10.1016/J.JAFR.2024.101280

Betoret, E., Betoret, N., Vidal, D., & Fito, P. (2011). *Functional foods development: Trends and technologies*. https://doi.org/10.1016/j.tifs.2011.05.004

Bezerra, M. A., Santelli, R. E., Oliveira, E. P., Villar, L. S., & Escaleira, L. A. (2008). Response surface methodology (RSM) as a tool for optimization in analytical chemistry. *Talanta*, *76*(5), 965–977. https://doi.org/10.1016/j.talanta.2008.05.019

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

Bilek, S. E. (2010). THE EFFECTS OF TIME, TEMPERATURE, SOLVENT: SOLID RATIO AND SOLVENT COMPOSITION ON EXTRACTION OF TOTAL PHENOLIC COMPOUND FROM DRIED OLIVE (Olea europaea L.) LEAVES. *Gıda*, *35*(6), 411–416. https://dergipark.org.tr/tr/pub/gida/article/92207

Boon, C. S., McClements, D. J., Weiss, J., & Decker, E. A. (2010). Factors influencing the chemical stability of carotenoids in foods. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, *50*(6), 515–532. https://doi.org/10.1080/10408390802565889

Borrajo, P., Pateiro, M., Barba, F. J., Mora, L., Franco, D., Toldrá, F., & Lorenzo, J. M. (n.d.). *Antioxidant and Antimicrobial Activity of Peptides Extracted from Meat By-products: a Review*. https://doi.org/10.1007/s12161-019-01595-4

Bosiljkov, T., Dujmić, F., Cvjetko Bubalo, M., Hribar, J., Vidrih, R., Brnčić, M., Zlatic, E., Radojčić Redovniković, I., & Jokić, S. (2017). Natural deep eutectic solvents and ultrasound-assisted extraction: Green approaches for extraction of wine lees anthocyanins. *Food and Bioproducts Processing*, *102*, 195–203. https://doi.org/10.1016/j.fbp.2016.12.005

Bouaziz, M., Grayer, R. J., Simmonds, M. S. J., Damak, M., & Sayadi, S. (2005). Identification and antioxidant potential of flavonoids and low molecular weight phenols in olive cultivar Chemlali growing in Tunisia. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *53*(2), 236–241. https://doi.org/10.1021/JF048859D

Bouaziz, M., Lassoued, S., Bouallagui, Z., Smaoui, S., Gargoubi, A., Dhouib, A., & Sayadi, S. (2008). Synthesis and recovery of high bioactive phenolics from table-olive brine process wastewater. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, *16*(20), 9238–9246. https://doi.org/10.1016/J.BMC.2008.09.012

Boudhrioua, N., Bahloul, N., Ben Slimen, I., & Kechaou, N. (2009). Comparison on the total phenol contents and the color of fresh and infrared dried olive leaves. *Industrial Crops and Products*, *29*(2–3), 412–419. https://doi.org/10.1016/J.INDCROP.2008.08.001

Boukroufa, M., Boutekedjiret, C., Petigny, L., Rakotomanomana, N., & Chemat, F. (2015). Bio-refinery of orange peels waste: A new concept based on integrated green

and solvent free extraction processes using ultrasound and microwave techniques to obtain essential oil, polyphenols and pectin. *Ultrasonics Sonochemistry*, *24*, 72–79. https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2014.11.015

Box, G. E. P. ., & Draper, N. Richard. (1987). *Empirical model-building and response surfaces*. Wiley.

Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Science and Technology*, *28*(1), 25–30. https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5

Brenes, M., García, A., García, P., Rios, J. J., & Garrido, A. (1999). Phenolic Compounds in Spanish Olive Oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *47*(9), 3535–3540. https://doi.org/10.1021/JF990009O

Briante, R., Patumi, M., Febbraio, F., & Nucci, R. (2004). Production of highly purified hydroxytyrosol from Olea europaea leaf extract biotransformed by hyperthermophilic β-glycosidase. *Journal of Biotechnology*, *111*(1), 67–77. https://doi.org/10.1016/J.JBIOTEC.2004.03.011

Briante, R., Patumi, M., Limongelli, S., Febbraio, F., Vaccaro, C., Di Salle, A., La Cara, F., & Nucci, R. (2002). Changes in phenolic and enzymatic activities content during fruit ripening in two Italian cultivars of Olea europaea L. *Plant Science*, *162*(5), 791–798. https://doi.org/10.1016/S0168-9452(02)00022-5

Cai, H., You, S., Xu, Z., Li, Z., Guo, J., Ren, Z., & Fu, C. (2021). Novel extraction methods and potential applications of polyphenols in fruit waste: a review. *Journal of Food Measurement and Characterization 2021 15:4*, *15*(4), 3250–3261. https://doi.org/10.1007/S11694-021-00901-1

Cardona, J. A., Wysocki, A. F., Talcott, S. T., Cardona, J. A., Wysocki, A. F., & Talcott, S. T. (2010). Economic Analysis of an Isolated Product Obtained from Muscadine Grape Pomace. *HortTechnology*, *20*(1), 160–168. https://doi.org/10.21273/HORTTECH.20.1.160

Carmona-Hernandez, J. C., Taborda-Ocampo, G., & González-Correa, C. H. (2021). Folin-Ciocalteu Reaction Alternatives for Higher Polyphenol Quantitation in Colombian Passion Fruits. *International Journal of Food Science*, *2021*(1), 8871301. https://doi.org/10.1155/2021/8871301

Carr, R. (1965). EVALUATING FLOW PROPERTIES OF SOLIDS. *Chemical Engineering*.

Casazza, A. A., Aliakbarian, B., Sannita, E., & Perego, P. (2012). High-pressure high-temperature extraction of phenolic compounds from grape skins. *International Journal of Food Science and Technology*, *47*(2), 399–405. https://doi.org/10.1111/J.1365-2621.2011.02853.X;SUBPAGE:STRING:ABSTRACT;REQUESTEDJOURNAL:JOURNAL:13652621;WGROUP:STRING:PUBLICATION

Castañeda-Ovando, A., Pacheco-Hernández, M. de L., Páez-Hernández, M. E., Rodríguez, J. A., & Galán-Vidal, C. A. (2009). Chemical studies of anthocyanins: A review. *Food Chemistry*, *113*(4), 859–871. https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2008.09.001

Castellano, G., Tena, J., & Torrens, F. (2012). *Classification of Phenolic Compounds by Chemical Structural Indicators and Its Relation to Antioxidant Properties of Posidonia Oceanica (L.) Delile*.

Cejudo-Bastante, C., Arjona-Mudarra, P., Fernández-Ponce, M. T., Casas, L., Mantell, C., Martínez de la Ossa, E. J., & Pereyra, C. (2021). Application of a natural antioxidant from grape pomace extract in the development of bioactive jute fibers for food packaging. *Antioxidants*, *10*(2), 1–15. https://doi.org/10.3390/ANTIOX10020216

Celma, A. R., Rojas, S., & López-Rodríguez, F. (2007). Waste-to-energy possibilities for industrial olive and grape by-products in Extremadura. *Biomass and Bioenergy*, *31*(7), 522–534. https://doi.org/10.1016/J.BIOMBIOE.2006.08.007

Cilli, L. P., Contini, L. R. F., Sinnecker, P., Lopes, P. S., Andreo, M. A., Neiva, C. R. P., Nascimento, M. S., Yoshida, C. M. P., & Venturini, A. C. (2020). Effects of grape pomace flour on quality parameters of salmon burger. *Journal of Food Processing and Preservation*, *44*(2). https://doi.org/10.1111/JFPP.14329

D. C. Montgomery. (2017). Design and Analysis of Experiments, John Wiley & Sons. *Mycological Research*, *106*(11), 1323–1330.

da Silva, G. V., Machado, B. A. S., de Oliveira, W. P., da Silva, C. F. G., de Quadros, C. P., Druzian, J. I., de Souza Ferreira, E., & Umsza-Guez, M. A. (2020). Effect of Drying Methods on Bioactive Compounds and Antioxidant Capacity in Grape Skin Residues from the New Hybrid Variety "BRS Magna." *Molecules 2020, Vol. 25, Page 3701*, *25*(16), 3701. https://doi.org/10.3390/MOLECULES25163701

Dai, J., & Mumper, R. J. (2010). Plant Phenolics: Extraction, Analysis and Their Antioxidant and Anticancer Properties. *Molecules 2010, Vol. 15, Pages 7313-7352*, *15*(10), 7313–7352. https://doi.org/10.3390/MOLECULES15107313

Debnath, B., Haldar, D., & Purkait, M. K. (2021). Potential and sustainable utilization of tea waste: A review on present status and future trends. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, *9*(5), 106179. https://doi.org/10.1016/J.JECE.2021.106179

Deboni, T. M., Bündchen, M., Junior, C. V., Hotza, D., Piletti, R., & Quadri, M. G. N. (2013). Effect of the Processing Steps on Cactus Juice Production. *Food and Bioprocess Technology 2013 7:4*, *7*(4), 990–1000. https://doi.org/10.1007/S11947-013-1098-4

Ding, X., Zhang, H., Chen, H., Wang, L., Qian, H., & Qi, X. (2015). Extraction, purification and identification of antifreeze proteins from cold acclimated malting barley (Hordeum vulgare L.). *Food Chem*, *175*, 74–85. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.11.027

Djurić, M., Carić, M., Milanović, S., Tekić, M., & Panić, M. (2004a). Development of whey-based beverages. *European Food Research and Technology 2004 219:4*, *219*(4), 321–328. https://doi.org/10.1007/S00217-004-0950-1

Djurić, M., Carić, M., Milanović, S., Tekić, M., & Panić, M. (2004b). Development of whey-based beverages. *European Food Research and Technology 2004 219:4*, *219*(4), 321–328. https://doi.org/10.1007/S00217-004-0950-1

Donsì, G., Ferrari, G., & Di Matteo, P. (2001). Utilization of combined processes in freeze-drying of shrimps. *Food and Bioproducts Processing: Transactions of the Institution of of Chemical Engineers, Part C*, *79*(3), 152–159. https://doi.org/10.1205/096030801750425244

Dos Santos Martins, R. A., Silva, S. C. R., de Souza Silva, A. R., Peres, A. P., Puerari, C., Bento, J. A. C., & Morzelle, M. C. (2025). Incorporation strategies of grape pomace in fermented milk: effects on stability, bioactivity, and consumer acceptance. *International Journal of Food Science and Technology*, *60*(2). https://doi.org/10.1093/IJFOOD/VVAF219

Doymaz, I., & Akgün, N. A. (2009). Study of thin-layer drying of grape wastes. *Chemical Engineering Communications*, *196*(7), 890–900. https://doi.org/10.1080/00986440802668422

Drosou, C., Kyriakopoulou, K., Bimpilas, A., Tsimogiannis, D., & Krokida, M. (2015). A comparative study on different extraction techniques to recover red grape pomace polyphenols from vinification byproducts. *Industrial Crops and Products*, *75*, 141–149. https://doi.org/10.1016/J.INDCROP.2015.05.063

Duan, X., Yang, X., Ren, G., Pang, Y., Liu, L., & Liu, Y. (2016). Technical aspects in freeze-drying of foods. *Drying Technology*, *34*(11), 1271–1285. https://doi.org/10.1080/07373937.2015.1099545

El-Aidie, S. A. M., & Khalifa, G. S. A. (2024). Innovative applications of whey protein for sustainable dairy industry: Environmental and technological perspectives—A comprehensive review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, *23*(2), e13319. https://doi.org/10.1111/1541-4337.13319;ISSUE:ISSUE:DOI

Enaru, B., Drețcanu, G., Pop, T. D., Stănilă, A., & Diaconeasa, Z. (2021). Anthocyanins: Factors Affecting Their Stability and Degradation. *Antioxidants*, *10*(12), 1967. https://doi.org/10.3390/ANTIOX10121967

Encinar, J., Beltrán, F., González, J. F., & Moreno, M. (1997). Pyrolysis of maize, sunflower, grape and tobacco residues. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*. https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-4660(199712)70:4

Espeso, J., Isaza, A., Lee, J. Y., Sörensen, P. M., Jurado, P., Avena-Bustillos, R. de J., Olaizola, M., & Arboleya, J. C. (2021). Olive Leaf Waste Management. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, *5*, 660582. https://doi.org/10.3389/FSUFS.2021.660582/TEXT

Fabbri, A., Galaverna, G., & Ganino, T. (2008). Polyphenol composition of olive leaves with regard to cultivar, time of collection and shoot type. *Acta Horticulturae*, *791 PART 2*, 459–464. https://doi.org/10.17660/ACTAHORTIC.2008.791.69

Faccioli, L. S., Klein, M. P., Borges, G. R., Dalanhol, C. S., Machado, I. C. K., Garavaglia, J., & Dal Bosco, S. M. (2021). Development of crackers with the addition of olive leaf flour (Olea europaea L.): Chemical and sensory characterization. *LWT*, *141*, 110848. https://doi.org/10.1016/J.LWT.2021.110848

FAO (2014). Food Wastage Footprint Fool Cost-Accounting. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). - References - Scientific Research

Publishing. (n.d.). Retrieved May 11, 2026, from https://www.scirp.org/reference/referencespapers?referenceid=3563118

Fellows, P. . (2011). *Food processing technology : principles and practice*. CRC Press : Woodhead Pub.

Ferreira, I. C. F. R., Heleno, S. A., Reis, F. S., Stojkovic, D., Queiroz, M. J. R. P., Vasconcelos, M. H., & Sokovic, M. (2015). Chemical features of Ganoderma polysaccharides with antioxidant, antitumor and antimicrobial activities. *Phytochemistry*, *114*, 38–55. https://doi.org/10.1016/J.PHYTOCHEM.2014.10.011

Ferreira, P. R., Marins, J. C. B., de Oliveira, L. L., Bastos, D. S. S., Soares Júnior, D. T., da Silva, C. D., & Fontes, E. A. F. (2020). Beverage based on whey permeate with phenolic extract of jabuticaba peel: A pilot study on effects on muscle and oxidative stress in trained individuals. *Journal of Functional Foods*, *65*, 103749. https://doi.org/10.1016/J.JFF.2019.103749

Ferrer, J., Páez, G., Mármol, Z., Ramones, E., Chandler, C., Marín, M., & Ferrer, A. (2001). Agronomic use of biotechnologically processed grape wastes. *Bioresource Technology*, *76*(1), 39–44. https://doi.org/10.1016/S0960-8524(00)00076-6

Ficarra, P., Ficarra, R., De Pasquale, A., Monforte, M. T., & Calabro, M. L. (1991). HPLC analysis of oleuropein and some flavonoids in leaf and bud of Olea europaea L. *Farmaco*, *46*(6), 803–815. https://www.scopus.com/pages/publications/0026346440

Folin, O., & Ciocalteu, V. (1927). ON TYROSINE AND TRYPTOPHANE DETERMINATIONS IN PROTEINS. *Journal of Biological Chemistry*, *73*(2), 627–650. https://doi.org/10.1016/S0021-9258(18)84277-6

Fonte, P., Andrade, F., Azevedo, C., Pinto, J., Seabra, V., van de Weert, M., Reis, S., & Sarmento, B. (2016). Effect of the Freezing Step in the Stability and Bioactivity of Protein-Loaded PLGA Nanoparticles Upon Lyophilization. *Pharmaceutical Research 2016 33:11*, *33*(11), 2777–2793. https://doi.org/10.1007/S11095-016-2004-3

Foti, M. C., Daquino, C., & Geraci, C. (2004). Electron-Transfer Reaction of Cinnamic Acids and Their Methyl Esters with the DPPH• Radical in Alcoholic Solutions. *Journal of Organic Chemistry*, *69*(7), 2309–2314. https://doi.org/10.1021/JO035758Q

Frakolaki, G., Giannou, V., Kekos, D., & Tzia, C. (2021). A review of the microencapsulation techniques for the incorporation of probiotic bacteria in functional foods. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, *61*(9), 1515–1536. https://doi.org/10.1080/10408398.2020.1761773

Frankel, E. N., German, J. B., Kinsella, J. E., Parks, E., & Kanner, J. (1993). Inhibition of oxidation of human low-density lipoprotein by phenolic substances in red wine. *The Lancet*, *341*(8843), 454–457. https://doi.org/10.1016/0140-6736(93)90206-V

Galan, A. M., Calinescu, I., Trifan, A., Winkworth-Smith, C., Calvo-Carrascal, M., Dodds, C., & Binner, E. (2017). New insights into the role of selective and volumetric heating during microwave extraction: Investigation of the extraction of polyphenolic compounds from sea buckthorn leaves using microwave-assisted

extraction and conventional solvent extraction. *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification*, *116*, 29–39. https://doi.org/10.1016/J.CEP.2017.03.006

Galanakis, C. M. (2012). Recovery of high added-value components from food wastes: Conventional, emerging technologies and commercialized applications. *Trends in Food Science and Technology*, *26*(2), 68–87. https://doi.org/10.1016/J.TIFS.2012.03.003

Ganea, M., Georgiana Ioana, P. C., Ghitea, T. C., Ștefan, L., Groza, F., Frent, O. D., Nagy, C., Iova, C. S., Schwarz-Madar, A. F., Ciavoi, G., Vicas, L. G., Constanta, P. D., & Moisa, C. (2025). Development and Evaluation of Gelatin-Based Gummy Jellies Enriched with Oregano Oil: Impact on Functional Properties and Controlled Release. *Foods 2025, Vol. 14, Page 479*, *14*(3), 479. https://doi.org/10.3390/FOODS14030479

Ganesh, K. S., Sridhar, A., & Vishali, S. (2022). Utilization of fruit and vegetable waste to produce value-added products: Conventional utilization and emerging opportunities-A review. *Chemosphere*, *287*, 132221. https://doi.org/10.1016/J.CHEMOSPHERE.2021.132221

Gao, J., Lv, S., Li, C., Tao, J., Jia, C., Jiang, M., Hou, Y., Hou, X., Deng, J., & Bai, G. (2017). Bioactivity-based antioxidative components screening and evaluation in grape seed proanthocyanidin extract. *Journal of Food Science and Technology 2017 54:9*, *54*(9), 2645–2652. https://doi.org/10.1007/S13197-017-2692-7

García-Beneytez, E., Cabello, F., & Revilla, E. (2003). Analysis of Grape and Wine Anthocyanins by HPLC-MS. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *51*(19), 5622–5629. https://doi.org/10.1021/JF0302207

Georgiev, V., Ananga, A., & Tsolova, V. (2014). Recent Advances and Uses of Grape Flavonoids as Nutraceuticals. *Nutrients*, *6*(1), 391–415. https://doi.org/10.3390/nu6010391

Gezginç, Y., & Ersoy, P. (2022). Farklı Salamura Konsantrasyonlarında Sofralık Yeşil Zeytin Üretimi ve Ürünün Kimyasal ve Mikrobiyolojik Özelliklerinin Belirlenmesi. *ANADOLU Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü Dergisi*, *32*(1), 28–39. https://doi.org/10.18615/ANADOLU.1129941

Gharekhani, M., Ghorbani, M., & Rasoulnejad, N. (2012). Microwave-assisted extraction of phenolic and flavonoid compounds from Eucalyptus camaldulensis Dehn leaves as compared with ultrasound-assisted extraction. *Latin American Applied Research*, *42*(3), 305–310. https://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0327-07932012000300013&lng=es&nrm=iso&tlng=en

Ghomari, O., Sounni, F., Massaoudi, Y., Ghanam, J., Drissi Kaitouni, L. B., Merzouki, M., & Benlemlih, M. (2019). Phenolic profile (HPLC-UV) of olive leaves according to extraction procedure and assessment of antibacterial activity. *Biotechnology Reports*, *23*, e00347. https://doi.org/10.1016/J.BTRE.2019.E00347

Giusti, M. M., & Wrolstad, R. E. (2001). Characterization and Measurement of Anthocyanins by UV-Visible Spectroscopy. *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*, *00*(1). https://doi.org/10.1002/0471142913.FAF0102S00

GN Patel, N. J., GN Patel, R. V, Kumar Patel, A. G., Singh, S., Kumar Jaipal, M., Dixit, A., & Kumar, A. (2023). Development of protein enriched whey-bael beverage and its evaluation for antioxidant potential. *~ 254 ~ The Pharma Innovation Journal*, *12*(1), 254–259. https://doi.org/10.22271/tpi.2023.v12.i1c.19197

Gómez-García, R., Campos, D. A., Aguilar, C. N., Madureira, A. R., & Pintado, M. (2021). Valorisation of food agro-industrial by-products: From the past to the present and perspectives. *Journal of Environmental Management*, *299*. https://doi.org/10.1016/J.JENVMAN.2021.113571

Gong, Z., Zhang, M., & Sun, J. (2007). Physico-Chemical Properties of Cabbage Powder as Affected by Drying Methods. *Drying Technology*, *25*(5), 913–916. https://doi.org/10.1080/07373930701372239

Goos, P., & Jones, B. (2011). Optimal Design of Experiments: A Case Study Approach. *Optimal Design of Experiments: A Case Study Approach*. https://doi.org/10.1002/9781119974017

Goudarzi, M., Madadlou, A., Mousavi, M. E., & Emam-Djomeh, Z. (2015). Formulation of apple juice beverages containing whey protein isolate or whey protein hydrolysate based on sensory and physicochemical analysis. *International Journal of Dairy Technology*, *68*(1), 70–78. https://doi.org/10.1111/1471-0307.12155;JOURNAL:JOURNAL:14710307;PAGE:STRING:ARTICLE/CHAPTER

Gouw, V. P., Jung, J., & Zhao, Y. (2017). Functional properties, bioactive compounds, and in vitro gastrointestinal digestion study of dried fruit pomace powders as functional food ingredients. *LWT*, *80*, 136–144. https://doi.org/10.1016/J.LWT.2017.02.015

Granato, D., Barba, F. J., Bursać Kovačević, D., Lorenzo, J. M., Cruz, A. G., & Putnik, P. (2020). Functional Foods: Product Development, Technological Trends, Efficacy Testing, and Safety. *Annual Review of Food Science and Technology*, *11*(Volume 11, 2020), 93–118. https://doi.org/10.1146/ANNUREV-FOOD-032519-051708/CITE/REFWORKS

Granato, D., Branco, G. F., Nazzaro, F., Cruz, A. G., & Faria, J. A. F. (2010). Functional Foods and Nondairy Probiotic Food Development: Trends, Concepts, and Products. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, *9*(3), 292–302. https://doi.org/10.1111/J.1541-4337.2010.00110.X

Guinda, Á., Castellano, J. M., Santos-Lozano, J. M., Delgado-Hervás, T., Gutiérrez-Adánez, P., & Rada, M. (2015). Determination of major bioactive compounds from olive leaf. *LWT*, *64*(1), 431–438. https://doi.org/10.1016/J.LWT.2015.05.001

Gülçin, I. (2011). Antioxidant activity of food constituents: an overview. *Archives of Toxicology 2011 86:3*, *86*(3), 345–391. https://doi.org/10.1007/S00204-011-0774-2

Gustavo V. Barbosa-Cánovas, Enrique Ortega-Rivas, Pablo Juliano, & Hong Yan. (2005). *Food Powders*. Springer US. https://doi.org/10.1007/0-387-27613-0

Gyawali, R., & Ibrahim, S. A. (2014). Natural products as antimicrobial agents. *Food Control*, *46*, 412–429. https://doi.org/10.1016/J.FOODCONT.2014.05.047

Haas, J., Kim, B. J., Atamer, Z., Wu, C., & Dallas, D. C. (2024). Effects of spray drying and freeze drying on the protein profile of whey protein concentrate. *Journal of Food Science*, *89*(11), 7477–7493. https://doi.org/10.1111/1750-3841.17349;ISSUE:ISSUE:DOI

Hasler, C. M. (2002). Functional foods: Benefits, concerns and challenges - A position paper from the American Council on Science and Health. *Journal of Nutrition*, *132*(12), 3772–3781. https://doi.org/10.1093/jn/132.12.3772

Hasler, C. M., & Brown, A. C. (2009). Position of the American Dietetic Association: functional foods. *Journal of the American Dietetic Association*, *109*(4), 735–746. https://doi.org/10.1016/j.jada.2009.02.023

Havea, P., Singh, H., & Creamer, L. K. (2002). Heat-induced aggregation of whey proteins: comparison of cheese WPC with acid WPC and relevance of mineral composition. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *50*(16), 4674–4681. https://doi.org/10.1021/JF011583E

He, J., & Monica Giusti, M. (2010). Anthocyanins: Natural colorants with health-promoting properties. *Annual Review of Food Science and Technology*, *1*(1), 163–187. https://doi.org/10.1146/ANNUREV.FOOD.080708.100754/CITE/REFWORKS

Hernández, Y., Lobo, M. G., & González, M. (2009). Factors affecting sample extraction in the liquid chromatographic determination of organic acids in papaya and pineapple. *Food Chemistry*, *114*(2), 734–741. https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2008.10.021

Horszwald, A., Julien, H., & Andlauer, W. (2013). Characterisation of Aronia powders obtained by different drying processes. *Food Chemistry*, *141*(3), 2858–2863. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.05.103

Hsu, C. L., Chen, W., Weng, Y. M., & Tseng, C. Y. (2003). Chemical composition, physical properties, and antioxidant activities of yam flours as affected by different drying methods. *Food Chemistry*, *83*(1), 85–92. https://doi.org/10.1016/S0308-8146(03)00053-0

Iordache, M., & Jelen, P. (2003). High pressure microfluidization treatment of heat denatured whey proteins for improved functionality. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, *4*(4), 367–376. https://doi.org/10.1016/S1466-8564(03)00061-4

Irakli, M., Chatzopoulou, P., & Ekateriniadou, L. (2018). Optimization of ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds: Oleuropein, phenolic acids, phenolic alcohols and flavonoids from olive leaves and evaluation of its antioxidant activities. *Industrial Crops and Products*, *124*, 382–388. https://doi.org/10.1016/J.INDCROP.2018.07.070

Isleten, M., & Karagul-Yuceer, Y. (2006). Effects of Dried Dairy Ingredients on Physical and Sensory Properties of Nonfat Yogurt. *Journal of Dairy Science*, *89*(8), 2865–2872. https://doi.org/10.3168/JDS.S0022-0302(06)72559-0

Ivanova, A. V., Gerasimova, E. L., & Brainina, K. Z. (2015). Potentiometric study of antioxidant activity: development and prospects. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, *45*(4), 311–322. https://doi.org/10.1080/10408347.2014.910443

Ivanova, V., & Stefova, M. (2011). *Phenolic Bioactives in Grapes and Grape-Based Products*.

Ivanovic, J., Tadic, V., Dimitrijevic, S., Stamenic, M., Petrovic, S., & Zizovic, I. (2014). Antioxidant properties of the anthocyanin-containing ultrasonic extract from blackberry cultivar " ˇ Začanska Bestrna." *Industrial Crops and Products*, *53*, 274–281. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2013.12.048

Jamaludin, H., Elmaky, H. S. E., & Sulaiman, S. (2022). The future of food waste: Application of circular economy. *Energy Nexus*, *7*. https://doi.org/10.1016/J.NEXUS.2022.100098

Japón-Luján, R., & Luque de Castro, M. D. (2006). Superheated liquid extraction of oleuropein and related biophenols from olive leaves. *Journal of Chromatography A*, *1136*(2), 185–191. https://doi.org/10.1016/J.CHROMA.2006.09.081

Jeličić, I., Božanić, R., & Tratnik, L. (2008). Whey based beverages - new generation of dairy products. *Mljekarstvo : Dairy Experts Journal*, *58*(3), 257–274.

Jemai, H., Feki, A. E. L., & Sayadi, S. (2009). Antidiabetic and Antioxidant Effects of Hydroxytyrosol and Oleuropein from Olive Leaves in Alloxan-Diabetic Rats. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *57*(19), 8798–8804. https://doi.org/10.1021/JF901280R

Jiménez-Aguilar, D. M., & Grusak, M. A. (2017). Minerals, vitamin C, phenolics, flavonoids and antioxidant activity of Amaranthus leafy vegetables. *Journal of Food Composition and Analysis*, *58*, 33–39. https://doi.org/10.1016/J.JFCA.2017.01.005

Jin, X. D., Wu, X., & Liu, X. (2017). Phenolic characteristics and antioxidant activity of merlot and cabernet sauvignon wines increase with vineyard altitude in a high-altitude region. *South African Journal of Enology and Viticulture*, *38*(2), 132–143. https://doi.org/10.21548/38-2-1068

Jinapong, N., Suphantharika, M., & Jamnong, P. (2008). Production of instant soymilk powders by ultrafiltration, spray drying and fluidized bed agglomeration. *Journal of Food Engineering*, *84*(2), 194–205. https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2007.04.032

Karadag, A., Ozcelik, B., & Saner, S. (2009). Review of methods to determine antioxidant capacities. *Food Analytical Methods*, *2*(1), 41–60. https://doi.org/10.1007/S12161-008-9067-7

Kaur, S., & Das, M. (2011). Functional foods: An overview. *Food Science and Biotechnology*, *20*(4), 861–875. https://doi.org/10.1007/S10068-011-0121-7

Khandpur, P., & Gogate, P. R. (2015). Effect of novel ultrasound based processing on the nutrition quality of different fruit and vegetable juices. *Ultrasonics Sonochemistry*, *27*, 125–136. https://doi.org/10.1016/J.ULTSONCH.2015.05.008

Khelouf, I., Karoui, I. J., Lakoud, A., Hammami, M., & Abderrabba, M. (2023). Comparative chemical composition and antioxidant activity of olive leaves Olea europaea L. of Tunisian and Algerian varieties. *Heliyon*, *9*(12), e22217. https://doi.org/10.1016/J.HELIYON.2023.E22217

Khoddami, A., Wilkes, M. A., & Roberts, T. H. (2013). Techniques for analysis of plant phenolic compounds. *Molecules (Basel, Switzerland)*, *18*(2), 2328–2375. https://doi.org/10.3390/MOLECULES18022328

Khoo, H. E., Azlan, A., Tang, S. T., & Lim, S. M. (2017). Anthocyanidins and anthocyanins: colored pigments as food, pharmaceutical ingredients, and the potential health benefits. *Food & Nutrition Research*, *61*(1), 1361779. https://doi.org/10.1080/16546628.2017.1361779

Kowalczyk, P., Kaczyńska, K., Kleczkowska, P., Bukowska-ośko, I., Kramkowski, K., & Sulejczak, D. (2022). The Lactoferrin Phenomenon—A Miracle Molecule. *Molecules*, *27*(9), 2941. https://doi.org/10.3390/MOLECULES27092941

Kregiel, D. (2015). Health Safety of Soft Drinks: Contents, Containers, and Microorganisms. *BioMed Research International*, *2015*, 128697. https://doi.org/10.1155/2015/128697

Kucharska-Guzik, A., Guzik, Ł., Charzyńska, A., & Michalska-Ciechanowska, A. (2025). Influence of Freeze Drying and Spray Drying on the Physical and Chemical Properties of Powders from Cistus creticus L. Extract. *Foods*, *14*(5), 849. https://doi.org/10.3390/FOODS14050849/S1

Kumar, N., & Goel, N. (2019). Phenolic acids: Natural versatile molecules with promising therapeutic applications. *Biotechnology Reports*, *24*. https://doi.org/10.1016/j.btre.2019.e00370

Kurek, M., Benaida-Debbache, N., Garofulić, I. E., Galić, K., Avallone, S., Voilley, A., & Waché, Y. (2022). Antioxidants and Bioactive Compounds in Food: Critical Review of Issues and Prospects. *Antioxidants*, *11*(4), 742. https://doi.org/10.3390/ANTIOX11040742

KURT, A. (1980). *Süt teknolojisi*. http://earsiv.atauni.edu.tr/xmlui/handle/123456789/532

Labuza, T. P., & Altunakar, L. (2007). Water Activity Prediction and Moisture Sorption Isotherms. In *Water Activity in Foods* (pp. 109–154). Wiley. https://doi.org/10.1002/9780470376454.ch5

Landi, M., Tattini, M., & Gould, K. S. (2015). Multiple functional roles of anthocyanins in plant-environment interactions. *Environmental and Experimental Botany*, *119*, 4–17. https://doi.org/10.1016/J.ENVEXPBOT.2015.05.012

Lao, F., & Giusti, M. M. (2018). Extraction of purple corn (Zea mays L.) cob pigments and phenolic compounds using food-friendly solvents. *Journal of Cereal Science*, *80*, 87–93. https://doi.org/10.1016/J.JCS.2018.01.001

Lapornik, B., Prošek, M., & Wondra, A. G. (2005). Comparison of extracts prepared from plant by-products using different solvents and extraction time. *Journal of Food Engineering*, *71*(2), 214–222. https://doi.org/10.1016/J.JFOODENG.2004.10.036

Laura, Lady, Osorio, D. R., Flórez-López, E., David Grande-Tovar, C., Flórez-López, E. ;, Grande-Tovar, C. D., & Trombetta, D. (2021). The Potential of Selected Agri-Food Loss and Waste to Contribute to a Circular Economy: Applications in the Food, Cosmetic and Pharmaceutical Industries. *Molecules 2021, Vol. 26, Page 515*, *26*(2), 515. https://doi.org/10.3390/MOLECULES26020515

Le Tutour, B., & Guedon, D. (1992). Antioxidative activities of Olea europaea leaves and related phenolic compounds. *Phytochemistry*, *31*(4), 1173–1178. https://doi.org/10.1016/0031-9422(92)80255-D

Lee, J., Durst, R. W., Wrolstad, R. E., Barnes, K. W., Eisele, ; T, Giusti, ; M M, Haché, ; J, Hofsommer, ; H, Koswig, ; S, Krueger, D. A., Kupina, ; S, Martin, ; S K, Martinsen, ; B K, Miller, T. C., Paquette, ; F, Ryabkova, ; A, Skrede, ; G, Trenn, ; U, & Wightman, J. D. (2005). Determination of Total Monomeric Anthocyanin Pigment Content of Fruit Juices, Beverages, Natural Colorants, and Wines by the pH Differential Method: Collaborative Study. *Journal of AOAC INTERNATIONAL*, *88*(5), 1269–1278. https://doi.org/10.1093/JAOAC/88.5.1269

Lee, J. E., Jayakody, J. T. M., Kim, J. Il, Jeong, J. W., Choi, K. M., Kim, T. S., Seo, C., Azimi, I., Hyun, J. M., & Ryu, B. M. (2024). The Influence of Solvent Choice on the Extraction of Bioactive Compounds from Asteraceae: A Comparative Review. *Foods*, *13*(19), 3151. https://doi.org/10.3390/FOODS13193151/S1

Leichtweis, M. G., Oliveira, M. B. P. P., Ferreira, I. C. F. R., Pereira, C., & Barros, L. (2021). Sustainable Recovery of Preservative and Bioactive Compounds from Food Industry Bioresidues. *Antioxidants*, *10*(11), 1827. https://doi.org/10.3390/ANTIOX10111827

Libera, J., Latoch, A., & Wójciak, K. M. (2020). Utilization of Grape Seed Extract as a Natural Antioxidant in the Technology of Meat Products Inoculated with a Probiotic Strain of LAB. *Foods (Basel, Switzerland)*, *9*(1). https://doi.org/10.3390/FOODS9010103

Liu, F. F., Ang, C. Y. W., & Springer, D. (2000). Optimization of Extraction Conditions for Active Components in Hypericum perforatum Using Response Surface Methodology. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *48*(8), 3364–3371. https://doi.org/10.1021/JF991086M

LIYANAPATHIRANA, C., & SHAHIDI, F. (2005). Optimization of extraction of phenolic compounds from wheat using response surface methodology. *Food Chemistry*, *93*(1), 47–56. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.08.050

López-Froilán, R., Hernández-Ledesma, B., Cámara, M., & Pérez-Rodríguez, M. L. (2018). Evaluation of the Antioxidant Potential of Mixed Fruit-Based Beverages: a New Insight on the Folin-Ciocalteu Method. *Food Analytical Methods*, *11*(10), 2897–2906. https://doi.org/10.1007/S12161-018-1259-1

Lorenzo, J. M., Pateiro, M., Domínguez, R., Barba, F. J., Putnik, P., Kovačević, D. B., Shpigelman, A., Granato, D., & Franco, D. (2018). Berries extracts as natural antioxidants in meat products: A review. *Food Research International*, *106*, 1095–1104. https://doi.org/10.1016/J.FOODRES.2017.12.005

Majerska, J., Michalska, A., & Figiel, A. (2019). A review of new directions in managing fruit and vegetable processing by-products. *Trends in Food Science & Technology*, *88*, 207–219. https://doi.org/10.1016/J.TIFS.2019.03.021

Malheiro, R., Mendes, P., Fernandes, F., Rodrigues, N., Bento, A., & Pereira, J. A. (2014). Bioactivity and phenolic composition from natural fermented table olives. *Food & Function*, *5*(12), 3132–3142. https://doi.org/10.1039/C4FO00560K

Markhali, F. S., Teixeira, J. A., & Rocha, C. M. R. (2020). Olive Tree Leaves—A Source of Valuable Active Compounds. *Processes 2020, Vol. 8, Page 1177*, *8*(9), 1177. https://doi.org/10.3390/PR8091177

Markhali, F. S., Teixeira, J. A., & Rocha, C. M. R. (2022). Effect of Ohmic Heating on the Extraction Yield, Polyphenol Content and Antioxidant Activity of Olive Mill Leaves. *Clean Technologies 2022, Vol. 4, Pages 512-528*, *4*(2), 512–528. https://doi.org/10.3390/CLEANTECHNOL4020031

Martín-García, B., Pimentel-Moral, S., Gómez-Caravaca, A. M., Arráez-Román, D., & Segura-Carretero, A. (2020). Box-Behnken experimental design for a green extraction method of phenolic compounds from olive leaves. *Industrial Crops and Products*, *154*. https://doi.org/10.1016/J.INDCROP.2020.112741

Matthäus, B. (2008). Virgin grape seed oil: Is it really a nutritional highlight? *European Journal of Lipid Science and Technology*, *110*(7), 645–650. https://doi.org/10.1002/EJLT.200700276;SUBPAGE:STRING:ABSTRACT;WEBSITE:WEBSITE:PERICLES;ISSUE:ISSUE:DOI

McClements, D. J. (1995). Advances in the application of ultrasound in food analysis and processing. *Trends in Food Science and Technology*, *6*(9), 293–299. https://doi.org/10.1016/S0924-2244(00)89139-6

Mehra, R., Kumar, H., Kumar, N., Ranvir, S., Jana, A., Buttar, H. S., Telessy, I. G., Awuchi, C. G., Okpala, C. O. R., Korzeniowska, M., & Guiné, R. F. P. (2021). Whey proteins processing and emergent derivatives: An insight perspective from constituents, bioactivities, functionalities to therapeutic applications. *Journal of Functional Foods*, *87*. https://doi.org/10.1016/J.JFF.2021.104760

Meyer, A. S., Jepsen, S. M., & Sørensen, N. S. (1998). Enzymatic Release of Antioxidants for Human Low-Density Lipoprotein from Grape Pomace. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *46*(7), 2439–2446. https://doi.org/10.1021/JF971012F

Mildner-Szkudlarz, S., Bajerska, J., Zawirska-Wojtasiak, R., & Górecka, D. (2013). White grape pomace as a source of dietary fibre and polyphenols and its effect on physical and nutraceutical characteristics of wheat biscuits. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *93*(2), 389–395. https://doi.org/10.1002/JSFA.5774

Mirzakulova, A., Sarsembaeva, T., Suleimenova, Z., Kowalski, Ł., Gajdzik, B., Wolniak, R., & Bembenek, M. (2025). Whey: Composition, Processing, Application, and Prospects in Functional and Nutritional Beverages—A Review. *Foods*, *14*(18), 3245. https://doi.org/10.3390/FOODS14183245

Moczkowska, M., Karp, S., Horbanczuk, O. K., Hanula, M., Wyrwisz, J., & Kurek, M. A. (2020). Effect of Rosemary Extract Addition on Oxidative Stability and Quality of Hemp Seed Oil. *Food and Bioproducts Processing*, *124*, 33–47. https://doi.org/10.1016/J.FBP.2020.08.002

Moult, J. A., Allan, S. R., Hewitt, C. N., & Berners-Lee, M. (2018). Greenhouse gas emissions of food waste disposal options for UK retailers. *Food Policy*, *77*, 50–58. https://doi.org/10.1016/J.FOODPOL.2018.04.003

Moure, A., Cruz, J. M., Franco, D., Manuel Domínguez, J., Sineiro, J., Domínguez, H., Núñez, M. J., & Carlos Parajó, J. (2001). Natural antioxidants from residual sources. *Food Chemistry*, *72*(2), 145–171. https://doi.org/10.1016/S0308-8146(00)00223-5

Mourtzinos, I., Salta, F., Yannakopoulou, K., Chiou, A., & Karathanos, V. T. (2007). Encapsulation of olive leaf extract in beta-cyclodextrin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *55*(20), 8088–8094. https://doi.org/10.1021/JF0709698

Myers H Raymond, M. C. D. & A.-C. C. C. (2016). Response Surface Methodology: Process and Product Optimization Using ... -. *Wiley Series in Probability And Statistics, 4th Ed., John Wiley & Sons Inc., New Jersey*, 894. https://www.wiley.com/en-hk/Response+Surface+Methodology%3A+Process+and+Product+Optimization+Using+Designed+Experiments%2C+4th+Edition-p-9781118916018

Myers, R. H. ., Montgomery, D. C. ., & Anderson-Cook, C. M. . (2009). *Response surface methodology : process and product optimization using designed experiments*. Wiley.

Mylonaki, S., Kiassos, E., Makris, D. P., & Kefalas, P. (2008). Optimisation of the extraction of olive (Olea europaea) leaf phenolics using water/ethanol-based solvent systems and response surface methodology. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, *392*(5), 977–985. https://doi.org/10.1007/S00216-008-2353-9

Naa, P., Otu, Y., Kwesi Saalia, F., & Amankwah, E. A. (2013). Characterization of Fresh Moringa oleifera Beverage. *Food Science and Quality Management*, *21*(1), 26–33. https://iiste.org/Journals/index.php/FSQM/article/view/8822

NACZK, M., & SHAHIDI, F. (2004). Extraction and analysis of phenolics in food. *Journal of Chromatography A*, *1054*(1–2), 95–111. https://doi.org/10.1016/S0021-9673(04)01409-8

Nagarajaiah, S. B., Ramakrishna, M. G., & Prakash, J. (2018). Nutritional, Antioxidant and Sensory Properties of Value Added Muffins. *Current Nutrition & Food Science*, *15*(5), 454–466. https://doi.org/10.2174/1874609811666180223155034

Nawaz, H., Shi, J., Mittal, G. S., & Kakuda, Y. (2006). Extraction of polyphenols from grape seeds and concentration by ultrafiltration. *Separation and Purification Technology*, *48*(2), 176–181. https://doi.org/10.1016/J.SEPPUR.2005.07.006

Negro, C., Tommasi, L., & Miceli, A. (2003). Phenolic compounds and antioxidant activity from red grape marc extracts. *Bioresource Technology*, *87*(1), 41–44. https://doi.org/10.1016/S0960-8524(02)00202-X

Nindo, C. I., Powers, J. R., & Tang, J. (2007). Glass Transition and Rheological Properties of Aloe Vera (Aloe Barbadensis, L.) Dried by Different Methods. *2007 ASABE Annual International Meeting, Technical Papers*, *12 BOOK*, 1-. https://doi.org/10.13031/2013.23326

Nogueira, G. F., Soares, I. H. B. T., Soares, C. T., Fakhouri, F. M., & de Oliveira, R. A. (2022). Development and Characterization of Arrowroot Starch Films Incorporated with Grape Pomace Extract. *Polysaccharides 2022, Vol. 3, Pages 250-263*, *3*(1), 250–263. https://doi.org/10.3390/POLYSACCHARIDES3010014

Nunes, M. A., Pimentel, F. B., Costa, A. S. G., Alves, R. C., & Oliveira, M. B. P. P. (2016). Olive by-products for functional and food applications: Challenging

opportunities to face environmental constraints. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, *35*, 139–148. https://doi.org/10.1016/J.IFSET.2016.04.016

O'Dowd, Y., Driss, F., Dang, P. M. C., Elbim, C., Gougerot-Pocidalo, M. A., Pasquier, C., & El-Benna, J. (2004). Antioxidant effect of hydroxytyrosol, a polyphenol from olive oil: scavenging of hydrogen peroxide but not superoxide anion produced by human neutrophils. *Biochemical Pharmacology*, *68*(10), 2003–2008. https://doi.org/10.1016/J.BCP.2004.06.023

Oetjen, G. W., & Haseley, P. (2007). Freeze-Drying: Second, Completely Revised and Extended Edition. *Freeze-Drying: Second, Completely Revised and Extended Edition*, 1–395. https://doi.org/10.1002/9783527612482

Ofori, J. A., & Peggy, Y. H. (2013). Novel Technologies for the Production of Functional Foods. *Bio-Nanotechnology: A Revolution in Food, Biomedical and Health Sciences*, 141–162. https://doi.org/10.1002/9781118451915.CH8;PAGEGROUP:STRING:PUBLICATION

O'Leary, F., & Samman, S. (2010). Vitamin B12 in health and disease. *Nutrients*, *2*(3), 299–316. https://doi.org/10.3390/NU2030299

Oliver-Simancas, R., Labrador-Fernández, L., Díaz-Maroto, M. C., Pérez-Coello, M. S., & Alañón, M. E. (2021). Comprehensive research on mango by-products applications in food industry. *Trends in Food Science & Technology*, *118*, 179–188. https://doi.org/10.1016/J.TIFS.2021.09.024

Osorio-Tobón, J. F. (2020). Recent advances and comparisons of conventional and alternative extraction techniques of phenolic compounds. *Journal of Food Science and Technology*, *57*(12), 4299. https://doi.org/10.1007/S13197-020-04433-2

Ozdal, T., Capanoglu, E., & Altay, F. (2013). A review on protein–phenolic interactions and associated changes. *Food Research International*, *51*(2), 954–970. https://doi.org/10.1016/J.FOODRES.2013.02.009

Oziyci, H. R., Karhan, M., Tetik, N., & Turhan, I. (2013). Effects of processing method and storage temperature on clear pomegranate juice turbidity and color. *Journal of Food Processing and Preservation*, *37*(5), 899–906. https://doi.org/10.1111/J.1745-4549.2012.00723.X

Palmeri, R., Monteleone, J. I., Spagna, G., Restuccia, C., Raffaele, M., Vanella, L., Li Volti, G., & Barbagallo, I. (2016). Olive Leaf Extract from Sicilian Cultivar Reduced Lipid Accumulation by Inducing Thermogenic Pathway during Adipogenesis. *Frontiers in Pharmacology*, *7*. https://doi.org/10.3389/FPHAR.2016.00143

Pan, X., Niu, G., & Liu, H. (n.d.). *Microwave-assisted extraction of tea polyphenols and tea caffeine from green tea leaves*. Retrieved May 12, 2026, from www.elsevier.com/locate/cep

Pandey, K. B., & Rizvi, S. I. (2009). Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, *2*(5), 270. https://doi.org/10.4161/OXIM.2.5.9498

Papoti, V. T., & Tsimidou, M. Z. (2009). Impact of sampling parameters on the radical scavenging potential of olive (Olea europaea L.) leaves. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *57*(9), 3470–3477. https://doi.org/10.1021/JF900171D

Paritosh, K., Kushwaha, S. K., Yadav, M., Pareek, N., Chawade, A., & Vivekanand, V. (2017). Food Waste to Energy: An Overview of Sustainable Approaches for Food Waste Management and Nutrient Recycling. *BioMed Research International*, *2017*. https://doi.org/10.1155/2017/2370927

Pasini Deolindo, C. T., Monteiro, P. I., Santos, J. S., Cruz, A. G., Cristina da Silva, M., & Granato, D. (2019). Phenolic-rich Petit Suisse cheese manufactured with organic Bordeaux grape juice, skin, and seed extract: Technological, sensory, and functional properties. *LWT*, *115*, 108493. https://doi.org/10.1016/J.LWT.2019.108493

Patel, S. (2015). Functional food relevance of whey protein: A review of recent findings and scopes ahead. *Journal of Functional Foods*, *19*, 308–319. https://doi.org/10.1016/J.JFF.2015.09.040

Pathare, P. B., Opara, U. L., & Al-Said, F. A.-J. (2013). Colour Measurement and Analysis in Fresh and Processed Foods: A Review. *Food and Bioprocess Technology*, *6*(1), 36–60. https://doi.org/10.1007/s11947-012-0867-9

Patras, A., Brunton, N. P., O'Donnell, C., & Tiwari, B. K. (2010). Effect of thermal processing on anthocyanin stability in foods; mechanisms and kinetics of degradation. *Trends in Food Science & Technology*, *21*(1), 3–11. https://doi.org/10.1016/J.TIFS.2009.07.004

Pazos, M., Gallardo, J. M., Torres, J. L., & Medina, I. (2005). Activity of grape polyphenols as inhibitors of the oxidation of fish lipids and frozen fish muscle. *Food Chemistry*, *92*(3), 547–557. https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2004.07.036

Pereira, A. P., Ferreira, I. C. F. R., Marcelino, F., Valentão, P., Andrade, P. B., Seabra, R., Estevinho, L., Bento, A., & Pereira, J. A. (2007a). Phenolic Compounds and Antimicrobial Activity of Olive (Olea europaea L. Cv. Cobrançosa) Leaves. *Molecules 2007, Vol. 12, Pages 1153-1162*, *12*(5), 1153–1162. https://doi.org/10.3390/12051153

Pereira, A. P., Ferreira, I. C. F. R., Marcelino, F., Valentão, P., Andrade, P. B., Seabra, R., Estevinho, L., Bento, A., & Pereira, J. A. (2007b). Phenolic Compounds and Antimicrobial Activity of Olive (Olea europaea L. Cv. Cobrançosa) Leaves. *Molecules : A Journal of Synthetic Chemistry and Natural Product Chemistry*, *12*(5), 1153. https://doi.org/10.3390/12051153

Pereira, D. M., Valentão, P., Pereira, J. A., & Andrade, P. B. (2009). Phenolics: From Chemistry to Biology. *Molecules*, *14*(6), 2202. https://doi.org/10.3390/MOLECULES14062202

Physical and Chemical Properties of Food Powders. (2005). 51–86. https://doi.org/10.1201/9781420028300-6

Pihlanto, A. (2011). Whey proteins and peptides. *Nutrafoods 2011 10:2*, *10*(2), 29–42. https://doi.org/10.1007/BF03223386

Pinelo, M., Sineiro, J., & Núñez, M. J. (2006). Mass transfer during continuous solid-liquid extraction of antioxidants from grape byproducts. *Journal of Food Engineering*, *77*(1), 57–63. https://doi.org/10.1016/J.JFOODENG.2005.06.021

Pisano, R., Barresi, A. A., & Fissore, D. (2011). Innovation in Monitoring Food Freeze Drying. *Drying Technology*, *29*(16), 1920–1931. https://doi.org/10.1080/07373937.2011.596299

Plazzotta, S., & Manzocco, L. (2019). Food waste valorization. *Saving Food: Production, Supply Chain, Food Waste and Food Consumption*, 279–313. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-815357-4.00010-9

Poojary, M. M., Orlien, V., Passamonti, P., & Olsen, K. (2017). Enzyme-assisted extraction enhancing the umami taste amino acids recovery from several cultivated mushrooms. *Food Chemistry*, *234*, 236–244. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.04.157

Pourcel, L., Routaboul, J. M., Cheynier, V., Lepiniec, L., & Debeaujon, I. (2007). Flavonoid oxidation in plants: from biochemical properties to physiological functions. *Trends in Plant Science*, *12*(1), 29–36. https://doi.org/10.1016/j.tplants.2006.11.006

Rajkumar, R., & Kurinjimalar, C. (2022). Food wastes/residues: Valuable source of energy in circular economy. *Handbook of Biofuels*, 147–163. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-822810-4.00007-5

Ramachandran, P., & Nagarajan, S. (2014). Quality Characteristics, Nutraceutical Profile, and Storage Stability of Aloe Gel-Papaya Functional Beverage Blend. *International Journal of Food Science*, *2014*, 847013. https://doi.org/10.1155/2014/847013

Ranalli, A., Contento, S., Lucera, L., Di Febo, M., Marchegiani, D., & Di Fonzo, V. (2006). Factors affecting the contents of iridoid oleuropein in olive leaves (Olea europaea L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *54*(2), 434–440. https://doi.org/10.1021/JF051647B

Ranalli, A., Lucera, L., & Contento, S. (2003). Antioxidizing potency of phenol compounds in olive oil mill wastewater. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *51*(26), 7636–7641. https://doi.org/10.1021/JF034879O

Raschip, I. E., Fifere, N., Varganici, C. D., & Dinu, M. V. (2020). Development of antioxidant and antimicrobial xanthan-based cryogels with tuned porous morphology and controlled swelling features. *International Journal of Biological Macromolecules*, *156*, 608–620. https://doi.org/10.1016/J.IJBIOMAC.2020.04.086

Ratti, C. (2013). Freeze drying for food powder production. *Handbook of Food Powders: Processes and Properties*, 57–84. https://doi.org/10.1533/9780857098672.1.57

Rațu, R.-N., Usturoi, M.-G., Radu Rusu, R.-M., Veleșcu, I.-D., Lipșa, F.-D., Arsenoaia, V.-N., Postolache, A.-N., Crivei, I.-C., & Cârlescu, P.-M. (2023). Effect of grape skin powder addition on chemical, nutritional and technological properties of cheese. *Journal of Applied Life Sciences and Environment*, *56*(1(193)), 41–58. https://doi.org/10.46909/ALSE-561084

Ribéreau-Gayon, Pascal. (2006). *Handbook of enology*. John Wiley.

Rizzolo, A., & Cortellino, G. (2017). Ricotta Cheese Whey-Fruit-Based Beverages: Pasteurization Effects on Antioxidant Composition and Color. *Beverages 2017, Vol. 3, Page 15*, *3*(1), 15. https://doi.org/10.3390/BEVERAGES3010015

Rockenbach, I. I., Rodrigues, E., Gonzaga, L. V., Caliari, V., Genovese, M. I., Gonalves, A. E. D. S. S., & Fett, R. (2011). Phenolic compounds content and antioxidant activity in pomace from selected red grapes (Vitis vinifera L. and Vitis labrusca L.) widely produced in Brazil. *Food Chemistry*, *127*(1), 174–179. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.12.137

Rondeau, P., Gambier, F., Jolibert, F., & Brosse, N. (2013). Compositions and chemical variability of grape pomaces from French vineyard. *Industrial Crops and Products*, *43*(1), 251–254. https://doi.org/10.1016/J.INDCROP.2012.06.053

Roselló-Soto, E., Galanakis, C. M., Brnčić, M., Orlien, V., Trujillo, F. J., Mawson, R., Knoerzer, K., Tiwari, B. K., & Barba, F. J. (2015). Clean recovery of antioxidant compounds from plant foods, by-products and algae assisted by ultrasounds processing. Modeling approaches to optimize processing conditions. *Trends in Food Science and Technology*, *42*(2), 134–149. https://doi.org/10.1016/J.TIFS.2015.01.002

Rousseaux, C. G., & Schachter, H. (2003). Regulatory Issues Concerning the Safety, Efficacy and Quality of Herbal Remedies. *Birth Defects Research Part B - Developmental and Reproductive Toxicology*, *68*(6), 505–510. https://doi.org/10.1002/BDRB.10053

Rs, C., Rc, S., Kumar A, & Nalawade T. (2015a). Whey Based Beverage: Its Functionality, Formulations, Health Benefits and Applications. *J Food Process Technol*, *6*(10), 495. https://doi.org/10.4172/2157-7110.1000495

Rs, C., Rc, S., Kumar A, & Nalawade T. (2015b). Whey Based Beverage: Its Functionality, Formulations, Health Benefits and Applications. *J Food Process Technol*, *6*(10), 495. https://doi.org/10.4172/2157-7110.1000495

Rudra, S. G., Nishad, J., Jakhar, N., & Kaur, C. (2015). *FOOD INDUSTRY WASTE: MINE OF NUTRACEUTICALS*. www.ijset.net

Sagar, N. A., Pareek, S., Sharma, S., Yahia, E. M., & Lobo, M. G. (2018). Fruit and Vegetable Waste: Bioactive Compounds, Their Extraction, and Possible Utilization. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, *17*(3), 512–531. https://doi.org/10.1111/1541-4337.12330

Şahin, S., & Bilgin, M. (2018). Olive tree (Olea europaea L.) leaf as a waste by-product of table olive and olive oil industry: a review. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *98*(4), 1271–1279. https://doi.org/10.1002/JSFA.8619

Saikia, S., Mahnot, N. K., & Mahanta, C. L. (2015). Optimisation of phenolic extraction from Averrhoa carambola pomace by response surface methodology and its microencapsulation by spray and freeze drying. *Food Chemistry*, *171*, 144–152. https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2014.08.064

Sánchez-Rangel, J. C., Benavides, J., Heredia, J. B., Cisneros-Zevallos, L., & Jacobo-Velázquez, D. A. (2013). The Folin–Ciocalteu assay revisited: improvement of its

specificity for total phenolic content determination. *Analytical Methods*, *5*(21), 5990–5999. https://doi.org/10.1039/C3AY41125G

Santhirasegaram, V., Razali, Z., George, D. S., & Somasundram, C. (2015). Comparison of UV-C treatment and thermal pasteurization on quality of Chokanan mango (Mangifera indica L.) juice. *Food and Bioproducts Processing*, *94*, 313–321. https://doi.org/10.1016/J.FBP.2014.03.011

Savarolyia, M., Amiri Samani, S., Ghorbani, M., Khezri, M., Kazemi, M., Momeni Shahraki, M., Khodaiyan, F., & Hosseini, S. S. (2026). Combined fortification of yogurt with grape pomace pectic oligosaccharides and encapsulated probiotics. *Scientific Reports*, *16*(1). https://doi.org/10.1038/S41598-026-35862-2

Schieber, A., Stintzing, F. C., & Carle, R. (2001). By-products of plant food processing as a source of functional compounds - Recent developments. *Trends in Food Science and Technology*, *12*(11), 401–413. https://doi.org/10.1016/S0924-2244(02)00012-2

Schösler, H., Boer, J. d., & Boersema, J. J. (2012). Can we cut out the meat of the dish? Constructing consumer-oriented pathways towards meat substitution. *Appetite*, *58*, 39–47.

Schössler, K., Jäger, H., & Knorr, D. (2012). Novel contact ultrasound system for the accelerated freeze-drying of vegetables. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, *16*, 113–120. https://doi.org/10.1016/J.IFSET.2012.05.010

Servili, M., Esposto, S., Fabiani, R., Urbani, S., Taticchi, A., Mariucci, F., Selvaggini, R., & Montedoro, G. F. (2009). Phenolic compounds in olive oil: antioxidant, health and organoleptic activities according to their chemical structure. *Inflammopharmacology*, *17*(2), 76–84. https://doi.org/10.1007/S10787-008-8014-Y

Seth, D., Mishra, H. N., & Deka, S. C. (2017). Functional and reconstitution properties of spray-dried sweetened yogurt powder as influenced by processing conditions. *International Journal of Food Properties*, *20*(7), 1603–1611. https://doi.org/10.1080/10942912.2016.1214965

Shahidi, F., & Zhong, Y. (2015). Measurement of antioxidant activity. *Journal of Functional Foods*, *18*, 757–781. https://doi.org/10.1016/J.JFF.2015.01.047

Shaker, E. S. (2006). Antioxidative effect of extracts from red grape seed and peel on lipid oxidation in oils of sunflower. *LWT - Food Science and Technology*, *39*(8), 883–892. https://doi.org/10.1016/J.LWT.2005.06.004

Sharma, V., Singh, A., & Thakur, M. (2023). Valorization of Whey in Manufacturing of Functional Beverages: A Dairy Industry Perspective. *Whey Valorization Innovations, Technological Advancements and Sustainable Exploitation*, 355–369. https://doi.org/10.1007/978-981-99-5459-9_17/SAVE-RESEARCH

Shi, J., Nawaz, H., Pohorly, J., Mittal, G., Kakuda, Y., & Jiang, Y. (2005). Extraction of polyphenolics from plant material for functional foods - Engineering and technology. *Food Reviews International*, *21*(1), 139–166. https://doi.org/10.1081/FRI-200040606

Shraddha RC, C. R., & Nalawade T, K. A. (2015). Whey Based Beverage: Its Functionality, Formulations, Health Benefits and Applications. *Journal of Food Processing & Technology*, *6*(10). https://doi.org/10.4172/2157-7110.1000495

Siebert, K. J., Carrasco, A., & Lynn, P. Y. (1996). Formation of Protein−Polyphenol Haze in Beverages. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *44*(8), 1997–2005. https://doi.org/10.1021/JF950716R

Singleton, V. L. (1987). Oxygen with Phenols and Related Reactions in Musts, Wines, and Model Systems: Observations and Practical Implications. *American Journal of Enology and Viticulture*, *38*(1), 69–77. https://doi.org/10.5344/AJEV.1987.38.1.69

Singleton, V. L., Orthofer, R., & Lamuela-Raventós, R. M. (1999). [14] Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*, *299*, 152–178. https://doi.org/10.1016/S0076-6879(99)99017-1

Singleton, V. L., & Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, *16*(3), 144–158. https://doi.org/10.5344/AJEV.1965.16.3.144

Smithers, G. W. (2008). Whey and whey proteins-From "gutter-to-gold." *International Dairy Journal*, *18*(7), 695–704. https://doi.org/10.1016/J.IDAIRYJ.2008.03.008

Solak, B. B., & Akin, N. (2012). Health Benefits of Whey Protein: A Review. *Journal of Food Science and Engineering*, *2*, 129–137.

Souilem, S., El-Abbassi, A., Kiai, H., Hafidi, A., Sayadi, S., & Galanakis, C. M. (2017). Olive oil production sector: Environmental effects and sustainability challenges. *Olive Mill Waste: Recent Advances for Sustainable Management*, 1–28. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-805314-0.00001-7

Stratford, M., Steels, H., Nebe-von-Caron, G., Novodvorska, M., Hayer, K., & Archer, D. B. (2013). Extreme resistance to weak-acid preservatives in the spoilage yeast Zygosaccharomyces bailii. *International Journal of Food Microbiology*, *166*(1), 126. https://doi.org/10.1016/J.IJFOODMICRO.2013.06.025

Sudjana, A. N., D'Orazio, C., Ryan, V., Rasool, N., Ng, J., Islam, N., Riley, T. V., & Hammer, K. A. (2009). Antimicrobial activity of commercial Olea europaea (olive) leaf extract. *International Journal of Antimicrobial Agents*, *33*(5), 461–463. https://doi.org/10.1016/J.IJANTIMICAG.2008.10.026

Talhaoui, N., Taamalli, A., Gómez-Caravaca, A. M., Fernández-Gutiérrez, A., & Segura-Carretero, A. (2015). Phenolic compounds in olive leaves: Analytical determination, biotic and abiotic influence, and health benefits. *Food Research International*, *77*, 92–108. https://doi.org/10.1016/J.FOODRES.2015.09.011

Tarchi, I., Koubaa, M., Ozogul, F., Bouaziz, M., & Aït-Kaddour, A. (2025). Influence of olive leaf extract on the physicochemical properties of yogurts made from cow, sheep, and goat milk. *Food Bioscience*, *63*, 105728. https://doi.org/10.1016/J.FBIO.2024.105728

Teboukeu, G. B., Djikeng, F. T., Klang, M. J., Karuna, M. S. L., & Womeni, H. M. (2018). Optimization of the extraction of natural antioxidants from Coffea robusta leaves and evaluation of their ability to preserve palm olein from oxidation during accelerated storage. *Food Science and Nutrition*, *6*(6), 1751–1761. https://doi.org/10.1002/FSN3.702;WEBSITE:WEBSITE:PERICLES;ISSUE:ISSUE:DOI

Thaipong, K., Boonprakob, U., Crosby, K., Cisneros-Zevallos, L., & Hawkins Byrne, D. (2006). Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. *Journal of Food Composition and Analysis*, *19*(6–7), 669–675. https://doi.org/10.1016/J.JFCA.2006.01.003

Tirado-Kulieva, V. A., Sánchez-Chero, M., Villegasyarlequé, M., Aguilar, G. F. V., Carrión-Barco, G., Santa Cruz, A. G. Y., & Sánchez-Chero, J. (2021). An Overview on the Use of Response Surface Methodology to Model and Optimize Extraction Processes in the Food Industry. *Current Research in Nutrition and Food Science*, *9*(3), 745–754. https://doi.org/10.12944/CRNFSJ.9.3.03

Tokuşoğlu, Ö. (2016). Effect of high hydrostatic pressure processing strategies on retention of antioxidant phenolic bioactives in foods and beverages - A review. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, *66*(4), 243–251. https://doi.org/10.1515/PJFNS-2015-0011

Torskangerpoll, K., & Andersen, Ø. M. (2005). Colour stability of anthocyanins in aqueous solutions at various pH values. *Food Chemistry*, *89*(3), 427–440. https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2004.03.002

Touati, N., Barba, F. J., Louaileche, H., Frigola, A., & Jose Esteve, M. (2016). Effect of storage time and temperature on the quality of fruit nectars: Determination of nutritional loss indicators. *Journal of Food Quality*, *39*(3), 209–217. https://doi.org/10.1111/JFQ.12189

Trentin, J., Mussagy, C. U., Arantes, M. S. T., Pedro, A. C., Mafra, M. R., & Farias, F. O. (2024). Antioxidant Ready-to-Use Grape Pomace Extracts Recovered with Natural Eutectic Mixtures for Formulation of Color-Rich Gummies. *Foods (Basel, Switzerland)*, *13*(17). https://doi.org/10.3390/FOODS13172840

Trigo, J. P., Alexandre, E. M. C., Saraiva, J. A., & Pintado, M. E. (2020). High value-added compounds from fruit and vegetable by-products - Characterization, bioactivities, and application in the development of novel food products. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, *60*(8), 1388–1416. https://doi.org/10.1080/10408398.2019.1572588

Trouillas, P., Sancho-García, J. C., De Freitas, V., Gierschner, J., Otyepka, M., & Dangles, O. (2016). Stabilizing and Modulating Color by Copigmentation: Insights from Theory and Experiment. *Chemical Reviews*, *116*(9), 4937–4982. https://doi.org/10.1021/ACS.CHEMREV.5B00507

Tsai, W. Y., Chang, W. H., Chen, C. H., & Lu, F. J. (2000). Enchancing effect of patented whey protein isolate (Immunocal) on cytotoxicity of an anticancer drug. *Nutrition and Cancer*, *38*(2), 200–208. https://doi.org/10.1207/S15327914NC382_9

Tseng, A., & Zhao, Y. (2012). Effect of Different Drying Methods and Storage Time on the Retention of Bioactive Compounds and Antibacterial Activity of Wine Grape Pomace (Pinot Noir and Merlot). *Journal of Food Science*, *77*(9), H192–H201. https://doi.org/10.1111/J.1750-3841.2012.02840.X

Tseng, A., & Zhao, Y. (2013). Wine grape pomace as antioxidant dietary fibre for enhancing nutritional value and improving storability of yogurt and salad dressing. *Food Chemistry*, *138*(1), 356–365. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.09.148

UNEP Food Waste Index Report 2021 | UNEP - UN Environment Programme. (n.d.). Retrieved May 4, 2026, from https://www.unep.org/resources/report/unep-food-waste-index-report-2021

Vaithiyanathan, S., Naveena, B. M., Muthukumar, M., Girish, P. S., & Kondaiah, N. (2011). Effect of dipping in pomegranate (Punica granatum) fruit juice phenolic solution on the shelf life of chicken meat under refrigerated storage (4 °C). *Meat Science*, *88*(3), 409–414. https://doi.org/10.1016/J.MEATSCI.2011.01.019

Valková, V., Ďúranová, H., Falcimaigne-Cordin, A., Rossi, C., Nadaud, F., Nesterenko, A., Moncada, M., Orel, M., Ivanišová, E., Chlebová, Z., Gabríny, L., & Kačániová, M. (2022). Impact of Freeze- and Spray-Drying Microencapsulation Techniques on β-Glucan Powder Biological Activity: A Comparative Study. *Foods*, *11*(15), 2267. https://doi.org/10.3390/FOODS11152267

Vanajakshi, V., Vijayendra, S. V. N., Varadaraj, M. C., Venkateswaran, G., & Agrawal, R. (2015). Optimization of a probiotic beverage based on Moringa leaves and beetroot. *LWT - Food Science and Technology*, *63*(2), 1268–1273. https://doi.org/10.1016/J.LWT.2015.04.023

Vasantha Rupasinghe, H. P., & Juan, L. (2012). Emerging Preservation Methods for Fruit Juices and Beverages. *Food Additive*. https://doi.org/10.5772/32148

Vegara, S., Martí, N., Mena, P., Saura, D., & Valero, M. (2013). Effect of pasteurization process and storage on color and shelf-life of pomegranate juices. *LWT - Food Science and Technology*, *54*(2), 592–596. https://doi.org/10.1016/J.LWT.2013.06.022

Venkat, K. (2011). The Climate Change and Economic Impacts of Food Waste in the United States. *International Journal on Food System Dynamics*, *2*(4), 431–446. https://doi.org/10.18461/IJFSD.V2I4.247

Vergara-Barberán, M., Lerma-García, M. J., Herrero-Martínez, J. M., & Simó-Alfonso, E. F. (2015). Use of an enzyme-assisted method to improve protein extraction from olive leaves. *Food Chem*, *169*, 28–33. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.07.116

Vilariño, M. V., Franco, C., & Quarrington, C. (2017). Food loss and waste reduction as an integral part of a circular economy. *Frontiers in Environmental Science*, *5*(MAY), 257971. https://doi.org/10.3389/FENVS.2017.00021/TEXT

Visioli, F., & Galli, C. (1998). The effect of minor constituents of olive oil on cardiovascular disease: new findings. *Nutrition Reviews*, *56*(5 Pt 1), 142–147. https://doi.org/10.1111/J.1753-4887.1998.TB01739.X

Visioli, F., Poli, A., & Galli, C. (2002). Antioxidant and other biological activities of phenols from olives and olive oil. *Medicinal Research Reviews*, *22*(1), 65–75. https://doi.org/10.1002/MED.1028

Voda, A., Homan, N., Witek, M., Duijster, A., van Dalen, G., van der Sman, R., Nijsse, J., van Vliet, L., Van As, H., & van Duynhoven, J. (2012). The impact of freeze-drying on microstructure and rehydration properties of carrot. *Food Research International*, *49*(2), 687–693. https://doi.org/10.1016/J.FOODRES.2012.08.019

Vuolo, M. M., Lima, V. S., & Maróstica Junior, M. R. (2019). Phenolic Compounds. *Bioactive Compounds: Health Benefits and Potential Applications*, 33–50. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814774-0.00002-5

Walsh, S. J., Lu, L., & Anderson-Cook, C. M. (2024). I-optimal or G-optimal: Do we have to choose? *Quality Engineering*, *36*(2), 227–248. https://doi.org/10.1080/08982112.2023.2194963

Weimar, T., Lee, A. M., Ray, S., Schuessler, R. B., & Ralph J. Damiano, J. (2012). Evaluation of a Novel Cryoablation System: In vitro Testing of Heat Capacity and Freezing Temperatures. *Innovations*, *7*(6), 403–409. https://doi.org/10.1177/155698451200700606

Wilson, D. W., Nash, P., Singh, H., Griffiths, K., Singh, R., De Meester, F., Horiuchi, R., & Takahashi, T. (2017). The Role of Food Antioxidants, Benefits of Functional Foods, and Influence of Feeding Habits on the Health of the Older Person: An Overview. *Antioxidants (Basel, Switzerland)*, *6*(4). https://doi.org/10.3390/ANTIOX6040081

Wootton-Beard, P. C., & Ryan, L. (2011). Improving public health?: The role of antioxidant-rich fruit and vegetable beverages. *Food Research International*, *44*(10), 3135–3148. https://doi.org/10.1016/J.FOODRES.2011.09.015

Xu, W., Peng, H., Yang, T., Whitaker, B., Huang, L., Sun, J., & Chen, P. (2014). Effect of calcium on strawberry fruit flavonoid pathway gene expression and anthocyanin accumulation. *Plant Physiology and Biochemistry*, *82*, 289–298. https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2014.06.015

Yiğit, A., Bielska, P., Cais-Sokolińska, D., & Samur, G. (2023). Whey proteins as a functional food: Health effects, functional properties, and applications in food. *Journal of the American Nutrition Association*, *42*(8), 758–768. https://doi.org/10.1080/27697061.2023.2169208

Yu, J., & Ahmedna, M. (2013). Functional components of grape pomace: their composition, biological properties and potential applications. *International Journal of Food Science and Technology*, *48*(2), 221–237. https://doi.org/10.1111/J.1365-2621.2012.03197.X

YÜKSEL, M., KAVAZ YÜKSEL, A., & ÜRÜŞAN, H. (2019). Peynir Altı Suyunun Çeşitli Özellikleri Ve Kullanım Olanakları. *Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Mühendislik Bilimleri Dergisi*, *22*(3), 114–125. https://doi.org/10.17780/KSUJES.565372

Zandona, E., Blažić, M., & Režek Jambrak, A. (2021). Whey Utilization: Sustainable Uses and Environmental Approach. *Food Technology and Biotechnology*, *59*(2), 147–161. https://doi.org/10.17113/FTB.59.02.21.6968

Zhang, W., Xu, M., Feng, Y., Mao, Z., & Yan, Z. (2024). The Effect of Procrastination on Physical Exercise among College Students—The Chain Effect of Exercise Commitment and Action Control. *International Journal of Mental Health Promotion*, *26*(8), 611–622. https://doi.org/10.32604/ijmhp.2024.052730

Zhang, Y., Cai, P., Cheng, G., & Zhang, Y. (2022). A Brief Review of Phenolic Compounds Identified from Plants: Their Extraction, Analysis, and Biological

Activity. *Natural Product Communications*, *17*(1). https://doi.org/10.1177/1934578X211069721

Zheng, Y., Lee, C., Yu, C., Cheng, Y.-S., Simmons, C. W., Zhang, R., Jenkins, B. M., & Vandergheynst, J. S. (2012). *Ensilage and Bioconversion of Grape Pomace into Fuel Ethanol*. https://doi.org/10.1021/jf303509v

Zhu, L., Li, X., Hu, X., Wu, X., Liu, Y., Yang, Y., Zang, Y., Tang, H., Wang, C., & Xu, J. (2021). Quality Characteristics and Anthocyanin Profiles of Different Vitis amurensis Grape Cultivars and Hybrids from Chinese Germplasm. *Molecules 2021, Vol. 26, Page 6696*, *26*(21), 6696. https://doi.org/10.3390/MOLECULES26216696

Zoidou, E., Melliou, E., Moatsou, G., & Magiatis, P. (2017). Preparation of Functional Yogurt Enriched With Olive-Derived Products. *Yogurt in Health and Disease Prevention*, 203–220. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-805134-4.00011-0

ÖZGEÇMİŞ

Eda FURTANA

ÖĞRENİM BİLGİLERİ

Yüksek Lisans 2024-2026	Akdeniz Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Antalya
Lisans 2019-2023	Akdeniz Üniversitesi Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Antalya

MESLEKİ VE İDARİ GÖREVLER

Herhangi bir mesleki ve idari görevi bulunmamaktadır.

ESERLER

Ulusal bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitaplarında basılan bildiriler

1- Furtana, E., Özdemir, K. S., & Topuz, A.,. (2025). Zeytin Yaprağından Fonksiyonel Bileşiklerin Elde Edilmesi: Çözücü Oranı, Sıcaklık ve Süre Optimizasyonu. 15. Gıda Kongresi (Özet Bildiri / Sözlü Sunum)

2- Furtana, E., Özdemir, K. S., & Topuz, A., (2025). Kızılötesi Destekli Kırınım Pencereli Kurutmanın Pamuk Tohumu Küspesinden Elde Edilen Protein Tozunun Fonksiyonel Özellikleri Üzerine Etkisi. 15. Gıda Kongresi (Özet Bildiri / Poster Sunum)

3- Furtana, E.,vd., (2026). Effects of Oil Type, Stabilizer, and Storage Temperature on Lycopene Stability and Physicochemical Properties of Tomato Pomace Powder-Based Emulsions IFIS 2026 (Özet Bildiri / Poster Sunum)

Ödüller ve Burslar

Effects of Oil Type, Stabilizer, and Storage Temperature on Lycopene Stability and Physicochemical Properties of Tomato Pomace Powder-Based Emulsions (Özet bildiri / Poster Sunum) En iyi poster kategorisi 3.lüğü